EDITORA PASTEUR

DESTAQUE 2020

Editor: Dr. Guilherme Barroso L. De Freitas

# PESQUISA E INOVAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

## A ARTE DE ESTUDAR, COMPREENDER, DESENVOLVER E AVALIAR MEDICAMENTOS E PATOLOGIAS

EDITORA PASTEUR

DESTAQUE 2020

Editor: Dr. Guilherme Barroso L. De Freitas

# PESQUISA E INOVAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

## A ARTE DE ESTUDAR, COMPREENDER, DESENVOLVER E AVALIAR MEDICAMENTOS E PATOLOGIAS

2021 by Editora Pasteur
Copyright © Editora Pasteur

**Editor Chefe:**
Dr Guilherme Barroso Langoni de Freitas

**Corpo Editorial e Organizadores:**
Dra. Aldenora Maria Ximenes Rodrigues
Dr. Daniel Brustolin Ludwig
Dr. Durinézio José de Almeida
Dr. Everton Dias D'Andréa
Dr. Fábio Solon Tajra
Francisco Tiago dos Santos Silva Júnior
Dra. Gabriela Dantas Carvalho
MSc. Guilherme Augusto G. Martins
Dr. Lucas Villas Boas Hoelz
MSc. Lyslian Joelma Alves Moreira
Dra. Márcia Astrês Fernandes
Dr. Otávio Luiz Gusso Maioli
Dr. Paulo Alex Bezerra Sales
MSc. Raul Sousa Andreza
Dra. Teresa Leal
Dr. Alaércio Aparecido de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Editora Pasteur, PR, Brasil)

FR862c FREITAS, Guilherme Barroso Langoni de.
Presquisa e Inovação em Ciências Farmacêuticas / Guilherme Barroso Langoni de Freitas. 1. ed. 1. Vol. - Irati: Pasteur, 2021.
1 livro digital; 208 p.; il.

Modo de acesso: Internet
https://doi.org/10.29327/531006
ISBN: 978-65-86700-20-6

1. Farmácia 2. Ciências Farmacêuticas 3. Inovação
I. Título.

CDD 610
CDU 601/618

# PREFÁCIO

O processo de descoberta de drogas não termina quando os cientistas criam uma nova substância química com efeitos biológicos. Esse produto químico deve então ser refinado e testado para determinar se é seguro, eficaz e vale a pena estudar em ensaios clínicos. Essas tarefas se enquadram no escopo da Ciência Farmacêutica, uma disciplina que usa a química e a biologia para entender como funcionam os medicamentos e para inventar novos.

As ciências farmacêuticas combinam uma ampla gama de disciplinas científicas que são críticas para a descoberta e o desenvolvimento de novos medicamentos, terapias, diagnósticos e prevenção de doenças.

O campo depende de conhecimentos multidisciplinares, no entanto, os atores principais são farmacêuticos e suas habilidades em ciências biológicas e exatas. Portanto, este livro traz um conjunto de estudos selecionados para o amante da área.

Desejamos uma leitura agradável e que a mesma possa somar ainda mais nos seus conhecimentos.

Guilherme Barroso L. De Freitas
Farmacêutico
Mestre em Química Orgância pela UFRJ
Doutor em Medicina pela UFPR
Editor Chefe da Editora Pasteur

# SUMÁRIO


Capítulo 1

ESTUDO FITOQUÍMICO E CITOTÓXICO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Nectandra psammophila* NEES & C. MART NO TRATAMENTO DE CÉLULAS HepG2 ..... 01

Capítulo 2

MEDIDAS FARMACOLÓGICAS UTILIZADAS PARA O ALÍVIO DA DOR EM RECÉM-NASCIDOS..... ..... 1

Capítulo 3

RESVERATROL E SUA ATIVIDADE NEUROPROTETORA EM MODELOS ANIMAIS DE NEURODEGENERAÇÃO ..... 1

Capítulo 4

TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA EM PACIENTES COM DOENÇAS DE DEPÓSITO LISOSSÔMICO..... 1

Capítulo 5

ESTUDO DE NOVOS FÁRMACOS TRIAZÓLICOS PARA TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE: BREVE REVISÃO ..... 1

Capítulo 6

INTRODUÇÃO A TÉCNICAS SINTÉTICAS EM QUÍMICA MEDICINAL ..... 1

Capítulo 7

ISOTRETINOÍNA: REGULAMENTAÇÃO E CARACTERÍSTICAS ..... 1

Capítulo 8

DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS NA REGIÃO DE TOLEDO – PR ..... 1

Capítulo 9

TERAPÊUTICA DA DOENÇA DE FABRY: TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA, CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS E A PROMISSORA TERAPIA GÊNICA . 1

Capítulo 10

NANOTECNOLOGIA APLICADA À TERAPÊUTICA DO CANCRO DE MAMA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 1

# SUMÁRIO

Capítulo 11

PLANTAS MEDICINAIS POTENCIALMENTE UTILIZADAS NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS GÁSTRICAS ..... 1

Capítulo 12

BIOATIVIDADES ATRIBUÍDAS AO LÁTEX EXTRAÍDO DA PLANTA EUPHORBIA TIRUCALLI L. ..... 1

Capítulo 13

ASPECTOS FITOTERÁPICOS DA *ECHINACEA PURPUREA (L) MOENCH* NO SISTEMA IMUNOLÓGICO CORRELACIONADOS À INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR..... 1

Capítulo 14

AVALIAÇÃO DO EFEITO POTENCIALIZADOR DO EXTRATO DA SEMENTE PERSEA AMERICANA MILL QUANDO ASSOCIADO A UMA INTERVENÇÃO NÃO MEDICAMENTOSA ..... 1

Capítulo 15

RELAÇÕES DE ESTRUTURA E ATIVIDADE ANTI-*Trypanosoma cruzi* PARA DERIVADOS DE *B*-LAPACHONA E NOR-*B*-LAPACHONA: UMA REVISÃO..... 1

Capítulo 16

AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE UMA ESSÊNCIA VIBRACIONAL (Oxyflower®) ..... 1

Capítulo 17

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CASOS DE INTOXICAÇÃO EXÓGENA EM TENTATIVAS DE ABORTO NO BRASIL..... 1

Capítulo 18

ANÁLISE DA EFICÁCIA DO USO DE ISAVUCONAZOL COMO AVANÇO NO TRATAMENTO ALTERNATIVO DE DOENÇAS FÚNGICAS INVASIVAS ..... 1

Capítulo 19

ANÁLISE FUNCIONAL E ESTRUTURAL DO FLAGELO DE LEISHMANIA SPP.: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 1

# SUMÁRIO

Capítulo 20

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *EPLINGIELLA FRUTICOSA* HARLEY & PASTORE (LAMIACEAE) PERTENCENTE À FLORA SERGIPANA ..... 1

Capítulo 21

*β*-CICLODEXTRINA COMO AGENTE BIOTECNOLÓGICO FARMACÊUTICO ..... 1

Capítulo 22

ATIVIDADE LEISHMANICIDA DAS CASCAS DE ROMÃNZEIRA (PUNICA GRANATUM L.) SOBRE ÀS FORMAS PROMASTIGOTAS DE LEISHMANIA INFANTUM ..... 1

# CAPÍTULO 1

## ESTUDO FITOQUÍMICO E CITOTÓXICO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Nectandra psammophila* NEES & C. MART NO TRATAMENTO DE CÉLULAS HepG2

*Palavras-chave: Ensaio de MTT; Metabólitos Secundários; Plantas Medicinais; Câncer de Fígado*

VÍVIAN CAIAFA FERREIRA PAIVA[1]
KÁSSIA VIDAL MENEZES[2]
WINNER DUQUE RODRIGUES[2]
NORTON RUBENS DIUNIOR LUCAS PEJARA ROSSI[3,4]
JULIANA APARECIDA SEVERI[5]
FRANCISCO DE PAULA CARETA[5]

1. Discente em Ciências Biológicas - Bacharelado pela Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES.
2. Discente em Farmácia pela Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES.
3. Plataforma de Bioensaios de Malária e Leishmaniose (PBML), FIOCRUZ / RO, Porto Velho - RO.
4. Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho - RO.
5. Docente do curso de Farmácia em Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES.

## INTRODUÇÃO

O câncer de fígado primário teve em 2018 a sétima maior ocorrência e é considerado o de segunda maior mortalidade quando comparado a outros 36 tipos cânceres, sendo que a Ásia abriga a maior parte das ocorrências deste tipo (cerca de 72%), seguia pela China que é responsável por 47% desses cânceres no mundo (BRAY *et al*., 2018). Entre os anos de 2005 e 2015, a neoplasia hepática representou a segunda causa principal de anos de vida perdidos por câncer em todo o mundo, com um aumento de 4,6% nos anos absolutos de vida perdidos (IC 95% -1,6% a 15,4%) (YANG *et al.*, 2019).

Dentre os vários tipos de neoplasias hepáticas primárias, como colangiocarcinoma (câncer do ducto biliar de células epiteliais biliares), o hepatoblastoma (tumor hepático maligno da infância raro), o cistadenocarcinoma do ducto biliar e o hemangioendotelioma epitelial, o carcinoma hepatocelular (CHC) tem destaque por ser o tipo histológico mais dominante de câncer de fígado na maioria dos países, sendo responsável por aproximadamente 75% do total de casos (DUTTA & MAHATO, 2017; PETRICK. *et al.*, 2020).

O CHC pode desenvolver por meio de algum estresse oxidativo e inflamação, sendo esse desenvolvimento, por exemplo, devido à exposição à aflatoxina, ao consumo excessivo de álcool, obesidade, diabetes, ao tabagismo e à infecção crônica pelo vírus da hepatite B ou C, em que (i) as populações do Leste Asiático e da África Subsaariana estão mais sujeitas ao vírus HBV e (ii) as populações da América do Norte, Europa e Japão estão mais sujeitas ao vírus HCV (CHACKO & SAMANTA, 2016; PETRICK *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2019; FITZMORRIS *et al.*, 2015).

Os demais fatores de riscos, como o consumo crônico de álcool, a ingestão de alimentos contaminados por aflatoxina e doenças hereditárias – como hemocromatose por sobrecarga de ferro no corpo – também são encontrados nos países asiáticos, enquanto que nos países desenvolvidos os fatores de risco conectados a CHC envolvem mais a diabetes tipo 2, a obesidade, aos distúrbios metabólicos e esteatohepatite não alcoólica (NASH), como parte de doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas (NAFLD), sendo válido ressaltar que casos de CHC são mais comuns na população masculina em comparação com a feminina (4:1) (YANG *et al.*, 2015; DUTTA & MAHATO 2017).

Alguns métodos de prevenção como não ingerir álcool, a vacinação contra a infecção pelo HBV, a ingestão de vitamina D e cálcio podem evitar o surgimento do CHC em muitos casos (CHACKO & SAMANTA, 2016; DUTTA & MAHATO, 2017). No que diz respeito ao tratamento desta doença, atualmente, a ressecção cirúrgica é uma terapia curativa com baixa taxa de sobrevivência em pacientes na fase tardia; outras formas de tratamento envolvem o transplante de fígado, a embolização e a quimioterapia, que são frequentemente recomendadas para pacientes em estágio inicial (CHACKO & SAMANTA, 2016; TROJAN *et al*., 2016; DUTTA & MAHATO, 2017).

A eficácia das drogas quimioterápicas utilizadas hodiernamente está em uma realidade longínqua, posto que existem desvantagens como náuseas, vômitos, toxicidade para células não-tumorais, hiperbilirrubinemia e fadiga, carecendo, assim, de estudos sobre possíveis medicamentos, sejam eles de origem sintética ou natural, com acessibilidade, viabilidade econômica – destacando o alto custo do tratamento quimioterápico – e de pouco ou nenhum efeito colateral (PRAKASH & DEVARAJ, 2019; GHEENA & EZHILARASAN, 2019).

Plantas medicinais são utilizadas por milhares de anos na medicina popular e, mediante ao exposto, nos últimos anos, algumas preparações e produtos naturais estão sendo examinados no que tange às atividades biológicas, dentre elas, anticancerígena, passíveis ou não de modificações moleculares que intensifiquem a quimioterapia oncológica (GREENWELL & RAHMAN, 2015; WANG *et al.*, 2019; REN *et al.*, 2019). A família botânica Lauraceae apresenta alguns compostos bioativos predominantes, sendo bastante utilizada para o tratamento de distintas patologias, com algumas espécies detentoras de propriedades citotóxicas e anticâncer (DAMASCENO *et al.*, 2019).

*Nectandra* compreende um dos maiores gêneros dessa família botânica, com cerca de 120 espécies que são distribuídas em regiões tropicais e subtropicais e utilizadas para o tratamento de diversas patologias, como dor, inflamação, febre, infecções parasitárias e existe a possibilidade de ser um agente antitumoral devido à presença de metabólitos secundários bioativos (GRECCO *et al.*, 2016).

Alguns estudos, conduzidos *in vitro* e *in vivo*, mostram o potencial biológico de espécies do gênero *Nectandra*, em que os metabólitos presentes nessas diferentes espécies são responsáveis, de forma promissora, pelas atividades citotóxicas contra células do melanoma humano (DE SOUSA *et al.*, 2019), antifúngica e antioxidativa (DA SILVA *et al.*, 2018) e anti-*Trypanosoma* (GRECCO *et al.*, 2017). Frente ao exposto, objetivou-se avaliar, *in vitro*, a composição química e o potencial citotóxico dos extratos etanólicos caulinar e foliar de *Nectandra psammophila* em células HepG2 do hepatocarcinoma humano.

## MÉTODO

### Obtenção e preparo dos extratos de *Nectandra psammophila*

Folhas (≅ 100 *g*) e galhos/caules (≅ 200 *g*) de *Nectandra psamophila* foram coletados em novembro de 2018 na Reserva Natural Vale (RNV) – exsicatas identificadas e depositadas no Herbário da Reserva Natural Vale sob número CVRD 15938/RNV – e expostos à secagem em estufa com circulação e renovação de ar – não ultrapassando a temperatura de 45 ºC para evitar a perda de compostos –, e triturados em Moinho de Facas (granulometria 0,3mm) para obtenção das drogas vegetais, ou seja, das partes da planta estabilizadas por meio da secagem. O preparo dos extratos foi efetuado pelo procedimento de percolação etanol 92% (v/v), utilizando-se a proporção de 1:3 (p/v) (3 vezes, por 72 horas cada), respectivamente. Ao fim desta etapa, os extratos vegetais foram filtrados em papel filtro (Whatman nº1) e o solvente evaporado a 40 ºC por evaporador rotativo (Marconi – MA-120) acoplado a bomba de vácuo (Marconi – MA 057/1) e, para retirada completa do solvente, os extratos etanólicos sofreram o processo de liofilização (Liotop®, L101). Por fim, foram transferidos para vidro âmbar e armazenados ao abrigo de luz, calor e umidade; os extratos foram solubilizados em 60% RPMI 1640 e 40% DMSO e homogeneizados por vortexagem e banho ultrassônico nas concentrações de 100mg/mL para estocagem a -20 ºC (SEVERI, 2007).

## Linhagem e manutenção das células

A linhagem celular HepG2, responsável pelo carcinoma hepatocelular humano, foi cedida gentilmente pela Fundação Oswaldo Cruz – Rondônia e as células cultivadas em garrafas de cultivo de 75cm³ com tampa com filtro em meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), suplementado com 20% SBF (v/v) (Soro Bovino Fetal), 23,66mM de HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil) -1-piperazinoetanossulfônico), 23,80mM de $NaHCO_3$ (bicarbonato de sódio) e 1% Penicilina-Estreptomicina 100x (Sigma Aldrich®) e mantidas em estufa de circulação de ar com 5% de $CO_2$, a 37 ºC. Após o estabelecimento do cultivo *in vitro*, as células foram repicadas utilizando-se o processo de tripsinização no alcance de 70% de confluência e, após três passagens, realizou-se os experimentos com a confluência em cerca de 80%.

## Atividade citotóxica

A atividade citotóxica e/ou antiproliferativa de *N. psammophila* em células HepG2 foi determinada pelo ensaio do MTT (3- (4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Brometo de Difeniltetrazólio), baseado na capacidade das células reduzirem o MTT em cristais de coloração roxa, avaliando, assim, se são metabolicamente viáveis a partir da integridade mitocondrial (MOSMANN, 1983). Em placas de 96 poços, as células HepG2 foram cultivadas em meio de cultivo RPMI 1640 suplementado com 23,80 mM de $NaHCO_3$ com um ajuste de $1x10^4$ células por poço e acondicionadas, *overnight*, em estufa de circulação de ar com 5% $CO_2$ e 37 ºC, averiguando a adesão das células. Após este período, realizou-se a troca do meio dos poços e adicionou-se solução de meio RPMI 1640 com os extratos diluídos (0,4% DMSO) em sete diferentes concentrações (1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,50 µg/mL, 31,25 µg/mL e de 15,62 µg/mL) para teste em triplicata; o veículo DMSO 0,4% foi utilizado como controle negativo. As placas foram incubadas nas mesmas condições de cultivo por um período de 48 h e, após observar a morfologia das células tratadas em microscópio trinocular invertido, os sobrenadantes foram removidos cuidadosamente, as células lavadas uma vez com PBS 1x a 37ºC esterilizado em membrana 0.22 µm e 100 µL de solução de MTT a 0,5 mg/mL foram adicionados por poço, incubando as placas no escuro e após quatro horas removeu-se a solução reveladora e adicionou-se 150 µL de DMSO por poço – solubilizando os cristais derivados da redução do MTT – para a leitura da porcentagem de inibição em leitor de microplaca a λ 570 nm para cálculo de células viáveis, conforme fórmula:

$$\%\ células\ viáveis = \frac{Absorbância\ amostra - absorbância\ controle\ do\ meio}{Absorbância\ controle\ celular - absorbância\ controle\ do\ meio} \times 100\%.$$

## Análises Estatísticas

Para as análises estatísticas dos resultados, o $CC_{50}$ foi calculado a partir de uma regressão linear por meio da fórmula $y = A1 + (A2 - A1)/(1 + 10\hat{}((LOGx0 - x) * p)$, com qualidade da regressão aferida pelo coeficiente de determinação (COD) $R^2 \geq 0{,}95$ e auxílio do programa estatístico Origin® 2019b; Para a comparação entre os grupos, os dados foram avaliados pela Análise

de Variância (ANOVA) e o Teste de Tukey foi utilizado para comparação das médias com o software GraphPad PRISM 6, sendo a determinação do nível de significância para $p<0,05$ considerada significativa.

### Análise fitoquímica dos extratos etanólicos de *Nectandra psammophila*

Realizou-se, com adaptações, a caracterização do tipo qualitativa da composição química dos exemplares vegetais conforme Wagner *et al.* (1984) e Matos (2009). A busca por alcaloides foi exercida com uso da observação da formação de precipitados específicos dos reagentes (i) Dragendorff (precipitado laranja), (ii) Mayer (precipitado branco), (iii) Bertrand (precipitado branco), (iv) Bouchardat-Wagner (precipitado marrom) e (v) Hager (precipitado amarelo). Com a reação de Kedde, foi possível a busca por glicosídeos cardiotônicos e com a reação de Keller-Kiliani fez-se possível a busca por desoxioses nas extremidades livres. As antraquinonas foram evidenciadas com manuseio da reação de Bornträger, a qual, caso positivada, permite a observação de cor róseo-avermelhada na fase inferior da solução. Os terpenos/fenantrenos foram evidenciados pela reação de Liebermann-Buchard, onde a cor azul ou verde indica núcleo esteroidal e cor rosa ou violeta indica núcleo terpênico. Verificou-se a presença de saponinas realizando a decocção (3min) da porção do extrato dissolvida em 10 mL de água destilada e posterior agitação rigorosa (15s) e após a agitação, repousou-se a solução por 15 minutos e adicionou-se uma gota de HC*l* concentrado, onde a persistência da espuma indica positivo; saponinas hemolíticas foram evidenciadas a partir da deposição dos extratos em meio enriquecido com sangue em placas incubadas em temperaturas 2-8 ºC, sendo Saponina P.A. o controle positivo, observando a formação de halo de hemólise nos tempos de 24 h e 48 h. As cumarinas foram determinadas a partir da aplicação dos extratos em papel filtro até a formação de dois halos seguido da adição de 2 gotas de KOH/NaOH 10% etanol (p/v) e da exposição à radiação ultravioleta $\lambda$ 365nm, observando-se o aparecimento de fluorescência no tempo de 1-3 minutos. Os compostos fenólicos foram presenciados com a adição de gotas da solução de $FeCl_3$ (5%) e a cor azul-verde da solução. Flavonoides foram determinados pelas reações de Shinoda, de Pacheco, de Pew, de Taubock e com $AlCl_3$, sendo, as duas últimas, reveladas sob luz ultravioleta $\lambda$ 365nm. A revelação de taninos foi feita a partir da utilização de soluções de $Pb(AcO)_2$; de $Cu(AcO)_2$; de $FeCl_3$ 1% MeOH; e de gelatina 2%, com análise feita pela presença e aspecto de precipitado (se presente) e por mudança em coloração específica.

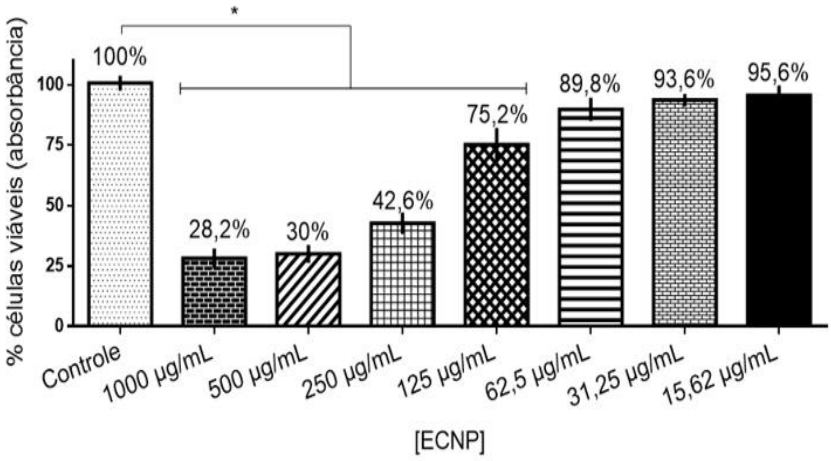
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por fármacos para tratamento de células cancerígenas requer características nos compostos que sejam capazes de diminuir a proliferação e o crescimento celular, induzindo, também, dano e morte celular. Neste estudo, realizou-se a preparação dos extratos etanólicos caulinar e foliar de *N. psammophila* utilizando percolação com etanol 92% (v/v; 1/3 p/v) com rendimento de 7,41% e 19,29%, respectivamente. Para determinação do potencial terapêutico dos extratos etanólicos caulinar (ECNP) e foliar (EFNP), células da linhagem HepG2, cultivadas com eficácia, foram tratadas por um período de 48 horas nas concentrações de 1000, 500, 250, 125,

62,50, 31,25 e de 15,62 µg/mL e investigadas quanto à viabilidade celular utilizando o reagente MTT.

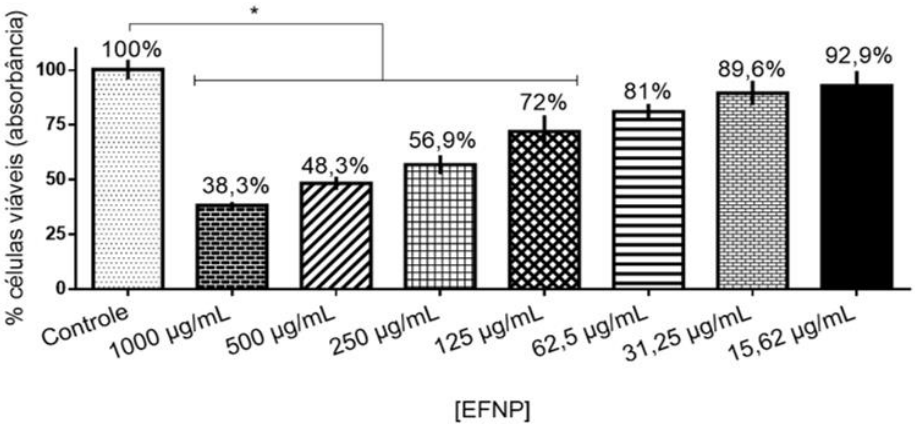
O tratamento com ECNP revelou que as concentrações 1000 e 500 µg/mL reduziram a viabilidade celular em 71,8 e 70% para EFNP e em 61,7 e 51,7% para EFNP; ambos os tratamentos foram comparados com o controle negativo, o qual não teve a viabilidade afetada pelo DMSO 0,4% (Figura 1.1 e 1.2). De acordo com Mosmann (1983), a clivagem do MTT apresenta diversas propriedades que dizem respeito à atividade citotóxica e/ou antiproliferativa, uma vez que este processo é feito por células vivas e ativas e, utilizando o ensaio de viabilidade MTT, foi possível monitorar a redução da atividade metabólica a partir da redução do sal de tetrazólio nas concentrações mais altas de ECNP e EFNP no período de 48 horas, conforme Figuras 1.1 e 1.2.

**Figura 1.1.** Avaliação do efeito citotóxico em células HepG2 do extrato etanólico caulinar (ECNP) de *N. psammophila*




**Legenda:** Os dados representam, em porcentagem, a viabilidade celular para cada concentração de ECNP ± desvio padrão de três experimentos realizados em triplicata. *$P < 0,0001$.

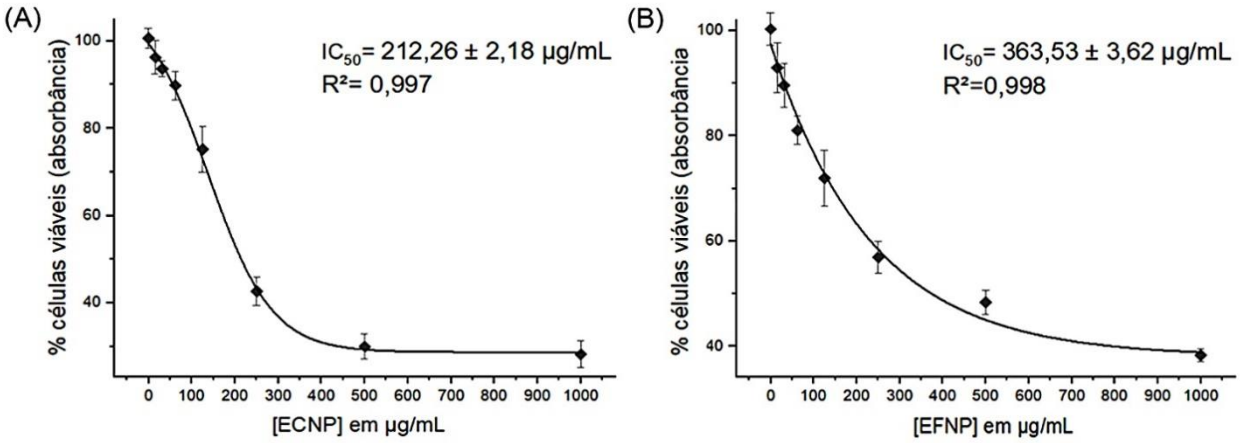
**Figura 1.2.** Avaliação do efeito citotóxico em células HepG2 do extrato etanólico foliar (EFNP) de *N. psammophila*




**Legenda:** Os dados representam, em porcentagem, a viabilidade celular para cada concentração de EFNP ± desvio padrão de três experimentos realizados em triplicata. * $P < 0,0001$.

Os valores de células vivas e metabolicamente viáveis obtidos via ensaio do MTT foram utilizados para estimar os índices de concentração citotóxica dos extratos para 50% das células HepG2 ($CC_{50}$), com resultados de $CC_{50}$= 212,26 ± 2,18 µg/mL para ECNP e de $CC_{50}$= 363,53 ± 3,62 µg/mL para EFNP, sugerindo a baixa atividade citotóxica e/ou antiproliferativa de *N. psammophila*, uma vez que a redução da viabilidade celular – no que diz respeito à integridade mitocondrial – foi evidenciada (Figura 1.3).

**Figura 1.3.** Valores de $CC_{50}$ obtidos por regressão linear de resposta da porcentagem de células viáveis sob efeito das concentrações dos extratos (A) etanólico caulinar e (B) etanólico foliar de *N. psammophila* após 48 horas de incubação




**Legenda:** Dados expressos em média de três repetições em triplicata ± erro padrão. CC50: concentração média de inibição. $R^2$: coeficiente de determinação. ECNP: extrato etanólico caulinar. EFNP: extrato etanólico foliar.

O valor de $CC_{50}$ calculado por regressão linear foi de $CC_{50}$= 212,26 ± 2,18 µg/mL e de $CC_{50}$= 363,53 ± 3,62 µg/mL para ECNP e EFNP, apresentando citotoxicidade e/ou inibição da atividade antiproliferativa de HepG2, com ambos os valores dos coeficientes de determinação ($R^2$) ≥ 0,95, sendo que quanto mais próximo de 1, mais se explica a intensidade da variação da viabilidade celular em relação a variação da concentração de ECNP e EFNP; entretanto, o teste realizado não permite distinguir se as células são induzidas ao processo apoptótico ou se não dão início ao ciclo celular, uma vez que células ativadas produzem mais cristais de formazan que células em repouso, fazendo com que haja maior medição de viabilidade nas concentrações mais baixas testadas mesmo na ausência de proliferação (MOSMANN, 1983).

Da mesma forma, estudos realizados com os óleos essenciais dos galhos e folhas de *Nectandra salicina* mostraram citotoxicidade frente células HepG2, com valores de $CC_{50}$ aproximadamente 200 $\mu g.mL^{-1}$ (CICCIÓ *et al.*, 2009), mas a extração de compostos biologicamente ativos é um passo crítico, uma vez que a eficiência contra tipos celulares irá depender de diversos fatores, como órgão vegetal extraído, substâncias a serem extraídas, solvente e método extrativo, mas por outro lado, relatos sobre a atividade citotóxica do óleo essencial das folhas de *Nectandra leucantha* em algumas células cancerígenas são evidenciados, com valores de $CC_{50}$ intercalando entre 33 ± 1 e 194,9 ± 0,1 $\mu g.mL^{-1}$ (GRECCO *et al.*, 2015).

Os resultados testes realizados na triagem fitoquímica com a finalidade de investigar a presença das principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos etanólicos ECNP e EFNP estão evidenciados na Tabela 1.1. A presença de compostos fenólicos pode ser evidenciada com a formação de um precipitado de coloração azul ou verde, característico pela interação entre o cloreto férrico 5% e a solução hidroalcóolica dos extratos vegetais. A positividade foi constatada em EFNP e EFNP, corroborando com estudos em que outras espécies do mesmo gênero foram utilizadas, onde compostos fenólicos foram evidenciados nas folhas e nas cascas de *N. lanceolata*, de *N. megapotamica* e de *N. grandiflora* (FERRAZ *et al*., 2018), assim como no óleo essencial das folhas de *N. megapotamica* (FARIAS *et al*., 2018) e no extrato hidroalcóolico das cascas de *N. cuspidata* (OLIVEIRA *et al*., 2018).

Fez-se a combinação de vários testes para a avaliar a presença de flavonoides, fazendo-se o uso de parâmetros como o aumento da absorção de luz ultravioleta (Reação de $AlCl_3$ e Taubouk) e a formação de cianidina – pela interação com metais em meio ácido (Shinoda, Pew e Pacheco). Neste estudo, a positividade foi constatada apenas para EFNP nas reações com $AlCl_3$ e de Taubouk, sendo também encontrados em outras espécies de *Nectandra* spp., como no extrato metanólico de *Nectandra acufolia* (GONZÁLEZ & MOSQUERA, 2019), nos extratos etanólicos das folhas de *Nectandra grandiflora* (DA SILVA *et al*., 2018; RIBEIRO, 2002) e, embora aqui não relatados, foram evidenciados no extrato tolueno de cascas do caule de *N. purpurascens* (AVELLA & RÍOS-MOTTA, 2010).

**Tabela 1.1.** Análise qualitativa da composição química dos extratos caulinar (ECNP) e foliar (EFNP) de *Nectandra psammophila* (Lauraceae) utilizados para a avaliação da atividade citotóxica em células do carcinoma hepatocelular HepG2

| Metabólitos secundários | Testes realizados | Resultados |
|---|---|---|
| Alcaloides | Drangendorff; Mayer; Bertrand; Bouchardat/Wagner; e Hager | X |
| Compostos Fenólicos | $FeCl_3$ 5% | ECNP; EFNP |
| Heterosídeos Cardiotônicos | Kedde; Pesez; e Keller-Killiani | ECNP; EFNP |
| Antraquinonas | Bornträger | X |
| Terpenoides | Liebermann-Buchard | ECNP; EFNP |
| Saponinas | Formação de espuma estável* e de halo hemolítico | ECNP*; EFNP* |
| Cumarinas | KOH 10% / NaOH 10% | ECNP; EFNP |
| Flavonoides | Shinoda; Pacheco; Pew; Taubock; e $AlCl_3$ | EFNP |
| Taninos | $Pb(AcO)_2$; $Cu(AcO)_2$; $FeCl_3$ 1% MeOH; e Gelatina 2% | ECNP; EFNP |

Para verificar a presença dos compostos terpênicos, utilizou-se a reação de Liebermann-Buchard, distinguindo a origem do núcleo terpênicos por meio do aparecimento da coloração azul ou verde para presença de núcleo esteroidal, e coloração rosa ou violeta para núcleo triterpênico. Em ambos extratos analisados, os resultados sugerem a presença de terpenos com núcleo esteroidal, assim como evidenciado nos extratos etéreo e aquoso hidrolisado das folhas de *Nectandra membranaceae* (BAGNARELLO-MADRIGAL *et al*., 2018) e nos estudos de Macías-Villamizar e

Cuca-Suáre (2014), que apontou três tipos de esteroides no extrato etanólico da casca de *Nectandra turbacensis*.

A presença de glicosídeos cardiotônicos foi investigada pelos testes de Kedde, de Pesez e de Keller-Killiani; no primeiro, tem-se a finalidade de identificar a presença de anel lactônico *α-β* insaturado a partir da reação do extrato vegetal com ácido 3,5-dinitrobenzóico em meio alcalino, em que o aparecimento de coloração vermelho-violeta demonstra positividade. Os extratos EFNP e ECNP foram positivos para a reação de Kedde, indicando a presença de anel lactônico ligado ao núcleo fundamental dos terpenos.

A reação de Pesez investiga a presença de heterosídeos cardiotônicos, exibindo coloração amarelo fluorescente sob luz ultravioleta após adição de ácido fosfórico; a reação de Keller-Killiani averigua a presença de glicosídeos que possam estar ligados ao núcleo fundamental dos terpenos, que, basicamente, ocorre em meio ácido, com hidrólise da porção glicosídica, apresentando coloração castanho-avermelhada na presença de desoxioses livres nas extremidades. A negatividade em EFNP e ECNP para as reações de Pesez e Keller-Killiani sugerem a ausência de heterosídeos cardiotônicos e também de glicosídeos ligados ao núcleo esteroidal, contudo, por se tratarem de testes específicos para desoxiaçúcares e heterosídeos facilmente hidrolisáveis, a presença de uma cadeia constituída por resíduo terminal de glicose, por exemplo, poderia levar a uma reação negativa (SIMÕES, 2016).

A pesquisa de saponinas foi realizada pelos testes de agitação vigorosa da solução aquosa do extrato vegetal, onde a formação e a permanência da espuma indicam a presença de saponinas, cuja confirmação também pode vir com posterior adição de ácido diluído para verificar a resistência da espuma. As saponinas podem apresentar atividade hemolítica, devido às características físico-químicas presentes que atuam sobre as membranas biológicas como tensoativo, promovendo lise celular (FRANCIS *et al.*, 2002); para verificar a capacidade hemolítica das saponinas é realizado um teste em ágar-sangue, onde se positivo, há a formação halo de hemólise.

Os extratos vegetais ECNP e EFNP foram positivos para o teste de agitação com posterior adição de ácido, indicando saponinas na solução aquosa dos extratos, entretanto, ambos foram negativos para o teste de hemólise, propondo a ausência de atividade hemolítica ou que esta seria pouco relevante para não formar o halo de hemólise.

Para investigar a presença de cumarinas, uma alíquota dos extratos foi disposta em papel filtro e acrescida de uma solução de base forte e exposição a luz ultravioleta. A intensificação da fluorescência ao longo do tempo é sugestiva para cumarinas, visto que possuem a capacidade de absorver radiações ultravioletas. A positividade da reação para os extratos ECNP e EFNP indica a presença desta classe nas amostras.

A presença de saponinas e de cumarinas no gênero *Nectandra* também foi observada por Mallmann *et al.* (2012), sendo estes compostos encontrados nas frações clorofórmica, acetato de etila e butanólica do extrato etanólico bruto de *N. megapotamica*. Ademais, cumarinas foram identificas no extrato aquoso e aquoso hidrolisado e, em contrapartida, evidenciou-se a ausência de saponinas no extrato etéreo e aquoso de *N. membranaceae* (BAGNARELLO-MADRIGAL *et al.*, 2018).

Como os compostos da classe dos taninos possuem como característica a complexação com proteínas, polissacarídeos e alguns metais (SIMÕES, 2016), a investigação da presença destes

compostos foi realizada com solução aquosa de gelatina a 2%, em que a precipitação da gelatina em contato com o extrato vegetal, sugere a presença de taninos. Algumas reações colorimétricas auxiliam na diferenciação preditiva entre taninos hidrolisáveis e condensados, como a adição de solução metanólica de cloreto férrico a 1%, em que a formação de coloração azul indica taninos hidrolisáveis e a coloração verde indica taninos condensados. A adição de soluções contendo acetato de chumbo a 10% ou acetato de cobre a 4% nos extratos vegetais também indicam taninos hidrolisáveis.

Os extratos vegetais ECNP e EFNP foram submetidos aos ensaios descritos acima para a investigação de compostos tanínicos, apresentando positividades para testes com uso da solução de gelatina a 2% e $FeCl_3$ 1%, sugerindo a presença de taninos condensados, informação também verificada pela ausência de precipitados sólidos brancos, em ambos extratos, na adição de acetato de chumbo (10%) e de cobre (4%). A revelação de taninos em EFNP e ECNP foi ratificada pelos estudos de Bagnarello-Madrigal e colaboradores (2018) nos extratos aquosos de *Nectandra membranaceae*.

A pesquisa de alcaloides foi realizada pelos testes de Drangendorff, Mayer, Bertrand, Bouchardat/Wagner e de Hager, em que todos partem do princípio da complexação de diferentes metais pesados com os alcaloides, formando precipitados de coloração característica para cada um, todavia, nenhum dos extratos apresentaram resultados sugestivos para a presença destes compostos nesta espécie e também não há evidências na literatura científica que contraponha o resultado. Do mesmo modo, os extratos vegetais também foram negativos na pesquisa de compostos antraquinônicos, realizados pela reação de Bornträger indireta com hidrólise. A busca por novas substâncias bioativas eficazes e seguras possui grande relevância, uma vez que abrem caminhos para o tratamento para distintas patologias e, consequentemente contribui na prospecção de novas terapias.

## CONCLUSÃO

O CHC é a segunda causa de morte por câncer mais comum no mundo e as plantas medicinais são de grande significância no processo de descoberta de drogas mais eficazes. Neste trabalho, avaliou-se o potencial citotóxico e/ou antiproliferativo dos extratos etanólicos dos caules (ECNP) e folhas (EFNP) de *N. psammophila* em células HepG2, revelando, a partir do ensaio de MTT, que os extratos diminuíram o número de células viáveis em 71,8 e 70% para ECNP e em 61,7 e 51,7% para EFNP nas concentrações de 1000 e 500 $\mu g.mL^{-1}$, com diferenças significativas em relação ao grupo controle para concentrações de 125 $\mu g.mL^{-1}$, e, tendo vista os valores de $CC_{50}$ obtidos para ECNP (212,26 ± 2,18 $\mu g.mL^{-1}$) e EFNP (363,53 ± 3,62 $\mu g.mL^{-1}$), os extratos passaram por ensaios qualitativos acerca da composição fitoquímica para a busca dos possíveis metabólitos presentes que possam ser responsáveis pelas características citotóxicas em HepG2, revelando que *N. psammophila* é uma espécie com muitos compostos bioativos, destacando a importância de compostos naturais para o desenvolvimento de novos fármacos.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AVELLA, E. & RÍOS-MOTTA, J.A. Main constituents and cytotoxic activity of the essential oil of *Piper artanthe*. Chemistry of Natural Compounds, v. 46, p. 651. 2010.

BAGNARELLO-MADRIGAL, V. *et al*. Antimalarial activity of an alkaloid mixture isolated from the tender leaves of the *Nectandra membranacea* (Laureaceae). Journal Of Life Sciences, Wilmington, DE, v. 12, p. 134. 2018.

BRAY, F. *et al*. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, Atlanta, GA, v. 68, p. 394, 2018.

CHACKO, S. & SAMANTA, S. Hepatocellular carcinoma: a life-threatening disease. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 84, p. 1679, 2016.

CICCIÓ, J.F. *et al*. Volatile compounds of *Nectandra salicina* (Lauraceae) from Costa rica and their cytotoxic activity on cell lines. Química Nova, v. 32, n. 2, p. 417-420, fev. 2009.

DA SILVA, D.T. *et al*. *Nectandra grandiflora* by-products obtained by alternative extraction methods as a source of phytochemicals with antioxidant and antifungal properties. Molecules, v. 23, p. 372. 2018.

DAMASCENO, C.S.B. *et al*. Chemical composition and biological activities of essential oils in the family Lauraceae: a systematic review of the literature. Planta Medica, , v. 85, p. 1054. 2019.

DE SOUSA, F.S. *et al*. Genotoxic and cytotoxic effects of neolignans isolated from *Nectandra leucantha* (Lauraceae). Toxicology *in vitro*, v. 5, p. 116, 2019.

DUTTA, R. & MAHATO, R.I. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy. Pharmacology & Therapeutics, v. 173, p. 106, 2017.

FARIAS, K. S. *et al*. In depth investigation of the metabolism of *Nectandra megapotamica* chemotypes. PLoS ONE, , v. 13, n. 8, p. 1-18, ago. 2016.

FERRAZ, E.O. *et al*. Seasonality effects on chemical composition, antibacterial activity and essential oil yield of three species of *Nectandra*. PLoS One, v. 13, e0204132, 2018.

FITZMORRIS, P. *et al*. Management of hepatocellular carcinoma. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, v. 141, p. 861, 2015.

FRANCIS, G. *et al*. The biological action of saponins in animal systems: a review. British Journal of Nutrition, v. 88, p. 587, 2002.

GHEENA, S. & EZHILARASAN, D. Syringic acid triggers reactive oxygen species–mediated cytotoxicity in hepg2 cells. Human & Experimental Toxicology, v. 38, p. 694. 2019.

GRECCO, S.S. *et al*. Antitrypanosomal activity and evaluation of the mechanism of action of dehydrodieugenol isolated from *Nectandra leucantha* (Lauraceae) and its methylated derivative against *Trypanosoma cruzi*. Phytomedicine, v. 24, p. 62, 2017.

GRECCO, S.S. *et al*. Chemical composition and in vitro cytotoxic effects of the essential oil from *Nectandra leucantha* leaves. Pharmaceutical Biology, v. 53, p. 133. 2015.

GRECCO, S.S. *et al*. Update: biological and chemical aspects of *Nectandra genus* (Lauraceae). Tetrahedron: Asymmetry, v. 27, p. 793. 2016.

GREENWELL, M & RAHMAN, P.K.S.M. Medicinal plants: their use in anticancer treatment. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, v. 6, p. 4103. 2015.

MACÍAS-VILLAMIZAR, V. & CUCA-SUÁRE, L. Diaryldimethylbutane lignans and other constituents isolated from nectandra turbacensis (kunth) nees (lauraceae). Revista Colombiana De Química, v. 43, p. 12. 2014.

MALLMANN, V. *et al*. Estudo químico das folhas de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) mez (Lauraceae) da região sul de Mato Grosso do Sul. 17 Workshop De Plantas Medicinais Do Mato Grosso Do Sul/7º Empório Da Agricultura Familiar. 2012.

MATOS, F.J.A. Introdução a fitoquímica experimental. Fortaleza, Ce: Editora UFC, 2009.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal Of Immunological Methods, v. 65, p. 55, 1983.

OLIVEIRA, A.S. Atividade antioxidante e citotóxica do extrato hidroetanólico da casca de *Nectandra cuspidata* Nees & Mart. Ex Nees. [Monografia - Trabalho De Conclusão De Curso (Bacharelado Em Biotecnologia) – Faculdade De Ciências Biológicas E Ambientais] Dourados, MS. Universidade Federal Da Grande Dourados, 2018.

PETRICK, J.L. *et al*. International trends in hepatocellular carcinoma incidence, 1978–2012. International Journal of Cancer, v. 147, p. 317, 2020.

PRAKASH, A.K.S. & DEVARAJ, E. Cytotoxic potentials of s. cumini methanolic seed kernel extract in human hepatoma Hepg2 cells. Environmental Toxicology, v. 34, p. 1313. 2019.

REN, Y. *et al*. Potential anticancer agents characterized from selected tropical plants. Journal of Natural Products, v. 82, n. 3, 2019.

RIBEIRO, A.B. *et al*. Antioxidant flavonol glycosides from *Nectandra grandiflora* (Lauraceae). Eclética Química, v. 27, p. 35, 2002.

SEVERI, J.A. Uso sustentável da biodiversidade brasileira prospecção químico-farmacológico de plantas superiores: *Guapira noxia* (Nyctaginaceae). Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" – Faculdade De Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 89f. 2007.

SIMÕES, C.M.O. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Artmed Editora, 2016.

TROJAN, J. *et al*. Diagnostics and treatment of hepatocellular carcinoma in 2016: standards and developments. Visceral Medicine, v. 32, p. 116, 2016.

WAGNER, H. *et al*. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas: Berlim: Springer Verlag, 1984.

WANG, J. *et al*. Licochalcone b extracted from *Glycyrrhiza uralensis* fisch induces apoptotic effects in human hepatoma cell HepG2. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 67, p. 3341, 2019.

YANG, J.D. *et al*. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, v. 16, p. 589, 2019.

YANG, N. *et al*. Hepatocellular carcinoma and microrna: new perspectives on therapeutics and diagnostics. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 81, p. 62, 2015.

# CAPÍTULO 2

## MEDIDAS FARMACOLÓGICAS UTILIZADAS PARA O ALÍVIO DA DOR EM RECÉM-NASCIDOS

*Palavras-chave: Recém-Nascido; Manejo da dor; Unidades de Terapia Intensiva Neonatal*

**MARIANNE ROCHA DUARTE DE CARVALHO[1]**
**SILVANA SANTIAGO DA ROCHA[2]**
**MÁRCIA ASTRÊS FERNANDES[3]**

1. Mestre em Enfermagem pela Universidade Federal do Piauí. Professora do Curso de Graduação em Enfermagem da Universidade Estadual do Piauí. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal do Piauí.
2. Pós-Doutora em Enfermagem pela Universidade Federal do Ceará. Professora Associada do Curso de Graduação e Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal do Piauí.
3. Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo. Professora Associada do Curso de Graduação e Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal do Piauí.

# INTRODUÇÃO

A dor é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência emocional e sensorial desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial (IASP, 2011). Até os anos 1980, a dor na criança, no lactente e no Recém-nascido (RN) não era diagnosticada de forma sistemática e, frequentemente deixava de ser tratada (MARQUES *et al.*, 2019).

No passado acreditava-se que bebês e crianças não sentiam dor por causa da imaturidade de seu Sistema Nervoso Central (SNC). No entanto, estudos recentes mostraram que as vias somatossensoriais básicas e os aspectos anatômicos, fisiológicos, neuroquímicos que são necessárias para a percepção da dor já estão desenvolvidos semanas antes do nascimento. Assim, até mesmo RN prematuros possuem a capacidade de percepção dolorosa, entretanto não apresentam ainda a capacidade de modulação desta (CODIPIETRO *et al.*, 2010).

Estímulos dolorosos repetidos e não tratados podem trazer efeitos a curto e longo prazo no RN. A dor pode afetar o neurodesenvolvimento e causar lesões permanentes no cérebro em crescimento sendo, pois, necessário o seu controle, para reduzir a morbidade em neonatos (CODIPIETRO *et al.*, 2010; KAUR *et al.*, 2019; DEBILLON *et al.*, 2002).

A dor está presente na vida de RN que necessitam de internação em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN), seja devido à prematuridade, instabilidade hemodinâmica ou presença de malformações. Nesse ambiente de cuidados, para garantir a sobrevida dos RN, são necessários a realização de grande número de exames diagnósticos e procedimentos terapêuticos invasivos que podem ocasionar dor e/ou desconforto (PINHEIRO *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2011).

Dentre os diversos procedimentos dolorosos realizados pode-se citar intubação orotraqueal, aspiração de vias aéreas, instalação de sonda orogástrica, retirada de esparadrapos, drenagem torácica, punção lombar, punções venosas e arteriais (PINHEIRO *et al.*, 2015). Também são realizados mielograma, inserção de cateter venoso central (CVC) e punção de calcanhar para glicemia capilar, que é indiscutivelmente a mais frequente manobra dolorosa em RN internados na UTIN (KOSTAK *et al.*, 2015; CODIPIETRO *et al.*, 2010).

Os estímulos dolorosos agudos desencadeiam no RN uma resposta que inclui alterações em nível cardiovascular, respiratório, diminuição na saturação de oxigênio e nas trocas gasosas, além de alterações imunológicas, hormonal e comportamental como choro, mudanças na mímica facial e corporal e alterações no estado de sono e vigília (CRUZ *et al.*, 2016; CHRISTOFFEL *et al.*, 2017).

Para avaliação da dor no período neonatal, a literatura recomenda que esta seja realizada de forma sistemática através da utilização de instrumentos que decodifiquem a linguagem da dor e as quantifique, como as escalas de dor. A partir desta, as intervenções para o controle e/ou alívio da dor, que tem como objetivo minimizar a intensidade e a duração, ajudando o paciente a recuperar-se prontamente dessa experiência, devem ser prescritas e administradas. Após a realização da intervenção seja ela não farmacológica, farmacológica, ou a associação destas, os profissionais devem avaliar novamente os sinais fisiológicos e comportamentais manifestados pelo RN para verificar a sua efetividade (CHRISTOFFEL *et al.*, 2017; TAMEZ & SILVA, 1999).

Assim, ao reconhecer a importância da dor em RN, bem como das estratégias para o seu alívio, o presente estudo apresenta como objetivo discutir as principais medidas farmacológicas para o alívio da dor em RN, utilizadas por profissionais de saúde no contexto de UTIN.

## MÉTODO

Trata-se de uma revisão narrativa, definida como uma publicação ampla apropriada para descrever e discutir o desenvolvimento ou o "estado da arte" de um determinado assunto, sob ponto de vista teórico ou contextual. Essa categoria de trabalho constitui-se da análise crítica da literatura publicada em livros, artigos de revistas, *guidelines*, sob ponto de vista pessoal do autor (ROTHER, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Medidas Farmacológicas para Alívio da Dor em RN

A analgesia farmacológica tem como principal objetivo aliviar a dor causada por procedimentos invasivos, tais como a inserção de Cateter Central de Inserção Periférica (PICC), dissecção de veia, inserção de dreno de tórax, pós-operatório, infecções abdominais, fraturas ou lacerações e ventilação mecânica (VM) (SILVA, 2017). Os agentes farmacológicos devem ser administrados antes do RN apresentar sinais de alterações fisiológicas ou comportamentais associados ao processo de dor (TAMEZ & SILVA, 1999).

Os fármacos usados em neonatologia são restritos e apresentam particularidades farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Em virtude disso, a decisão da prescrição de um fármaco deve considerar a individualidade do RN, seu contexto clínico, a gravidade do estímulo doloroso. A dose é orientada por uma avaliação rigorosa da dor, em que a dose inicial é aquela que alivia eficazmente a dor sem produzir efeitos secundários indesejáveis (BATALHA, 2019).

O tratamento farmacológico envolve a administração sob as mais variadas vias de medicamentos não opioides, opioides, sedativos e anestésicos locais.

### I. Analgésicos não opioides

Entre os analgésicos não opioides, os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) são indicados para processos dolorosos leves e moderados ou quando a dor está associada a um processo inflamatório ou ainda em situações nas quais a depressão respiratória ocasionada pelo uso do opioide é indesejável (CAPELLINI *et al.*, 2014). Eles atuam por meio da inibição de prostaglandinas e tromboxanos liberados durante as lesões teciduais, sendo incluídos neste grupo o diclofenaco, ibuprofeno e dipirona. No entanto, para o uso no RN apenas o paracetamol (acetaminofeno) é recomendado, devendo ser administrado na dose de 10-15 mg/kg/dose com intervalo de seis a oito horas no RN a termo e na dosagem de 10 mg/kg/dose com intervalo de oito a 12 horas no RN prematuro (BRASIL, 2014).

O início da ação analgésica do paracetamol é lento, levando cerca de uma hora e a dose máxima não deve exceder 40 mg/Kg/dia, para RN nascidos com 26-32 semanas de gestação, e de 60 mg/Kg/dia, para RN nascidos com 32-42 semanas, devido às enzimas hepáticas ainda serem imaturas (GUINSBURG, 2004; IASP, 2011).

Destaca-se que a dipirona não é recomendada como analgésico no período neonatal, apesar de esta ser uma prática médica utilizada nas unidades neonatais brasileiras como identificado no estudo realizado numa UTIN de uma maternidade no Rio de Janeiro, em que 50% dos médicos declararam prescrever a dipirona para alívio da dor em RN (CHRISTOFFEL *et al.*, 2017).

## II. Analgésicos opioides

Os analgésicos opioides utilizados no período neonatal são eficazes no alívio da dor moderada a severa e produzem analgesia e sedação. Seu mecanismo de ação ocorre através da ativação de receptores opioides distribuídos pelo SNC que inibem a transmissão do estímulo nociceptivo aos centros superiores, além de ativar as vias corticais descendentes que inibem a dor e ocasionam analgesia (CAPELLINI *et al.*, 2014). Segundo Brasil (2014) a interação desses fármacos com outros receptores opioides podem desencadear depressão respiratória, graus variáveis de sedação, íleo adinâmico, retenção urinária, náuseas, vômitos, tolerância e dependência.

Entre os opioides mais usados no período neonatal destacam-se a morfina, fentanil, tramadol e metadona. A morfina é o fármaco analgésico padrão mais utilizado em UTIN, tendo como indicação dores agudas moderadas e a graves, sedação pré-operatória e durante a anestesia. Apresenta baixa solubilidade, o que explica a demora em alcançar seu efeito máximo no SNC (BARTOLOMÉ *et al.*, 2007). Seu uso em RN se limita à via intravenosa, podendo ser administrada por infusão contínua intravenosa (5 - 10 µg/Kg/h em a termos e 2 - 5 µg/Kg/h para prematuros) ou intermitente (0,05 - 0,2 µg/Kg/dose de 4/4 h) (IASP, 2011; BRASIL, 2014).

Este fármaco deve ser usado com cautela nos casos de persistência dolorosa ou nos casos de dor crônica devido a preocupações com tolerância e dependência. O desenvolvimento da tolerância é possível após a administração endovenosa continua de três a quatro dias e os seus principais efeitos secundários são a hipotensão arterial, causada pela liberação histamínica e supressão do tônus adrenérgico, além de depressão respiratória, hipotensão, atraso na introdução da alimentação enteral exclusiva e retenção urinária (BATALHA, 2019; BRASIL, 2014).

Apesar dos efeitos da morfina poder ocorrer em todos os RN quando altas doses são administradas (100-200 µg/Kg), estas são mais prováveis de ocorrer em prematuros ou naqueles RN com história prévia de hipotensão (IASP, 2011). Para evitar a ocorrência de efeitos colaterais pelo uso prolongado da morfina, a retirada da droga deve ser feita considerando-se o tempo prévio de utilização. Se três dias ou menos, retirar de forma abrupta; 4 a 7 dias, retirar 20% da dose inicial por dia; de 8 a 14 dias de uso, retirar 10% da dose inicial por dia; 14 dias ou mais, retirar 10% da dose inicial a cada 2 a 3 dias (BRASIL, 2014).

O fentanil é um potente opioide sintético 50 a 100 vezes mais potente que a morfina, com início mais rápido e menor duração de ação. Possui maior lipossolubilidade, o que explica seu rápido efeito e a sua curta duração em razão de sua rápida distribuição. Ele reduz a dor pós-operatória, durante a intubação traqueal, inserção de cateter central e outros procedimentos. A dose a ser

administrada é de 0,5 - 4,0 µg/Kg/h a cada duas ou quatro horas por via endovenosa, mas quando usado sob infusão contínua a dose recomendada é 0,5 – 1,0 µg/Kg/h (IASP, 2011; BRASIL, 2014).

As infusões de fentanil devem ser feitas lentamente para evitar efeitos colaterais como apneia, bradicardia ou rigidez de parede torácica. Após a administração da droga por período superior a três dias, recomenda-se sua retirada de maneira gradual, utilizando esquema semelhante ao da morfina. Quando comparada à morfina, a analgesia do fentanil está associada a efeitos sedativos ou hipotensivos menos graves, efeitos reduzidos sobre motilidade gastrointestinal e menor retenção urinária, mas maior tolerância e abstinência de opioides (IASP, 2011).

No caso do tramadol, um agonista opioide, ele também estimula a liberação de serotonina das terminações nervosas e inibe a receptação tanto da serotonina como da noradrenalina (GUINSBURG, 2004). Se comparado à morfina, apresenta bom efeito analgésico, porém causa menos depressão respiratória, tolerância e dependência. A dose recomendada é de 5 mg/Kg/dia de 8/8 h ou de 6/6 h por via oral ou endovenosa.

A metadona, por sua vez, é utilizada no tratamento da abstinência aos opioides que podem aparecer em RN de mães usuárias de drogas ou naqueles RN criticamente doentes submetidos ao uso prolongado da morfina e/ou de seus análogos (BRASIL, 2014).

## III. Sedativos

Outro grupo de medicamentos que vem sendo também empregado no contexto de analgesia na UTIN, são os sedativos. Estes são agentes farmacológicos que diminuem a ansiedade e a agitação do paciente, podendo levar a amnésia de eventos dolorosos ou não dolorosos, contudo não reduzem a dor. Estão indicados no RN para a realização de procedimentos diagnósticos que requerem algum grau de imobilidade como nos casos de tomográfica computadorizada (TC), ressonância magnética (RNM), eletroencefalograma, dentre outros (GUINSBURG, 2004).

Entre os sedativos de primeira linha estão os benzodiazepínicos e o seu principal representante é o midazolam. Seu uso prolongado pode levar a um quadro de tolerância, sendo necessário aumentar progressivamente a dose para alcançar o mesmo efeito sedativo, além do risco de abstinência se sua retirada não for realizada de forma gradativa. Outro fármaco sedativo também utilizado é o hidrato de cloral administrado por via oral ou retal, indicado para intervenções rápidas (BARTOLOMÉ; CID; FREDDI, 2007).

Sposito *et al.* (2017) realizaram estudo na UTIN de um hospital público de São Paulo, que dentre outros pontos objetivou verificar as medidas realizadas para alívio da dor durante os sete primeiros dias de internação do RN, e neste serviço foi observado uma baixíssima taxa de adoção de intervenções farmacológicas durante a realização de procedimentos dolorosos. O uso dos fármacos ficou restrito a procedimentos mais invasivos como punção pleural, peritoneal e intubação, os quais apresentaram taxas de sedação ou analgesia superiores a 70 %. Destaca-se neste estudo, a frequência de utilização isolada do midazolam (33,9 %). A partir destes resultados as autoras sugeriram parecer haver uma influência na escolha da droga com o intuito não somente de aliviar ou reduzir a dor, mas também de facilitar a realização dos procedimentos com o uso da sedação.

A utilização das intervenções farmacológicas durante a inserção de dispositivos que causam dor, bem como durante a realização de procedimentos invasivos menores foi observada em um estudo realizado na Itália em 103 UTIN. Este mostrou que a farmacoterapia era administrada na

intubação traqueal (33,4 %), inserção de dreno torácico (71,4 %), procedimentos de punção lombar (33 %), aspiração traqueal (12,9 %) e durante a ventilação mecânica (46,5 %) (LAGO *et al.*, 2005).

### IV. Anestésicos tópicos

A anestesia tópica é, também, um importante recurso para minimizar a dor em procedimentos diagnósticos e terapêuticos. O anestésico tópico age por meio dos bloqueios dos canais de sódio nas terminações nervosas nociceptivas, responsáveis pela aferência do estímulo doloroso à medula espinhal (GUINSBURG, 2004).

As opções comumente disponíveis são a Mistura Eutética de Prilocaína e Lidocaína (EMLA), a ametocaína (tetracaína) e a lidocaína sem vasoconstrictor. As duas primeiras opções são pouco utilizadas não apenas em decorrência do tempo necessário para iniciar sua ação após a aplicação, mas porque o EMLA (creme de lidocaína e prilocaína 5 %) por causar branqueamento local e vasoconstrição pode aumentar o risco de metemoglobinemia, o que limita a sua utilização em RN. O gel de tetracaína 4 % atua bloqueando o fluxo de íons de sódio através do axônio e assim, bloqueando o potencial de ação, e causando vasodilatação local, o que pode facilitar a punção de RN (LEMYRE *et al*, 2007).

Quando aplicada na pele intacta o EMLA requer 60 minutos e a tetracaína requer de 30-45 minutos para produzir anestesia local (IASP, 2011). A lidocaína 0,5 % é a mais utilizada na rotina e deve ser infiltrada na dose de 5 mg/kg por via subcutânea antes do procedimento ocasionando ação anestésica imediata (BRASIL, 2014), podendo ser indicada para neonatos submetidos à punção liquórica, inserção de cateter central, drenagem torácica e punção arterial. O início da ação anestésica ocorre em poucos minutos, e a duração do efeito é de 30 a 60 minutos após a infiltração (GUINSBURG, 2004).

Estudo realizado para avaliar a eficácia do anestésico tópico lidocaína 4 % durante a punção venosa mostrou redução estatisticamente significativa na pontuação total da escala *Premature Infant Profile* (PIPP) no grupo de RN pré-termo e termo (11,28 + 3,72, 9,58 + 3,39), antes e após a utilização do agente anestésico tópico (11,54 + 2,84,9,04 + 2,97). A lidocaína 4 % age bloqueando a condução do impulso nervoso por agirem sob os canais de sódio (KAUR *et al*, 2019).

## CONCLUSÃO

Durante a condução desta revisão narrativa observou-se que a implementação de medidas farmacológicas de alívio da dor em RN no contexto de UTIN se encontra fundamentada em diretrizes nacionais e internacionais que norteiam a identificação e manejo da dor neonatal, bem como embasada em estudos randomizados controlados conduzidos em neonatos, e que contribuem para a divulgação das melhores evidências cientîficas acerca da temática discutida.

Por fim, espera-se que esse breve estudo contribua para o conhecimento dos profissionais de saúde que lidam com esse público em particular, especialmente os trabalhadores da Enfermagem que, embora não sejam profissionais prescritores dos medicamentos tratados na presente revisão, são os responsáveis pela administração dos mesmos, lidando cotidianamente na rotina deste ambiente de cuidados e, assim, torna-se importante que incorporem em seu arcabouço teórico essas informações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALVES, C.A. *et al*. Emprego de soluções adocicadas no alívio da dor neonatal em recém-nascidos: uma revisão integrativa. Revista Gaúcha de Enfermagem, v. 32, p. 788, 2011.

BARTOLOMÉ, S.M. *et al*. Analgesia and sedation in children: practical approach for the most frequent situations. Jornal de Pediatria, v. 83 , p. 71, 2007.

BATALHA, L.M.C. Dor no recém-nascido no contexto de unidades de cuidados intensivos neonatais. ln: SOUSA, F.G.M. *et al* (organiz.). Interfaces da pesquisa no cuidado de enfermagem em terapia intensiva neonatal e pediátrica. Curitiba: CRV, 2019. p. 307-328.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de atenção a saúde. Atenção à saúde do recém-nascido: guia para profissionais da saúde. 2 ed.. Brasília: Ministério da Saúde, 2014, v. 2.

CAPELLINI, V.K. *et al*. Conhecimento e atitudes dos profissionais de saúde sobre a avaliação e manejo da dor neonatal. Revista Eletrônica de Enfermagem, v. 16, p. 361, 2014.

CHRISTOFFEL, M.M. *et al*. Atitudes dos profissionais de saúde na avaliação e tratamento da dar neonatal. Escola Anna Nery, v. 21, n. 1, 2017.

CODIPIETRO, L. *et al*. Analgesic techniques in minor painful procedures in neonatal units: a survey in northern Italy. Pain Practice, v. 11, p. 154, 2011.

CRUZ, C.T. *et al*. Avaliação da dor de recém-nascidos durante procedimentos invasivos em terapia intensiva. Revista Dor, v. 17, p. 197, 2016.

DEBILLON, T. *et al*. Pain management in french neonatal intensive care units. Acta Paediatrica, v. 91, p. 822, 2002.

GUINSBURG, R. Dor no recém-nascido. ln: ALVES, J.G.B. *et al*. Pediatria: instituto materno-infantil de Pernambuco (IMIP). 3d. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 307-312.

IASP. INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN. Acute Pain Management in newborn Infants. Washigton:IASP, v. 19, 2011.

KAUR, M.H. *et al*. Study of pain response in neonates during venipucture with a view to analyse utility of tropical anaesthetic agente for alleviating pain. Medical Journal Armed Forces India, v. 75, p. 140, 2019.

KOSTAK, M.A. *et al*. Determination of methods used by the neonatal care unit nurses for management of procedural pain in Turkey. Journal of Pakistan Medical Association, v. 65, p. 526, 2015.

LAGO, P. et. al. Pain management in the neonatal intensive care unit: a national survey in Italy. Paediatric Anaesthesia, v. 15, p. 925, 2005.

LEMYRE, B. *et al*. How effective is tetracaine 4% gel before a venipuncture in reducing procedural pain in infants: a randomized double-blind placebo controlled trial. BMC Pediatrics, v. 7, 2007.

MARQUES, A.C.G. *et al*.. Avaliação da percepção de dor em recém-nascidos por profissionais de saúde de unidade neonatal. Cadernos de Saúde Coletiva, v. 27, p. 432, 2019.

PINHEIRO, I.O.*et al*. Pain evaluation in newborns using the neonatal facial activity coding scale during blood gases analysis. Revista Dor, v. 16, p. 176, 2015.

ROTHER, E.T. Revisão sistemática x revisão narrativa. Acta Paulista de Enfermagem, v. 20, p. 5, 2007.

SILVA,G. Avaliação manejo da dor neonatal: contribuições da enfermagem. Florianópolis, 2017, 217p. Dissertação (Mestrado Profissional) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SPOSITO, N.P.B. *et al*. Avaliação e manejo da dor em recém-nascidos internados unidade de terapia intensiva neonatal: estudo transversal. Revista Latino-Americana de Enfermagem, v. 25, e2931, 2017.

TAMEZ,R.N. & SILVA,M.J.P. Enfermagem na UTI Neonatal: assistência ao recém-nascido de alto risco. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

# CAPÍTULO 3

## RESVERATROL E SUA ATIVIDADE NEUROPROTETORA EM MODELOS ANIMAIS DE NEURODEGENERAÇÃO

*Palavras-chave: Resveratrol; Neuroproteção; Fitofarmacologia*

MARKLEY SILVA OLIVEIRA JUNIOR[1]
THAINA FRANCISCA DA SILVA[2,3]
THAISE SANTOS DE ASSIS[2,3]
SYNARA SOARES DOS SANTOS TELES[2,3]
WALKER NONATO OLIVEIRA[2,3]

1. Departamento de Neurologia, University Clinic Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Alemanha.
2. Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia.
3. Faculdade Nobre, Feira de Santana, Bahia.

## INTRODUÇÃO

A Neuroinflamação é um mecanismo de proteção e regulação comum em processos de quebra de homeostase no Sistema Nervoso Central (SNC), seu prolongamento é responsável pela resposta imunológica primaria de muitas doenças neurodegenerativas. Compreender esses mecanismos trouxeram alternativas mais eficazes a literatura científica na compreensão e desenvolvimento de intervenções farmacológicas mais eficazes, entretanto os meios alopáticos de intervenção a inflamação são em alguns momentos insuficientes para promover um bom prognóstico e reversão do processo inflamatório.

O Resveratrol (RSV) é um polifenol da classe dos estilbenos e, tem apresentado características anti-inflamatórias em diversos métodos de estudo, principalmente na capacidade de gerar neuroproteção em modelos de dano neuronal por indução inflamatória, diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e possibilitando a sobrevida neuronal através da modulação de neurotrofinas e atividade antioxidante. O RSV tem se mostrado promissor na reversão de morte neuronal, uma atividade importante diante da necessidade de novos fármacos capazes de promover uma sobrevida com mais qualidade a portadores de doenças neurodegenerativas. Dentro do que é relatado neste estudo o RSV possui características significativas para um uso futuro no tratamento dessas doenças, e através deste capítulo traremos os conceitos mais recentes dentro das vias bioquimicas neuroprotetoras reguladas pelo RSV em modelos murinos, dando ênfase aos mecanismos anti-inflamatórios desempenhados por esta molécula nestes modelos.

## MÉTODO

Esse trabalho foi elaborado a partir de uma revisão da literatura nas bases de dados Medline e Science Direct, no período entre Março e Junho de 2019. As palavras-chave utilizadas foram “Resveratrol” e “neuroproteção” e suas correspondentes em inglês, “Resveratrol” e “Neuroprotection”. Foram critérios de inclusão: artigos publicados que se referiam a relatos também de revisão sobre a relação da droga com a neuroproteção utilizando das referências como método de peneira para a busca de artigos voltados as palavras chaves selecionadas.

Somando-se todas as bases de dados, foram encontrados 105 artigos. Após a leitura dos títulos dos artigos, notou-se que alguns deles se repetiram nas diferentes bases e outros não preenchiam os critérios deste estudo. Foram selecionados 83 artigos para a leitura do resumo e excluídos os que não diziam respeito ao propósito deste estudo. Após a leitura dos resumos, foram selecionados 56 publicações que preencheram os critérios inicialmente propostos e que foram lidos na íntegra e utilizados para compor este capítulo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Sistema Nervoso Central: O cérebro e doenças que o afetam

O SNC a nível celular é composto basicamente por neurônios, e células da Glia, sendo um dos sistemas orgânicos do corpo humano que apresenta a maior diversidade celular (GOMES *et al.*,

2013). Os neurônios por serem células pós-mitóticas, bipolares são suscetíveis aos agregados de proteínas tóxicas (HAJIEVA, 2017). As células do SN são consideradas vulneráveis aos danos oxidativos, devido à alta concentração de substratos prontamente oxidáveis (LUCZAJ *et al*., 2014). O acúmulo de proteínas neuronais fortemente oxidadas e propensas à agregação, desempenham um importante papel no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, tais como a Doença de Parkinson e doença de Alzheimer (HAJIEVA, 2017).

A doença neurodegenerativa mais comum é o Alzheimer, causada por atrofia cerebral através da formação de placas senis, depósitos fibrilares amiloidais e acúmulo de proteína TAU que ocasiona a perda neuronal e consequentemente a ativação da glia e inflamação (SERENIKI, 2008; ASSOCIATION OF ALZHEIMER DISEASE, 2013). A segunda maior desordem neurodegenerativa é a doença de Parkinson, ocasionada devido a degeneração de células dopaminérgicas através de disfunção mitocondrial, e principalmente estresse oxidativo (DANTASA *et al*., 2008; SEGURA-AGUILAR, 2017).

Outra importante doença do SNC que causa neurodegeneração é a Esclerose Múltipla, uma patologia autoimune em que os linfócitos T que atravessam a barreira hematoencefálica, junto a micróglia, uma célula fagocítica especializada do SNC, agem contra a bainha de mielina, gerando uma resposta inflamatória que leva a desmielinização, lesionando axônios (MARIN *et al*., 2014). Por possuírem etiologia e patogênese ainda desconhecidas, as doenças neurodegenerativas, tornam o desenvolvimento de terapias eficazes, um grande desafio para a medicina moderna (STANZIONE & TROPEPI, 2010).

## Resveratrol como alternativa de tratamento a doenças no Sistema Nervoso Central

Os extratos naturais de plantas são candidatos promissores no tratamento e prevenção de doenças neurodegenerativas. Estudos sugerem que muitos desses produtos podem atenuar a lesão cerebral exibindo efeitos protetores contra danos cerebrais (MOHD *et al*., 2015; ABDO & WAHBY, 2016). Pesquisas na área medicamentosa tem voltado seu foco na ação neuroprotetora de compostos naturais presentes em plantas, e muitos desses componentes em exemplo: RSV e quercetina, tem exibido neuroproteção contra lesão isquêmica cerebral em estudos experimentais (WU *et al*., 2010). Dentre os vários compostos naturais propostos a reduzir a neurodegeneração, destacam-se os polifenóis e flavonoides que possuem dentre muitas atividades biológicas a ação antioxidante, está uma das primordiais no combate ao dano neuronal (ANSARI & KHODAGHOLI, 2013; MUTOH *et al*., 2016).

Há grandes evidências de que os alimentos ou bebidas ricas em polifenóis aumentam os níveis de antioxidantes na corrente sanguínea e assim, contribuírem para a prevenção de lesão celular induzida por stress oxidativo (HAJIEVA, 2017).

## Neuroinflamação na ativação glial em doenças neurodegenerativas

O encéfalo possui características consideradas peculiares que difere a resposta imunológica de outros tecidos, essas características o qualificam como um órgão com “privilégio imunológico”, por decorrência de vascularização com junções fechadas e da barreira hematoencefálica que impede

com que células imunológicas periféricas penetrem no SNC, assim como patógenos que por algum motivo permeiam o sangue periférico, porém, em alguns casos, como um processo neuroinflamatório, esse privilégio não é total e pode cair por terra, em lesões agudas ou degenerativas que por algum motivo ocorram no SNC a liberação de citocinas mediada pelos astrócitos, com morfologia reativa, assim como pela micróglia ativada também responsável por mediar funções pró-inflamatórias (Figura 3.1) ocasionam na desconformação da BHE, que por fim permite o recrutamento de leucócitos e outras células imune periféricas consumando a neuroinflamação (LIMA *et al*., 2007; SILVA, 2014).

Os mecanismos que desencadeiam uma neuroinflamação são diversos e complexos, e serão explicados de maneira mais aprofundada no corpo deste artigo.

A neuroinflamação é mediada pela indução inflamatória que culmina na alteração fenotípica glial, assim como produção de indutores inflamatórios, que resulta em inflamação neuronal e/ou neurodegeneração. O fluxo inflamatório de forma simplificada segue à alteração celular, produção de indutores inflamatórios e por consequência a degeneração neuronal (observe a figura 1, ponto 2, quadro cinza).

Os astrócitos (AST) e micróglias (MG) são células que fazem parte do SNC, os AST em condições fisiológicas, possuem uma morfologia ramificada, e é responsável por monitorar a comunicação neuronal, função sináptica e bioquímica de neurônios (LENT, 2010). Em caso de dano pode sofrer alterações em sua morfologia e função bioquímica, podendo conduzir os neurônios em processo degenerativo a uma morte programada com fins de promover homeostase, como observado por Bi *et al.* (2013), onde a secreção da molécula Icn2 (secreção mediada por astrócitos com morfologia reativa) é capaz de ativar processos autofágicos em neurônios em degeneração.

As MG são células multifuncionais e quando ativadas por estímulos moduladores, liberam citocinas e outras moléculas indutoras de inflamação e, em conjunto com os astrócitos mediam a resposta inflamatória no SNC (DOTY *et al*., 2015), durante o processo inflamatório assume um perfil chamado M1, responsável pela produção de citocinas e interleucinas pró-inflamatórias Interleucina 1 *beta* (IL-1$\beta$), fator de necrose tumoral (TNF-$\alpha$) e interferon gama (INF-$\gamma$), sendo este fenótipo o principal responsável pela alta produção de Oxido Nítrico (NO) que em excesso assume o papel de protagonista da degeneração neuronal oxidativa (HAN & MOOK-JUNG., 2014).

Outro perfil conhecido como M2 é o mais observado em situações de homeostase, e caracteriza um processo não inflamatório, através da transcrição de citocinas anti-inflamatórias: Interleucina 10 (IL-10) e Arginase (ORIHUELA *et al*., 2016; BISPO *et al*., 2017).O recrutamento de células do sangue periférico (neutrófilos, monócitos e linfócitos T) é mediado principalmente pela micróglia, responsável pela modulação de *alfa* intégrinas 4 ($\alpha$4) e seléctinas como a proteína de adesão vascular de células (VCAM) que possibilitam a diapedese destas células periféricas para o SNC (BECHER *et al*., 2017), desencadeando uma resposta inflamatória mais acentuada.

Na Esclerose múltipla duas células recrutadas para o SNC e que são importantes para que o processo inflamatório se estabeleça, são: o linfócito T CD8 e, o linfócito B, que junto a micróglia mediam o dano a mielina e axônios respectivamente (YSHII *et al*., 2015).

Estudos mostram que mutações genéticas também podem contribuir no processo de degeneração neuronal, um exemplo disso seria a mutação de um gene que codifica a proteína TREM2 que se encontra na membrana plasmática das micróglias e que tem como função regular a

remoção de detritos celulares, pesquisadores acreditam que por decorrência dessa mutação a proteína é danificada antes de ser expressa na superfície da membrana, e assim, faz com que ocorra uma diminuição significativa na remoção dos detritos celulares, que irão se acumular no cérebro dando início a um processo inflamatório (KLEINBERGER *et al.*, 2014).

Outro exemplo seria uma mutação no gene C9ORF72 que pode se transformar em uma proteína não conformada e a partir disso ocasionar estresse às células, que irão produzir mais substâncias tóxicas o que consequentemente irá levar a morte neuronal (SELVAJARA *et al.*, 2018).

Por fim o que caracteriza uma degeneração é o processo chamado de cicatriz glial, onde o neurônio em processo inflamatório recruta as micróglias para fagocitarem seu corpo celular (DOTY *et al.*, 2015). Durante o processo de fagocitose o fator de necrose tumoral (TNF ou FNT), atrai por quimiotaxia os astrócitos à região de fagocitose, e após esse processo os astrócitos iniciam a produção de fibras de colágeno no local, e assim a cicatriz glial é concluída e se finaliza a degeneração, tornando aquela região infértil a novos neurônios (SILVA, 2014).

## O Resveratrol como alternativa doenças no Sistema Nervoso Central: Mecanismos moleculares e de diferenciação celular no reparo do cérebro

RSV de descrição molecular 3,5,4-trihidroxiestilbeno é um polifenol que possui duas conformações espaciais, uma CIS e outra TRANS é sintetizado naturalmente em diversas espécies de plantas que pode ser encontrado numa variedade de alimentos e bebidas, incluindo as uvas vermelhas, amendoins, e vinho tinto (KORONOWSKI *et al.*, 2015; SATO *et al.*, 2013). Os níveis mais elevados encontram-se em uvas e vinho tinto, cerca de 0,16 a 3,54 μg/g e 0,1 a 14,3 mg/L (HAJIEVA, 2017; BONSACK *et al.*, 2017).

O RSV é um metabólito secundário pertencente a classe dos “Estilbenos”, que são compostos polifenólicos produzido por plantas em resposta a uma variedade de fatores: exposição a stress bióticos a abióticos, como lesões físicas e, infecção fúngica/bacteriana, e radiação (ANSARI & KHODAGHOLI, 2013; KENNEDY *et al.*, 2010). Considerado um agente bioativo com potencial benéfico para a saúde, o RSV é reportado por ter um grande número de propriedades farmacológicas, que incluem ação anticancerígena, antioxidante, cardioprotetora e anti-inflamatória, dentre outras (KHALATBARY, 2014).

A ingestão de RSV tem demonstrado efeitos protetores em animais e seres humanos (WIGHTMAN *et al.*, 2014). O potencial terapêutico de RSV tem sido amplamente investigado em muitas condições patológicas (KORONOWSKI *et al.*, 2015), pesquisas em animais mostraram melhorias na proteção da função cognitiva e reversão de déficits cognitivos explicados pelo efeito positivo e regulatório do fluxo sanguíneo cerebral exercido pelo RSV(WIGHTMAN *et al.*, 2014). Alguns estudos farmacológicos constataram a ação do RSV na agregação antiplaquetária, sua ação antioxidante permite a inibição do ácido araquidônico e a formação de metabólitos, desempenhando assim um importante papel na quimioprevenção de tumores (GUO *et al.*, 2018).

Os mecanismos de neuroproteção do RSV não são totalmente compreendidos, (KHALATBARY, 2014) sendo necessários estudos mais aprofundados para influir uma maior compreensão, sendo assim o objetivo desse artigo é mediar através dos achados deste trabalho para a comunidade acadêmica e científica a importância dos produtos naturais na proteção neuronal

abrangendo para a importância do tratamento de doenças neurodegenerativas (DNGs) e abordar a importância imunológica do RSV na neuroproteção (veja a Tabela 3.1 para mais detalhes sobre modelos experimentais, concentrações e respectivas atividades biológicas do RSV).

O potencial terapêutico de RSV tem sido amplamente investigado em muitas condições patológicas (KORONOWSKI *et al*., 2015). Este polifenol, pode exibir características citoprotetoras em muitos modelos animais de doenças neurológicas, e várias linhas de pesquisas indicam que o resveratrol pode exercer neuroproteção em situações de: isquemia cerebral, convulsão, lesão traumática do cérebro, trauma e isquemia na medula espinal, e outros padrões de dano/sintomatologia correspondente a DNGs como Alzheimer e Parkinson (WU *et al*., 2010; KHALATBARY, 2014; ZHANG *et al*., 2017). Estudos têm mostrado que o mecanismo da ação neuroprotetora do RSV pode ser atribuído à suas propriedades antioxidante, anti-inflamatórias e antiapoptóticas (KHALATBARY, 2014).

**Tabela 3.1.** Produção cientifica do Resveratrol em modelos de neuroinflamação e, bioatividades relatadas

| Atividade | Concentração | Autores |
|---|---|---|
| Garantiu sobrevivência neuronal, diminuindo a apoptose celular | 10, 25 e 50 uM | Zamin *et al*., 2016 |
| Reduziu a neurotoxidade contra proteína *beta*-amiloide. Promoveu ação anti-apoptótica. | 20uM | Han, *et al*., 2004 |
| Ação anti-inflamatoria, antioxidante, reduzindo interleucinas pro inflamatórias e proliferação de microglial | 15-60uM | Zhang *et al*., 2010 |
| Ação antiinflamatória, suprimindo a produção de citocinas pró- inflamatórias e aumentando a quantidade de células tcd4 não linfócito B positiva.. | 10 mg/kg a 44 mg/kg | Imler T. Je Petro, T. 2008 |
| Agiu promovendo a autofagia e, ação antiapoptótica. | 20 uM | Lin, K.T *et al*., 2014 |
| Ação antioxidante diminuindo os níveis de Xantina oxidase, e mais eficaz contra outras espécies reativas de oxigênio que a metilprednisolona. | 100 mg/kg | Ates et. Al 2006 |
| Aumento de plasticidade neuronal e redução na quantidade de micróglias | 100 mg/kg | Cai *et al*., 2018 |
| Ação anti-inflamatória através da ativação da SIRT1, modulando resposta microglial e astrocitária. | 100 mg/kg e 250 mg/kg | Kelly et. al., 2012 |
| Ação antiinflamatória e antiapoptótica, inibindo a via NLRP3 inflamossoma, consequentemente diminuindo a produção de citocinas pro inflamatórias | 60 ou 90 mg/kg | Zhang et. al., 2017 |

## Resveratrol como neuroprotetor em modelos animais de doença de Alzheimer

Considerando apenas os estudos experimentais realizados em murinos evidenciando a ação neuroprotetora do RSV, foi observado que o mesmo age em diferentes segmentos promovendo a viabilidade neuronal. Em experimentos onde neurônios foram expostos a um dano inflamatório induzido por proteínas *beta*-amiloides o polifenol promoveu ação anti-apoptótica através da

ativação da via de sinalização Fosfatidil-inositol-3-fosfato quinase (PI3-K), que gera a estimulação da proteína quinase B (AKT), resultando em neuroproteção a neurônios por vias quinase, atividade está exercida por muitos alopáticos que são utilizados no tratamento de DNGs (HAN *et al*., 2004).

O RSV também agiu na mesma via de sinalização, PI3-K, em um estudo onde foi utilizada cultura de células que foram submetidas à privação de glicose e oxigênio, consequentemente gerando um modelo *in vitro* de isquemia cerebral, as células foram submetidas ao tratamento com RSV em diferentes concentrações, reduzindo a morte celular, o RSV além de ativar a via PI3-K, ativou também a via Proteino-quinase ativada por mitogéno (MAPK ou ERK), promovendo a sobrevivência das células (IBRAHIM *et al*., 2013).

## Resveratrol e sua atividade anti-inflamatória em modelos animais de dano da substância branca, desmielinização e hemorragia

Em um modelo experimental de lesão de medula espinal em ratos, o RSV mostrou atividade antioxidante, promovendo uma neuroproteção adicional sobre a peroxidação lipídica gerada pelo modelo de lesão (ATES *et al*., 2006).O polifenol apresentou efeitos neuroprotetores com a diminuição de produção de citocinas inflamatórias como interleucina 6 (IL-6), Interleucina 12 (IL-12) e interleucina 23 (IL-23), produzidas por micróglias e células dendríticas que estão associadas com a esclerose múltipla (IMLER & PETRO., 2009). Em outro estudo o RSV promoveu proteção sobre os neurônios de dopamina através da inibição da ativação de micróglias e redução de espécies reativas de oxigênio (ZHANG *et al*., 2010).

Em modelos de esclerose múltipla (EM) em ratos, o RSV mostrou ser eficaz, reduzindo o processo inflamatório, através da ativação da Sirtuina 1 (SIRT 1) (FONSECA-KELLY *et al*., 2012). De acordo com Lin *et al.* (2014), o RSV impediu a neurotoxicidade em células dopaminérgicas induzida por retenona, através da modulação da heme oxidase-1. Koronowski *et al.* (2015) mostraram em seus experimentos que o RSV possui ação neuroprotetora, reduzindo lesão cerebral isquêmica, quando administrado o polifenol antes do acidente vascular, esse efeito neuroprotetor se dá através da estimulação da SIRT1, apresentando proteção primaria ao dano, um efeito importante na prevenção e acidente vascular isquêmico.

O RSV também atenuou uma lesão cerebral após hemorragia subaracnoide, inibindo a via inflamossoma Familia de pirinas domínio 3 (NLRP3). Suprimindo a ativação de micróglias e infiltração de neutrófilos, reduzindo a apoptose, edema e consequentemente o comprometimento neurológico (ZHANG *et al*., 2017). Também foi capaz de atenuar o déficit neurológico e neuroinflamatório proveniente da hemorragia intracerebral. O número de células neuronais aumentou, e a quantidade de micróglias reativas diminuiu, amenizando o processo inflamatório após o tratamento (CAI *et al*., 2018).

## Mecanismos neuroprotetores do Resveratrol em modelos animais da doença de Alzheimer

O RSV é capaz de ativar vias de sinalização relacionadas a citoproteção, atividade anti-inflamatória e antioxidante. Ter uma visão mais clara dessas vias biológicas mediadas por RSV, é um grande desafio para a farmacologia moderna, no entanto alguns destas atividades já são muito

bem detalhadas na literatura. Das muitas atividades moleculares mediadas pelo RSV, atividades em via quinase são as mais relatadas, em exemplo a ação na via PI3-k e MAPK. A via PI3-k é formada por duas subunidades: p85 (regulatória) e p110 (catalítica), o in-link das duas subunidades criam a forma ativada, responsável pela regulação de vários processos celulares como proliferação, crescimento e apoptose (ZAMIN *et al*., 2006).

Através da sua atividade enzimática, a PI3-k acarreta na ativação e fosforilação da proteína Akt, , que está envolvida com a regulação da proliferação e sobrevivência celular; a Akt/PKB possui também um papel importante na proteção de várias células neurais e na fosforilação e inativação de GSK-3$\beta$, uma quinase que possui inúmeros substratos que podem comprometer o sistema nervoso central causando diversas desordens, uma delas é o acúmulo de proteína TAU, mecanismo envolvido na patogênese da doença de Alzheimer (ZAMIN *et al*., 2006; BHAT *et al*., 2004; HAN *et al*., 2004) um processo desregulado que acarrete com a alta produção de Glicogênio síntase 3 quinase *beta* (GSK3$\beta$) pode gerar desregulação da enzima *beta*-secretase 1 (BACE-1), que passa a clivar TAU e proteína $\beta$-amiloide em excesso, gerando oligômeros dessas proteínas, que são responsáveis pela ativação astrocitaria e microglial, desencadeando um processo neuroinflamatório, este é o principal mecanismo inflamatório da doença de Alzheimer (LY *et al*., 2013; CHINCHALONGPORN *et al*., 2018).

## Mecanismos gerais de neuroproteção e atividade anti-neuroinflamatória do Resveratrol

O RSV também age na ativação da via MAPK, que abrange diferentes tipos de proteínas sinalizadoras, ela leva a fosforilação e ativação da proteína ERK1/2 (Quinase regulada por sinais extracelulares), promovendo efeito anti-apoptótico e sobrevivência neural após a isquemia (ZAMIN *et al*., 2006).

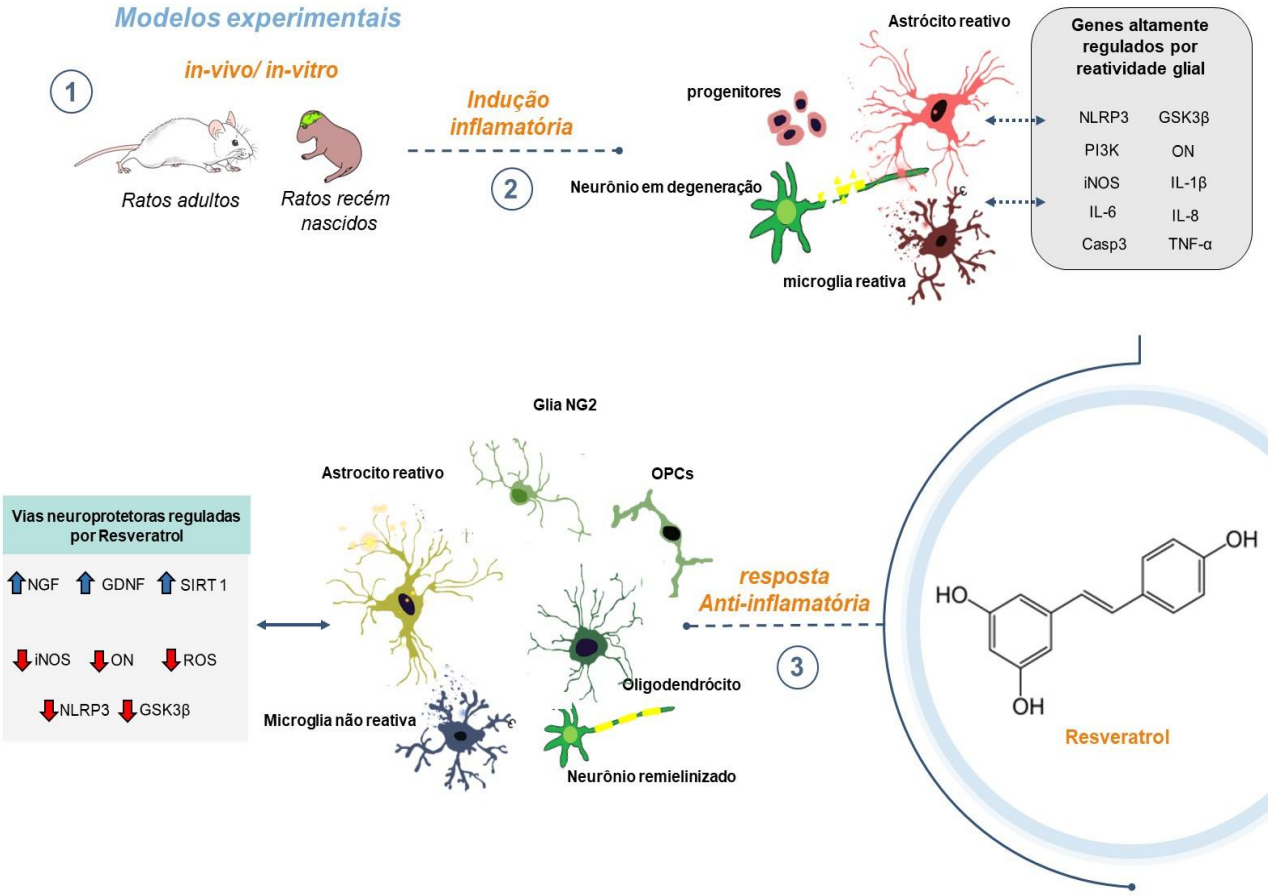
Estudos mostraram a ação do RSV sobre a diminuição de células iba-1 positivas (marcador estrutural de micróglia), relacionados a supressão da produção de TNF-$\alpha$, Interleucina 1 (IL-1), IL-6 e IL-23, citocinas produzidas pelas micróglias em processos pró-inflamatórios (ZHANG *et al*., 2010; IMLER & PETRO., 2009). O RSV foi capaz de diminuir a produção de NADPH-redutase enzima produtora de espécies reativas de oxigênio, que em grandes quantidades pode provocar danos oxidativos, a neuroproteção desempenhada nesta resposta está relacionada a estimulação da proteína quinase C (PKC) (COSENTINO-GOMES *et al*., 2012; WU *et al*., 2010) reguladora negativa da NADPH-redutase (DAS *et al*., 2016).

A autofagia é um mecanismo intracelular responsável pela degradação e reciclagem de proteínas danificadas, atua contra apoptose, degradando mitocôndrias danificadas pelo complexo mitocondrial I que impede a liberação de moléculas apoptóticas (LIN *et al*., 2014). Qualquer disfunção nesse processo pode gerar uma degeneração neuronal (LIN *et al*., 2014). O RSV age abolindo um inibidor autofágico, promovendo a expressão de heme oxidase 1 (HO-1) que exerce efeitos na sobrevivência celular, e que consequentemente aumenta o fluxo autofágico (LIN *et al*., 2014).

RSV é capaz de modular a SIRT 1, que age sobre histonas e não histonas regulando muitos processos biológicos, desempenhando propriedades neuroprotetoras em situações patológicas, RSV

foi capaz de gerar baixa modulação de: Fator de indução de Hipóxia 1 (HIF-1), proliferador de peroxissomo *alfa*-1 (PGC1 *alfa*) e receptor de NK (p58), moduladores chave da resposta inflamatória microglial e astrocitaria no SNC (KORONOWSKI *et al.*, 2015), também sendo capaz de modular negativamente a produção de fatores pró-apoptóticos como Fator de supressão tumoral (p53), Fator de Linfoma de Célula B 2 (BCL-2), e Anidrase carbônica 1 (CA1) (SINGH *et al.*, 2014; KIZMAZOGLU *et al.*, 2015), fatores estes muito relacionados a falha de desregulação mitocondrial e produção de caspase-3 e caspase-8, importante fator de transcrição de citocinas inflamatórias como a Interleucina 1 *beta* (IL-1*β*) e formação do fator proteico de inflamossoma NLRP3 (Figura 3.1) (GURUNG e KANNEGANTI., 2015; KRAJEWSKA *et al.*, 2011).

**Figura 3.1.** Mecanismos neuroprotetores e anti-inflamatórios do RSV promovedores de neuroregeneração




**Legenda:** Os mecanismos de neuroproteção do resveratrol foram observados principalmente em modelos animais de dano ou inflamação cerebral (1), principalmente dada a sua capacidade de prevenir a reatividade e alteração do fenótipo glial reativo assim como de redução de marcadores inflamatórios, que estendem essa reatividade, e promovem o dano (2). Resveratrol atua principalmente na redução ou bloqueio da transcrição e produção de marcadores inflamatórios (3-setas em vermelho), com aumento na produção de marcadores positivos para neuroregeneração, resultando em recuperação de células neuronais, progenitores de oligodendrócitos (OPCs), e reorganização de fenótipos não inflamatórios de astrócitos (ainda reativos) e micróglias, chegando assim à homeostase. **Fonte:** Adaptado de LIN *et al.*, 2014; MISAWA *et al.*, 2017; IMLER e PETRO, 2009; ZHANG *et al.*, 2010; BI *et al.*, 2013; IRIHUELE *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2017; GUO *et al.*, 2018.

Desta forma é possível concluir que a ação anti-inflamatória e neuroprotetora do RSV esteja restrita principalmente a sua capacidade de reverter processos apoptóticos. Sua ação na modulação e produção negativa de fatores como caspase-3 e 8 e por consequência NLRP-3, sugerem que o RSV possa ser capaz e regular a via de inflamassoma, via essa que tem se mostrado responsável pela regulação da maioria dos processos inflamatórios que acometem o organismo de mamíferos (HANEKLAUS & O'NEILL., 2015) e, que tem se apresentado como a principal via de processos inflamatórios agudos e crônicos em DNGs (SONG *et al.*, 2017).

Por este motivo uma hipótese de proteção neuronal e astrocitaria gerada por RSV em modelos de DNGs esteja restrita a essa característica de intervir na via de inflamossoma NLRP3, culminando numa menor produção de citocinas pró-inflamatórias, circunstancia observada por muitos autores nos últimos 5 anos (LIN *et al.*, 2014; MISAWA *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2010), sendo assim podemos inferir que o RSV possui uma capacidade promissora em criar um ciclo de regeneração neuronal (Figura 3.1), devolvendo ao SNC atingido por uma inflamação a possibilidade de homeostase.

## CONCLUSÃO

De fato RSV desempenha uma eficácia na atividade neuroprotetora em modelos animais. Com alto poder de neuroproteção, promovendo viabilidade neuronal de várias formas. Este polifenol atua em diferentes vias, e seu poder é evidenciado através de sua ação anti-apoptótica, anti-inflamatória e antioxidante, assegurando a sobrevivência neuronal.

O RSV é capaz de agir na via PI3-k, acarretando na ativação e fosforilação da Akt e na via de sinalização MAPK, promovendo ação anti-apoptótica. O RSV também é capaz de agir na via inflamossoma NLRP3, inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, prevenindo apoptose, degeneração e morte neuronal, além de ser um poderoso antioxidante, diferentes estudos tem demonstrado sua ação na redução de espécies reativas de oxigênio.

Diversos estudos são unânimes em suas considerações, afirmando a neuroproteção do RSV, tendo em vista, que em situações como traumas cerebrais e medulares, que originam grande quantidade de espécies reativas, doenças neurodegenerativas, que promove alto número de morte neuronal, e diversos processos inflamatórios que culminam no aumento de produção de células que estão envolvidas com a liberação de substancias inflamatórias, o RSV é um grande aliado, modulando respostas que promovem neuroproteção.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ABDOU, H.M. & WAHBY M. M. Neuroprotection of Grape Seed Extract and Pyridoxine against Triton-Induced Neurotoxicity. Oxidative Medicine Cells and Longevity, v. 1, p, 8, 2016.

ALZHEIMER ASSOCIATION, Alzheimer's disease facts and figures, 2013. Alzheimer's Dement. <https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf>Acesso em 05 de Jun. 2019.

ANSARI, N. & KHODAGHOLI, F. Natural products as promising drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease: molecular mechanism aspect. Current Neuropharmacology, v. 11.4, p. 414. 2013.

ATES, O. *et al*. Effects of resveratrol and methylprednisolone on biochemical, neurobehavioral and histopathological recovery after experimental spinal cord injury. Acta Pharmacology Sin, v. 27.10, p. 1317, 2006.

BECHER, B. Cytokine networks in neuroinflammation. Nature Reviews in Immunology. v. 17.1 , p. 49, 2017.

BHAT, R.V. *et al*. Glycogen synthase kinase 3: A drug target for CNS therapies. Journal Neurochemistry. v. 89.6, p. 1313, 2004.

BI, F. *et al*. Reactive astrocytes secrete lcn2 to promote neuron death. Proceedings National Academy of Science, v. 110.10, p. 4069, 2013.

BISPO, A. *et al*. The flavonoid rutin modulates microglial / macrophage activation to a CD150 / CD206 M2 phenotype. Chemico-Biological Interactions, v. 274, p. 89, 2017.

BONSACK, F. *et al*. Resveratrol Attenuates Neurodegeneration and Improves Neurological Outcomes after Intracerebral Hemorrhage in Mice. Frontiers in Cell Neuroscience. v. 1, p. 1, 2017.

CAI, J.I.A.C. *et al*. Resveratrol attenuates neurological deficit and neuroinflammation following intracerebral hemorrhage. v. 4131, p. 8, 2018.

CHINCHALONGPORN, V. *et al*. Melatonin ameliorates A$\beta$42-induced alteration of $\beta$APP-processing secretases via the melatonin receptor through the Pin1/GSK3$\beta$/NF-κB pathway in SH-SY5Y cells. Journal Pineal Res, p. 1, 2018.

COSENTINO-GOMES, D. *et al*. Cell signaling through protein kinase C oxidation and activation. International Journal Molecular Science, v. 13.9, p.10697, 2012.

DANTASA, A.M.C. *et al*. Vitaminas antioxidantes na Doença de Parkinson. Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, v. 11, p. 1, 2008.

DAS, J. *et al*. Polyphenol Compounds and PKC Signaling. Joydip, v. 137.32, p. 10160, 2016.

DOTY, K.R. *et al*. The role of the immune system in neurodegenerative disorders: adaptive or maladaptive, v. 18.1617, p. 155, 2015.

FONSECA-KELLY, Z. *et al*. Resveratrol neuroprotection in a chronic mouse model of multiple sclerosis. Frontiers in Neurology. v. 3, p.1, 2012.

GOMES, F.C.A, *et al*. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. Estudos Avançados.; v. 27.77, p. 61, 2013.

GUO, D. *et al*. Resveratrol protects early brain injury after subarachnoid hemorrhage by activating autophagy and inhibiting apoptosis mediated by the Akt/mTOR pathway. Neuroreport. v. 29.5, p. 368, 2018.

GURUNG, P. & KANNEGANTI, T. Mini-review: Novel Roles for Caspase-8 in IL-1 b and Inflammasome Regulation. The American Journal of Pathology. v. 185.1, p. 1, 2015.

HAJIEVA, P. The effect of polyphenols on protein degradation pathways: Implications for neuroprotection. Molecules. v. 22, p. 1, 2017.

HAN, S-H. & MOOK-JUNG, I. Diverse molecular targets for therapeutic strategies in Alzheimer's disease. Journal Korean Medical Science. v. 29.7, p. 893, 2014.

HAN, Y-S. *et al*. Neuroprotective effects of resveratrol against $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons: involvement of protein kinase C. British Journal of Pharmacology. v. 141, p. 997, 2004

HANEKLAUS, M. & O'NEILL, L.A.J. NLRP3 at the interface of metabolism and inflammation. Immunology Review. v. 265.1, p. 53, 2015.

IBRAHIM, M.A. *et al*. Significance of endangered and threatened plant natural products in the control of human disease. Proc Natl Acad Sci. v.110.42, p.16832, 2013.

IMLER, T.J. & PETRO T.M. Decreased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis during resveratrol administration is associated with increased IL-17+IL-10+T cells, CD4-IFN-γ+cells, and decreased macrophage IL-6 expression. International Immunopharmacology, v. 9.1, p. 134, 2009.

KENNEDY, D.O. *et al*. Effects of resveratrol on cerebral blood flow variables and cognitive performance in humans: a double-blind, placebo-controlled , crossover. Am Journal of Clinical Nutrition. v. 91.5, p. 1590, 2010.

KHALATBARY, A.R. Natural polyphenols and spinal cord injury. Iran Biomedical Journal. v. 18.3, p. 120, 2014.

KIZMAZOGLU, C. *et al*. Neuroprotective Effect of Resveratrol on Acute Brain Ischemia Reperfusion Injury by Measuring Annexin V, p53 , Bcl-2 Levels in Rats. Journal of Korean Neurosurgical, v. 58.6, p. 508, 2015.

KLEINBERGER, G. *et al*. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. Science Translational Medicine, v. 6.243, p. 1, 2014.

KORONOWSKI, K.B. *et al*. Resveratrol Preconditioning Induces a Novel Extended Window of Ischemic Tolerance in the Mouse Brain. Stroke. v. 46.8p. 2293, 2015.

KRAJEWSKA, M. *et al*. Neuronal deletion of caspase 8 protects against brain injury in mouse models of controlled cortical impact and kainic acid-induced excitotoxicity. PLoS One. v. 6.9, p. 1, 2011.

LENT, R., editor. Cem Bilhões de neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência. 2a edição. Editora Atheneu, organizador. Rio de Janeiro; p. 848, 2010.

LIMA, R.R. *et al*. Inflamação em doenças neurodegenerativas. Revista Para Medicos. v. 21.2, p. 29, 2007.

LIN, C.J. *et al*. Resveratrol protects astrocytes against traumatic brain injury through inhibiting apoptotic and autophagic cell death. Cell Death Disease. v. 5.3, p. 1, 2014.

LIN, T.K. *et al*. Resveratrol partially prevents rotenone-induced neurotoxicity in dopaminergic SH-SY5Y cells through induction of heme oxygenase-1 dependent autophagy. International Journal of Molecular Science, v. 15.1, p. 1625, 2014.

LUCZAJ, W. *et al*. Sweet grass protection against oxidative stress formation in the rat brain. Metabolic Brain Disease, v. 30.1, p. 183, 2014.

LY, P.T.T. *et al*. Inhibition of GSK3 b -mediated BACE1 expression reduces Alzheimer-associated phenotypes Findings, v. 123.1 p. 224, 2013.

MARÍN, N. *et al*. Anti-myelin antibodies play an important role in the susceptibility to develop proteolipid protein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. Clinical Experimental Immunology.; v. 175.2, p. 202, 2014.

MISAWA, T. *et al*. Resveratrol inhibits the acetylated $\alpha$-tubulin-mediated assembly of the NLRP3-inflammasome. International Immunology. v. 27.9, p. 425, 2015.

MOHD, S.N.S. *et al*. Kainic acid-induced excitotoxicity experimental model: Protective merits of natural products and plant extracts. Evidence-based Complement Alternative Medicine. v. 2015, p. 15, 2015.

MUTOH, T. *et al*. Therapeutic Potential of Natural Product-Based Oral Nanomedicines for Stroke Prevention. Journal of Medical Food. v. 19.6, p. 521, 2016.

ORIHUELA, R. *et al*. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. British Journal of Pharmacology, v. 173.4, p. 649, 2016.

SATO, F. *et al*. Resveratrol exacerbates both autoimmune and viral models of multiple sclerosis. Am Journal of Pathology. v. 183.5 p. 1390, 2013.

SEGURA-AGUILAR, J. Aminochrome as preclinical model for Parkinson's disease. v. 8, p. 28. 2017.

SELVARAJ, B.T. *et al*. C9ORF72 repeat expansion causes vulnerability of motor neurons to Ca2+-permeable AMPA receptor-mediated excitotoxicity. Nature Communications. v. 9.1, p. 347 2018.

SERENIKI, A.V. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicose farmacológicos. Revista de Psiquiatria v. 30, p. 100, 2008.

SILVA, D.J.D. A. Neuroinflamação Na Doença De Parkinson: Avaliação De Citocinas Induzidas Via Toll Like Receptors Em Células Do Sangue Periférico [tese]. Universidade Federal de Goias; 2014.

SINGH, N. *et al*. Neuroprotective Properties and Mechanisms of Resveratrol in Experimental Cerebral Stroke Models BT - ACS Chemical Neuroscience. ACS Chemical Neuroscience, v. 4, p. 1151, 2013.

SONG, L. *et al*. NLRP3 Inflammasome in Neurological Diseases, from Functions to Therapies. Frontier in Cell Neuroscience. v. 11, p. 1, 2017.

STANZIONE, P. & TROPEPI, D. Drugs and clinical trials in neurodegenerative diseases. Ann Ist Super Sanità. v. 46.1, p. 66, 2010.

WIGHTMAN, E.L. *et al*. Effects of resveratrol alone or in combination with piperine on cerebral blood flow parameters and cognitive performance in human subjects: A randomised, double-blind, placebo-

controlled, cross-over investigation. British Journal of Nutrition, v. 112.2, p. 203, 2014.

WU, P. *et al*. Natural compounds from traditional medicinal herbs in the treatment of cerebral ischemia/reperfusion injury. Acta Pharmacology Sin. v. 31.12, p. 1523, 2010.

YSHII, L. *et al.* Neurons and T cells: Understanding this interaction for inflammatory neurological diseases. European Journal of Immunology. v. 45.10, p. 2712, 2015.

ZAMIN, L.L. efeito neuroprotetor fazer resveratrol em um modelo em vitro de isquemia cerebral: Envolvimento DAS VIAS PI3-K e MAPK. [tese], Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2006.

ZHANG, F. *et al.* Resveratrol Protects Dopamine Neurons Against Lipopolysaccharide-Induced Neurotoxicity through Its Anti-Inflammatory Actions. Molecular Pharmacology. v. 78.3, p. 466, 2010.

ZHANG, X. *et al.* Resveratrol attenuates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage via inhibition of NLRP3 inflammasome activation. Frontiers in Neuroscience. v. 11, p. 1, 2017.

# CAPÍTULO 4

## TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA EM PACIENTES COM DOENÇAS DE DEPÓSITO LISOSSÔMICO

*Palavras-chave: Terapia de Reposição Enzimática; Doenças por Armazenamento dos Lisossomos; Erros Inatos do Metabolismo*

EMERSON DE SANTANA SANTOS[1]
JÚLIA SOUZA DINIZ[2]
BEATRIZ LUDUVICE SOARES[2]
ANA CARINA FALETA DE AQUINO SILVA[2]
ANTÔNIO VINÍCIUS PIMENTEL LIMA[2]
GABRIELA NEVES COSTA LEÃO[2]
GABRIELLE CONCEIÇÃO SILVEIRA SANTANA[2]
JAYANNE LARISSA CAVALCANTE BARBOSA[2]
JOÃO MARCOS MENDES SANTOS[2]
JOÃO PAULO DIAS COSTA[2]
LUCAS REIS OLIVEIRA[2]
POLLYANNA ANDREZA RIBEIRO DOS SANTOS[2]
SILAS ZAMBALDI GARCIA[2]
VINÍCIUS BARBOSA DOS SANTOS SALES[2]

1. Médico Geneticista, Especialista em Genética Médica pela Sociedade Brasileira de Genética Médica, Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Sergipe e Professor Efetivo do Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe, Campus Prof. Antônio Garcia Filho.
2. Discente do Curso de Medicina da Universidade Federal de Sergipe.

## INTRODUÇÃO

Doenças de depósito lisossômico (DDL), também conhecidas como doenças por armazenamento dos lisossomos, são um grupo de doenças caracterizadas por defeitos enzimáticos, que causam o acúmulo de um substrato específico. Todas elas possuem uma característica em comum, a presença de substrato não degradado no interior dos lisossomos. O termo DDL surgiu primeiramente em 1965 por Hers ao descrever a fisiopatologia da doença de Pompe. O tipo de substrato e o local de acúmulo dependem da variante patogênica que desencadeou a doença. São descritas na literatura aproximadamente 51 doenças, que possuem incidência combinadas entre 1:4000 e 1:9000 nascidos vivos. No Brasil, há uma frequência relativa de 59,8% entre pacientes diagnosticados com erros inatos do metabolismo (EIM). Há uma maior prevalência das doenças que acometem o sistema nervoso central (SNC), representando dois terços das DDL (ANDRADE 2017; BITENCOURT, 2013).

Os lisossomos estão presentes em todas as células do organismo e são responsáveis por descartar e reciclar moléculas. Foram descritos inicialmente por De Duve em 1955. Atualmente são descritas 50 enzimas lisossomais, produzidas no retículo endoplasmático rugoso, que podem estar associadas a componentes proteicos para realização de sua função (ALROY & LYONS, 2014; ANDRADE, 2017).

As DDL podem ser originadas de duas formas: genética e adquirida. A forma genética tem origem a partir de variantes patogênicas dos genes, uma mesma doença pode possuir diferentes mutações no mesmo gene, traduzindo uma variabilidade no espectro de gravidade e sintomas. As formas adquiridas estão associadas a ingestão de plantas e ao uso de drogas, como amiodarona (ALROY & LYONS, 2014).

O tratamento das DDL pode ser feito através de: suporte clínico, terapia de redução do substrato, transplante de medula óssea e terapia de reposição enzimática (TRE). Essa última tem sido considerada um tratamento promissor, apesar de não ser bem sucedida para outros grupos de doenças genéticas, especificamente nas DDL tem sido possível direciona-la para as células-alvos corretas. Ela consiste na administração intravenosa da enzima que está ausente (LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013). Seu uso é realizado nas seguintes patologias: Doença de Pompe, Doença de Fabry, Doença de Gaucher tipo I, Deficiência de lipase ácida lisossomal, Lipofuscinose ceróide neuronal tipo II (LCN2) e Mucopolissacaridose tipos I, II, IV A, VI e VII (POSWAR *et al.*, 2019).

Assim sendo, a presente revisão integrativa irá analisar o uso de terapias de reposição enzimática em pacientes com doenças de depósito lisossômico, avaliando as enzimas já aprovadas, suas vantagens e desvantagens.

## MÉTODO

Para orientar a busca sistematizada da literatura, foi criada uma pergunta norteadora: “Quais os benefícios da terapia de reposição enzimática em pacientes com doenças de depósito lisossômico?”. A questão da pesquisa foi formulada utilizando-se o acrônimo PICOT, no qual o P = população, I = intervenção, C = grupo controle, O = desfecho e T = tipos de estudo. Aplicando-

se o acrônimo, temos: P = pacientes com doenças de depósito lisossômico, I = terapia de reposição enzimática, C = pacientes com doenças de depósito lisossômico submetidos a outros tipos de tratamento, O = resultados obtidos e T = estudos secundários.

Nesse estudo foram incluídos as revisões, revisões sistemáticas e metanálises que respondiam à pergunta norteadora. Foram aceitos artigos escritos nos últimos 10 anos, disponíveis em inglês ou português, que relatam a aplicação da terapia de reposição enzimática em pacientes com doenças de depósito lisossômico. Os artigos que tratavam de uma doença específica do grupo das doenças de depósito não foram aceitos. Foram excluídos os artigos que analisavam a terapia de reposição enzimática juntamente com outras formas de tratamento e/ ou que utilizavam como grupo controle pacientes com outras doenças genéticas.

A busca dos artigos da presente revisão integrativa foi realizada nas seguintes bases de dados: MEDILINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*/Pubmed), Scopus, Science Direct e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO).

A estratégia de busca foi delimitada através dos termos DeCS (Descritores em Ciências da Saúde): Doenças por Armazenamento dos Lisossomos e Terapia de Reposição de Enzimas; e dos termos MeSH (Medical Subject Headings): *Lysosomal Storage Diseases* e *Enzyme Replacement Therapy*. As palavras chave foram combinadas com o operador booleano AND.

A seleção dos artigos, nas bases de dados determinadas, ocorreu por meio da leitura dos títulos, seguida pela escolha dos estudos que preenchiam os critérios de inclusão. Já a avaliação da elegibilidade dos artigos separados ocorreu em duas etapas: na primeira foi realizada a leitura dos respectivos resumos e na segunda dos textos completos.

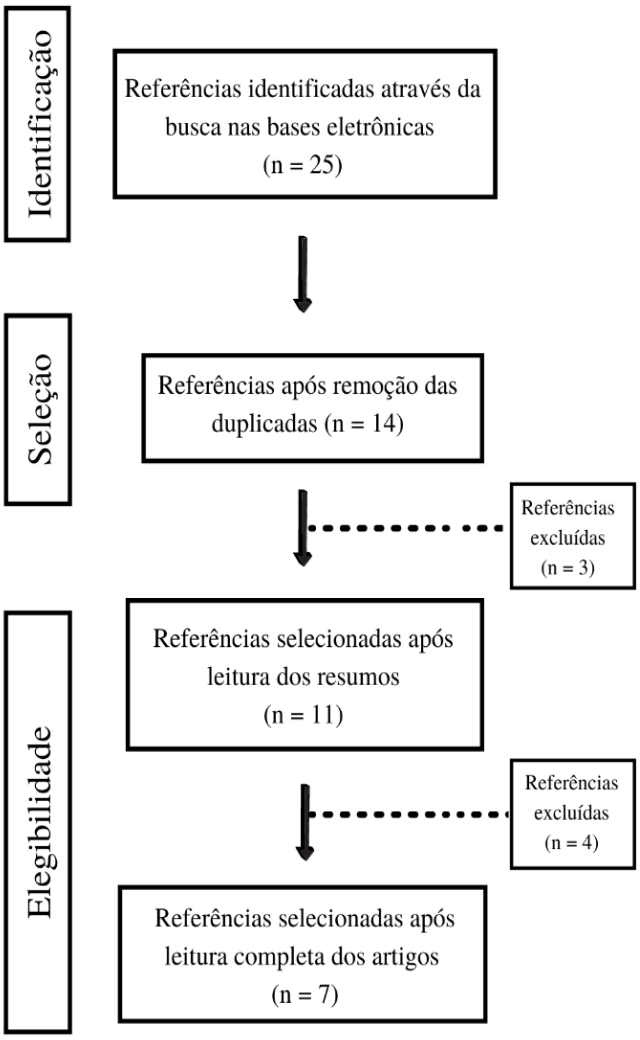
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca nas bases de dados estabelecidas resultou em 1.448 estudos. Desses, apenas 25 preenchiam os critérios de inclusão e foram selecionados pela leitura do título. Após a remoção dos artigos duplicados, através da plataforma Rayyan, restaram 14 estudos.

Na primeira etapa da avaliação, 3 estudos foram excluídos, após a leitura dos resumos. Dois (2) tratavam de outras doenças e um (1) não analisava a aplicação da terapia de reposição enzimática. Na segunda etapa, quatro (4) estudos foram excluídos, um (1) não estava disponível e os outros três (3) analisavam apenas melhorias em sintomas específicos. Dessa forma, foram selecionados, para a presente revisão integrativa, sete (7) estudos. Além dos estudos, o Atlas de Doenças Metabólicas (NYHAN *et al*., 2011) também foi utilizado como referencial teórico na discussão. O processo de seleção dos estudos foi sintetizado na Figura 1.

Todos os sete artigos selecionados tratam da terapia de reposição enzimática nas DDL, sendo que Li (2018), e Desnick e Schuchman (2012), além das doenças descritas nos demais artigos, também relataram a utilização da terapia na MPS IV e na deficiência de lipase ácida lisossomal. Dessa forma, no presente artigo serão analisados os relatos de aplicação de TRE apenas nas doenças descritas em todos os estudos selecionados. São elas: Doença de Gaucher, Doença de Fabry, Doença de Pompe e MPS tipo I, II e VI.

**Figura 1.** Fluxograma do processo de seleção dos estudos




**Legenda:** Processo de seleção dos estudos. Primeiro foi realizada a identificação dos estudos, por meio da busca nas bases de dados. Em seguida, os artigos foram selecionados considerando os critérios de inclusão e exclusão e os que estavam duplicados foram excluídos. Por último, foi realizada a avaliação da elegibilidade dos estudos, a qual foi dividida em duas etapas: leitura dos resumos e leitura dos textos completos.

## Mucopolissacaridose

Mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de doenças de depósito lisossômico causadas por deficiência em uma das doze enzimas responsáveis pela degradação dos glicosaminoglicanos. Clinicamente, as MPS podem ser divididas em sete tipos (MPS I, II, III, IV, VI, VII e IX). (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; NYHAN *et al.*, 2011; VALAYANNOPOULOS, 2013)

As MPS são doenças multiviscerais progressivas que podem envolver o fígado, baço, coração, pulmões, córnea, retina, e nervos ópticos. Os sintomas neurológicos da MPS incluem SNC (cérebro e coluna) e nervos periféricos, podendo ser manifestados com atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, regressão cognitiva, compressão da medula espinal e hidrocefalia. Essas

manifestações neurológicas ocorrem principalmente nas formas graves de MPS I (ou doença de Hurler) e MPS II (ou doença de Hunter, o único transtorno ligado ao X). A síndrome do túnel do carpo, devido à compressão do nervo mediano pelos glicosaminoglicanos não degradados, é outra complicação frequente. Outras MPS, como MPS IV e MPS VI e formas atenuadas de início tardio de MPS I e MPS II, podem apresentar hidrocefalia de compressão da medula espinhal e síndrome do túnel do carpo, mas não comprometimento cognitivo (VALAYANNOPOULOS, 2013)

A MPS tipo I é causada pela deficiência da $\alpha$-L iduronidase. De acordo com sua apresentação clínica ela foi classificada em: doença de Hurler (MPS IH), Hurler-Scheie (MPS IH/S) e Scheie (MPS IS).

A MPS IH é a forma mais severa da MPS tipo I, seus sintomas surgem logo no primeiro ano de vida. Os sintomas incluem: fácies grosseiras, opacificação da córnea, restrição de movimento, perda auditiva, insuficiência respiratória, hepatoesplenomegalia, cardiomegalia e outras doenças cardíacas, além de regressão cognitiva e deficiências de crescimento.

A forma intermediária é a MPS IH/S, seu quadro clínico também apresenta deficiência de crescimento, fácies grosseiras, opacificação da córnea, perda auditiva e doenças cardíacas, porém não apresenta déficits cognitivos. Seus sintomas costumam surgir entre 3 e 6 anos.

A MPS IS é a forma atenuada da doença e pode se apresentar clinicamente com doença valvar, dificuldades de movimentação e opacificação da córnea. As deficiências cognitivas são raras nesse tipo de MPS I e os sintomas costumam surgir entre os 5 e 12 anos (LI, 2018; RATKO *et al.*, 2013).

A MPS tipo II ou doença de Hunter é causada por um déficit da enzima iduronato-2-sulfatase. A MPS II é uma doença recessiva ligada ao cromossomo X e, portanto, as manifestações clínicas são raras em mulheres heterozigotas. Sua incidência estimada está entre 1/80.000 e 1/30.000 homens nascidos (VALAYANNOPOULOS, 2013).

Pode-se apresentar clinicamente de forma severa ou atenuada, sendo seus sintomas parecidos com os apresentados na MPS I (deficiência de crescimento, doenças cardíacas, perda auditiva, hepatoesplenomegalia). Os sintomas na forma severa costumam aparecer entre os 2 e 5 anos, podendo também apresentar progressiva regressão cognitiva. Já os sintomas da forma atenuada surgem mais tardiamente, durante a adolescência ou no início da idade adulta (RATKO *et al.*, 2013). Diferentemente da MPS I, na doença de Hunter não costuma ocorrer o acometimento da córnea (LI, 2018).

A Mucopolissacaridose tipo VI (Síndrome de Maroteaux-Lamy) é causada pela deficiência da enzima arilsulfatase B. Sua apresentação clínica é similar aos distúrbios das mucopolissacaridoses listados anteriormente, manifestando-se com hepatoesplenomegalia, fácies grosseira, problemas ósseos e disostose múltipla, baixa estatura, opacificação da córnea e anormalidades cardíacas (LI, 2018; RATKO *et al.*, 2013).

### Doença de Gaucher

A doença de Gaucher é uma doença de depósito lisossômico causada pela deficiência da enzima glicocerebrosidase ou de seu ativador. Ela pode ser dividida em tipos 1, 2 e 3 de acordo com os sintomas predominantes. No tipo 1 da doença de Gaucher prevalecem os sintomas hematológicos,

como anemia, leucopenia e trombocitopenia, além dos sintomas viscerais (hepatoesplenomegalia e, em alguns casos, cardiomiopatia e doença intersticial pulmonar) e esqueléticos (crises de dor, osteonecrose e fraturas patológicas) (VALAYANNOPOULOS, 2013).

O tipo II da doença é a forma mais severa e é caracterizada pelo acometimento neurológico, apresentando início precoce dos sintomas, entre os 3 e 6 meses de idade. Pode ocorrer o comprometimento bulbar, causando estridor, estrabismo e dificuldade para engolir, e do trato piramidal, causando opistótono, retroflexão da cabeça, espasticidade e trismo. O comprometimento cognitivo pode não ocorrer em todos os casos, mas quando presente indica acometimento do trato piramidal e mau prognóstico (LI, 2018; VALAYANNOPOULOS, 2013)

O tipo neurológico subagudo (Gaucher tipo 3) associa os sinais de Gaucher tipo 1 a um comprometimento neurológico de início tardio e curso progressivo, porém a progressão é mais lenta em comparação com o tipo 2. Os sintomas viscerais encontrados são semelhantes ao Gaucher tipo 1 e incluem hepatoesplenomegalia, doença pulmonar e citopenias. Também podem apresentar atraso no crescimento. Já os sintomas neurológicos são manifestados por oftalmoplegia horizontal em associação com ataxia cerebelar, espasticidade progressiva, epilepsia mioclonal, demência e parkinsonismo (LI, 2018; VALAYANNOPOULOS, 2013).

Há também alguns subtipos da doença como o subtipo perinatal letal que cursa com hidropsia não imune, alterações cutâneas ictiosiformes, artrogripose, hepatoesplenomegalia, pancitopenia e o subtipo cardiovascular que se apresenta com calcificação das válvulas mitral e aórtica e hepatoesplenomegalia leve, e tem sobrevida até cerca de 40 anos. (LI, 2018).

## Doença de Fabry

A doença de Fabry é um distúrbio ligado ao cromossomo X, com início dos sintomas e gravidade com espectro variante entre seus pacientes. Foi descrita pela primeira vez em 1898, de maneira independente, por dois dermatologistas - Anderson, na Inglaterra, e Fabry, na Alemanha. Por serem dermatologistas, o foco inicial de compreensão da doença era a presença dos angioqueratomas cutâneos. Por isso, a doença de Fabry também é conhecida como *angiokeratoma corporis diffusum universale*.

Atualmente, sabe-se que a Doença de Fabry tem como característica o comprometimento da atividade da enzima $\alpha$-galactosidase A, que é codificada por um gene localizado no braço longo do cromossomo X (Xq22.1). O mau funcionamento dessa enzima promove o acúmulo de glicoesfingolipídios. Por ser uma doença ligada ao cromossomo X, sua incidência é maior nos homens, porém as mulheres também podem apresentar a doença, sendo sua manifestação bastante variável, desde assintomáticas a sintomas severos (LI, 2018; NYHAN *et al.*, 2011).

Em geral, o sintoma inicial ocorre na infância (forma clássica da doença), se apresentando por meio de acroparestesia (constante formigamento ou dormência, incômodo, queimação), de maneira intermitente, nas extremidades - dedos dos pés, mãos e pés. Podendo ser induzido por exposição ao frio e calor extremos, fadiga ou estresse emocional. Além disso, também pode estar associado a uma elevada taxa de sedimentação de eritrócitos e elevação da temperatura corporal. Dessa maneira, os muitos pacientes são equivocadamente diagnosticados com artrite reumatoide ou febre reumática (NYHAN *et al.*, 2011; RATKO *et al.*, 2013).

A doença nos adolescentes se manifesta, com frequência com a presença dos angioqueratomas, em adultos pode haver acometimento cardíaco, pulmonar e do sistema nervoso. Especificamente nos homens, a doença pode se apresentar com sintomas na infância ou adolescência ou permanecer assintomática até a idade adulta. Nas mulheres, o aparecimento dos sintomas pode ocorrer de forma tardia, aparecendo sintomas leves ou quadros tão graves quanto nos homens. Os primeiros sintomas incluem: lesões na pele, dor nas extremidades, diminuição da capacidade de suar, presença de padrão de verticilado visível na córnea, sintomas gastrointestinais como dor abdominal e diarreia, além do declínio da função renal. E ainda, podem acontecer cardiomiopatias, arritmias e acidente vascular cerebral (NYHAN *et al.*, 2011; RATKO *et al.*, 2013).

Na forma clássica da doença, os sintomas costumam surgir na infância, com o aparecimento de acroparestesias, intolerância ao exercício e angioqueratomas. Evoluindo, no início da fase adulta, para o acometimento renal, associado a sintomas gastrointestinais e pulmonares. Além das manifestações já citadas, podem ocorrer sintomas neurológicos, decorrentes do acometimento cocleovestibular, do sistema nervoso autônomo e dos vasos cerebrais. São comuns eventos cerebrovasculares, como acidente vascular encefálico (AVE) e ataque isquêmico transitório (AIT), acometendo a circulação posterior, principalmente. Esses eventos podem ser, em parte, explicados pelas pequenas lesões arteriais vistas na ressonância magnética (RM), as quais evoluem com a idade.

Outro achado relacionado a maior incidência de eventos cerebrovasculares em pacientes com doença de Fabry é a calcificação do núcleo pulvinar, indicando uma hiperperfusão cerebral, que também facilita a ocorrência de AVE e AIT. Ademais, pode-se perceber através da tomografia com emissão de pósitrons, um acúmulo de glicosfingolipídios nas células endoteliais dos vasos cerebrais, causando redução do fluxo cerebral e diminuição da sua autoregulação (VALAYANNOPOULOS, 2013).

## Doença de Pompe

A doença de Pompe (DP), ou glicogenose tipo II, trata-se de uma doença genética de herança autossômica recessiva que tem como pilar a deficiência da enzima $\alpha$-glicosidase ácida. Ela é uma doença generalizada, portanto, afeta todas as células do corpo, sobretudo a musculatura lisa, esquelética e cardíaca. Em virtude de sua principal expressão clínica ocorrer no coração, a DP também é referida como glicogenose cardíaca (VALAYANNOPOULOS, 2013; NYHAN *et al.*, 2011)

Epidemiologicamente as informações sobre esta doença de depósito lisossomal são variáveis. Por ser considerada rara, a glicogenose tipo II torna-se suscetível ao subdiagnóstico. No mundo, a DP tem recorrência estimada entre 1/40.000 e 1/60.000, dependendo de características geográficas e étnicas (VALAYANNOPOULOS, 2013).

Com relação ao quadro clínico, a DP é uma doença de armazenamento lisossomal com amplo espectro, podendo apresentar-se de duas formas: a forma infantil e a forma tardia.

Na forma infantil (*infantile-onset Pompe disease*), os sinais e sintomas se apresentam nas primeiras semanas ou meses de vida. Observa-se hipotonia, dificuldades na alimentação e atraso no desenvolvimento motor, podendo em estados mais avançados apresentar-se com cardiomiopatias (hipertrófica ou dilatada) e insuficiência respiratória. Por ser de rápida progressão, muitos pacientes

vão a óbito no primeiro ano de vida (LI, 2018; NYHAN *et al.*, 2011). À análise enzimática, os pacientes portadores da forma infantil apresentam variantes patogênicas no gene $\alpha$-glicosidase e ausência da atividade enzimática normal (NYHAN *et al.*, 2011; VALAYANNOPOULOS, 2013).

Por outro lado, na forma tardia (*late-onset Pompe disease*) o surgimento dos sintomas ocorre em qualquer idade, desde o primeiro ano até a sexta década de vida. Essa forma possui uma progressão mais lenta, uma vez que seus portadores possuem uma atividade enzimática reduzida. Dessa maneira, sua apresentação se dá de forma menos severa e a progressão da doença é mais lenta. Observa-se no quadro clínico fraqueza muscular, ocasionando prejuízos motores e, consequentemente, dificuldade na execução de atividades. Pode ocorrer também fraqueza respiratória progressiva e insuficiência cardíaca. Por conta do acometimento muscular e respiratório progressivo, o paciente pode precisar de cadeira de rodas e ventilação mecânica (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LI, 2018; RATKO *et al.*, 2013).

## Terapia de reposição enzimática nas doenças de depósito lisossômico

A terapia de reposição enzimática (TRE) é um dos principais tratamentos disponíveis para as doenças de depósito lisossômico. Essa estratégia é voltada para a redução do acúmulo de substrato através de um aumento da quantidade de enzima deficiente no organismo desses pacientes. A TRE foi inicialmente sugerida por Christian de Duve e Roscoe Brady, na década de 1960. Contudo, a primeira enzima para o tratamento das DDL apenas foi aprovada pela agência americana FDA (*Food and Drug Administration*) em 1991. A enzima foi a alglucerase para o tratamento da doença de Gaucher. Foram necessários trinta anos de pesquisas para desenvolver uma enzima capaz de se direcionar aos lisossomos de tecidos afetados pela doença (LI, 2018). Uma descoberta que facilitou esse direcionamento, foi a observação do receptor manose-6-fosfato (M6F) nas enzimas lisossomais (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; THOMAS & KERMODE, 2019).

Os testes clínicos com a alglucerase em pacientes com doença de Gaucher iniciaram entre 1970 e 1980 e mostraram resultados positivos. Com a infusão da enzima ocorreu redução dos sintomas viscerais (hepatoesplenomegalia), hematológicos e ósseos, surpreendendo os pesquisadores que acreditavam que as patologias causadas pela doença não poderiam ser revestidas.

Ademais, com os testes clínicos notou-se que a TRE não era viável para distúrbios neurológicos graves, como Tay-Sachs, Sandhoff e Doença de Niemann-Pick tipo A, e que a melhora dos sintomas dependia da dose e da continuidade do tratamento. Caso o tratamento fosse cessado o acúmulo de substrato voltava a ocorrer e, consequentemente, os sintomas progrediam. Observou-se também que quanto mais precoce o início da terapia maior sua eficácia (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012).

Atualmente, a TRE está disponível para diversas DDL e contribui para a regressão e o retardo do acometimento dos órgãos causado pelo acúmulo do substrato, além de contribuir para o aumento da expectativa dessa população. As principais doenças de depósito lisossômico beneficiadas pela TRE são: MPS I, II e VI, Doença de Fabry, Doença de Gaucher e Doença de Pompe. As terapias de reposição enzimática disponíveis para essas doenças estão descritas na Tabela 4.1.

Mesmo trazendo diversos benefícios clínicos, a TRE possui algumas desvantagens. A principal desvantagem é que a terapia de reposição enzimática não funciona para os sintomas neurológicos, que acometem dois terços dos pacientes com DDL. Isso ocorre por conta da impossibilidade da enzima produzida atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), devido ao seu tamanho. Além disso, a enzima também tem dificuldade para alcançar tecidos que apresentam pouco contato direto com a corrente sanguínea, como ossos e músculos (LI, 2018; THOMAS & KERMODE, 2019). A inclusão de moléculas modificadoras que facilitam o movimento, altas doses de terapia de reposição enzimática e administração por injeções intratecais podem ser alternativas para aumentar a eficácia em pacientes com sintomas neurológicos (LI, 2018; DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011).

**Tabela 4.1.** Terapia de Reposição Enzimática em pacientes com Doenças de Depósito Lisossômico

| Doença | Enzima recombinante | Dose | Resultados da TRE |
|---|---|---|---|
| MPS I | Laronidase (Aldurazyme®) | 100 U/kg - 200 U/kg, por semana | Redução da hepatoesplenomegalia, melhora da mobilidade e da função cardíaca e respiratória, aumento da qualidade de vida geral. |
| MPS II | Idursulfase (Elaprase®) | 0,5 mg/kg, por semana | Redução da hepatoesplenomegalia e melhora na mobilidade e na função respiratória e cardíaca. |
| MPS VI | Galsulfase (Naglazyme®) | 1,0 mg/kg por semana | Aumento de massa óssea, da mobilidade das articulações e da capacidade cardiorrespiratória. Redução da hepatoesplenomegalia. |
| Gaucher tipo I | Imiglucerase (Cerezyme®), Velaglucerase *alfa* (VPRIV™™) e Taliglucerase (Elelyso™) | 15-60 U/kg/infusão, em semanas alternadas | Melhora do fígado e do baço, da anemia, da trombopenia, das crises dolorosas e do estado geral do paciente. |
| Fabry | Agalsidase $\alpha$ (Replagal®) ou Agalsidase $\beta$ (Fabrazyme®) | Agalsidase $\alpha$: 0,2 mg/kg, em semanas alternadas; Agalsidase $\beta$ 1,0 mg/kg, em semanas alternadas. | Estabilização da função renal e cardíaca, além de melhora da dor e da qualidade de vida. |
| Pompe | Alglucosidase $\alpha$ (Myozyme® na Europa e EUA, Lumizyme® nos EUA) | 20 mg/kg, em semanas alternadas | Forma precoce da doença: diminuição da incidência e da progressão das cardiomiopatias. Forma tardia da doença: melhoria na força muscular, já no primeiro ano de tratamento, seguida por sua estabilização.<br>Em ambas as formas o tratamento contribuiu positivamente para a capacidade cardiopulmonar e para a qualidade de vida. |

**Fonte:** Adaptado de DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013; VALAYANNOPOULOS, 2013.

Ademais, a infusão da enzima pode levar a efeitos adversos, como: hipertensão, taquicardia, reações cutâneas (eritema, urticária, prurido), cefaleia, náusea, edema facial, entre outros. Uma reação importante a TRE é o desenvolvimento de resposta imunológica. Como os pacientes com

DDL produzem pouca ou nenhuma enzima, o organismo pode considerar a enzima recebida como um corpo estranho e desenvolver imunoglobulinas G (IgG) para combatê-la. Alguns pacientes, além da resposta imune mediada pelo IgG, podem desenvolver respostas IgE mediadas e apresentar reações anafiláticas (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012). A resposta imune prejudica a eficácia do tratamento, uma vez que os anticorpos produzidos podem neutralizar as enzimas e/ou bloquear os receptores M6F (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; RATKO *et al.*, 2013).

Outra desvantagem da terapia de reposição enzimática é o seu alto custo, dependendo da DDL, um ano de tratamento pode custar de 300.000 a um milhão de dólares por paciente (THOMAS & KERMODE, 2019).

A TRE por Laronidase (Aldurazyme®) foi aprovada pela FDA em 2003 para o tratamento de pacientes com as formas Hurler e Hurler- Scheie da MPS I e em pacientes com a forma Scheie com sintomas moderado a grave. O protocolo atual consiste em administração intravenosa semanal de infusões durante 2 – 4 horas, de dose de 100 U/kg, que pode ser aumentada para 200 U/kg em pacientes com MPS I grave com resposta parcial. Eventos relacionados à infusão (febre, erupção cutânea e, raramente, reações anafiláticas) podem ocorrer durante os primeiros meses de tratamento. Eles podem ser tratados com anti-histamínicos, antipiréticos e esteroides.

A TRE com Laronidase contribui para redução do volume do baço e do fígado, melhora da mobilidade e da função cardíaca e respiratória, além de um aumento na qualidade de vida geral. Porém, o tratamento não se mostrou eficaz no alívio da compressão medular, da síndrome do túnel do carpo e na redução dos sintomas neurológicos, como o declínio cognitivo (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013; VALAYANNOPOULOS, 2013).

Na MPS II, ou doença de Hunter, a terapia com reposição enzimática é realizada, desde de 2006, com a enzima idursulfase (Elaprase®), por via intravenosa. A dose recomendada é de 0,5 mg/kg, por semana. Com seu uso foi possível perceber redução da hepatoesplenomegalia e melhora na mobilidade e na função respiratória e cardíaca. A TRE na MPS tipo II possui as mesmas limitações que a terapia na MPS I, não contribui para uma melhora da doença óssea, nem dos sintomas neurológicos (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013; VALAYANNOPOULOS, 2013).

A galsulfase (Naglazyme®) é o tratamento para MPS tipo VI. Estudos demonstraram que seu uso leva a aumento de massa óssea, da mobilidade das articulações e da capacidade cardiorrespiratória, além de reduzir a hepatoesplenomegalia presente. Entretanto, mesmo com a melhora do movimento das articulações, não foram observadas reduções nas displasias ósseas. Dessa forma, o ganho na mobilidade está relacionado apenas com a diminuição da inflamação tecidual. A enzima galsulfase foi aprovada em 2005 e sua dose recomendada é de 1,0 mg/kg por semana (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013; VALAYANNOPOULOS, 2013).

Sobre a doença de Gaucher, que tem como causa a deficiência de glicocerebrosidase ou de seu ativador, existem os tipos 1, 2 e 3. A tipo 1, tem sido classicamente chamada de doença não neuropática, pois não há envolvimento neurológico primário, enquanto os tipos 2 e 3 envolvem o cérebro diretamente. Assim sendo, a TRE apenas apresenta-se viável para o tipo 1 da doença de

Gaucher, uma vez que, como já citado, a enzima recombinante não consegue atravessar a BHE e, consequentemente, não promove melhorias dos sintomas neurológicos.

Para a terapia nessa doença foram aprovadas, pela FDA, 3 enzimas recombinantes diferentes: imiglucerase (Cerezyme®), em 1994; velaglucerase *alfa* (VPRIV®), em 2010 e taliglucerase (Elelyso®), em 2012. Ambas as enzimas são utilizadas em semanas alternadas com doses variando entre 15 e 60 U/kg/infusão. Com este tratamento, há melhora do fígado e do baço, da anemia, da trombopenia, das crises dolorosas e do estado geral do paciente (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013).

A doença de Fabry, condição resultante da deficiência da enzima lisossomal $\alpha$-galactosidase A, tem como tratamento a TRE com agalsidase $\alpha$ a 0,2 mg/kg (Replagal®) ou agalsidase $\beta$ 1,0 mg/kg (Fabrazyme®), em semanas alternadas. Apenas a agalsidase $\beta$ foi aprovada nos Estados Unidos (EUA), em 2003, por conta de uma lei de proteção as indústrias farmacêuticas. Contudo, estudos comparativos mostram que não existem diferenças entre as duas preparações. Ambas contribuem para a estabilização da função renal e cardíaca, além de melhora da dor e da qualidade de vida (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; VALAYANNOPOULOS, 2013).

Doença de Pompe (doença de armazenamento do glicogênio tipo II) tem como tratamento Alglucosidase $\alpha$ (maltase ácida humana recombinante, Myozyme® na Europa e EUA, Lumizyme® nos EUA) 20 mg/kg, administrada em semanas alternadas, com uma infusão endovenosa. Essa terapêutica mostrou resultados positivos tanto na forma precoce quanto na forma tardia da doença. Na forma da doença com início dos sintomas na infância, a TRE diminui a incidência e a progressão das cardiomiopatias. Enquanto que na forma da doença com início apenas na fase adulta, foram observadas melhorias na força muscular, já no primeiro ano de tratamento, seguida por sua estabilização. Em ambas as formas, o tratamento contribuiu positivamente para a capacidade cardiopulmonar e para a qualidade de vida (DESNICK & SCHUCHMAN, 2012; LACHMANN, 2011; RATKO *et al.*, 2013; VALAYANNOPOULOS, 2013).

## CONCLUSÃO

Portanto, foi possível perceber com a revisão dos artigos selecionados que as doenças de depósito lisossômico são um importante grupo de erros inatos do metabolismo, que podem prejudicar significativamente a qualidade de vida dos indivíduos acometidos, além de diminuir sua expectativa de vida. Nesse cenário, percebe-se a importância da terapia de reposição enzimática como meio de atenuação dos sintomas apresentados. Entretanto, mesmo com todos os benefícios, ainda é necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que avaliem o uso da TRE em pacientes com DDL, afim de sanar suas limitações e desvantagens, como a ineficácia em sintomas neurológicos e o alto custo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALROY, J. & LYONS, J. Lysosomal Storage Diseases. Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening, v. 2, e130001, 2014.

ANDRADE, L.A. Doenças de armazenamento lisossômico e seu impacto na função respiratória: o papel da fisioterapia respiratória como tratamento coadjuvante – revisão de literatura [tese]. São Paulo: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP. São Paulo; 2017.

BITENCOURT, F.H. Aspectos farmacoeconômicos associados a terapia de reposição enzimática para mucopolissacarisodes tipo I, II e VI: um estudo com ênfase em intervenções médicas [tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

DESNICK, R.J. & SCHUCHMAN, E.H. Enzyme replacement therapy for lysosomal diseases: lessons from 20 years of experience and remaining challenges. Annual review of genomics and human genetics, v. 13, p. 307, 2012.

LACHMANN, R.H. Enzyme replacement therapy for lysossomal storage diseases. Current Opinion in Pediatrics, v. 23, p. 588, 2011.

LI, M. Enzyme replacement therapy: a review and its role in treating lysosomal storage diseases. Pediatric annals, v. 47, p. 191, 2018.

NYHAN, W.L. *et al*. Atlas of Inherited Metabolic Diseases. 3.ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2011.

POSWAR, F.O. *et al*. Lysosomal diseases: Overview on current diagnosis and treatment. Genetics and molecular biology, v. 42, p. 165, 2019.

RATKO, T.A. *et al*. Enzyme-Replacement Therapies for Lysosomal Storage Diseases Technical Brief. Agency for Healthcare Research and Quality. Rockville, 2013

THOMAS, R. & KERMODE, A.R. Enzyme enhancement therapeutics for lysosomal storage diseases: Current status and perspective. Molecular genetics and metabolism, v. 126, p. 83, 2019.

VALAYANNOPOULOS, V. Enzyme replacement therapy and substrate reduction therapy in lysosomal storage disorders with neurological expression. Handbook of clinical neurology, v. 113, p. 1851, 2013.

# CAPÍTULO 5

## ESTUDO DE NOVOS FÁRMACOS TRIAZÓLICOS PARA TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE: BREVE REVISÃO

*Palavras-chave: Doenças Negligenciadas,;1,2,3-triazol,; Antiparasitário,; Leishmaniose*

**DYECIKA SOUZA COUTO[1]**
**CAROLINE REZENDE ASSUNÇÃO[2]**

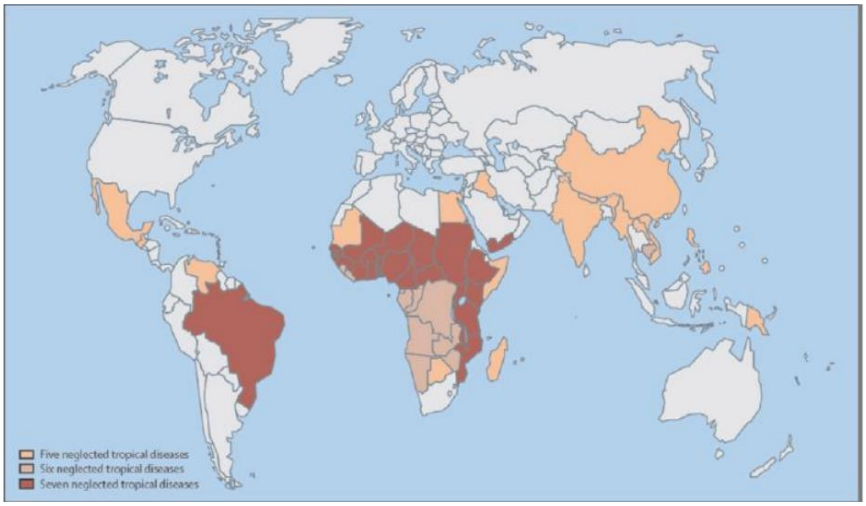
1. Discente do Curso de Medicina da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG.
2. Discente do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG.

## INTRODUÇÃO

O termo doença negligenciada se refere aquelas doenças causadas por agentes infecciosos ou parasitas que atingem, principalmente, a população de baixa renda. Estas enfermidades incapacitam ou matam milhões de pessoas. Segundo Brasil (2013), as doenças tropicais juntamente com a tuberculose são responsáveis por 11,4% da carga global da doença e apenas 1,3% (21 de 1556 fármacos) dos novos medicamentos registrados entre 1975 e 2004 foram desenvolvidos especificamente para essas doenças.

A endemia de doença tropical atinge principalmente a população pobre da África, Ásia e América Latina (Figura 5.1), causando entre 500 mil a 1 milhão de óbitos por ano. Por mais que se conheçam medidas preventivas e tratamentos para algumas dessas moléstias, não se é amplamente difundido entre os menos desfavorecidos. (BRASIL, 2013.)

**Figura 5.1.** Prevalência das doenças negligenciadas no mundo.



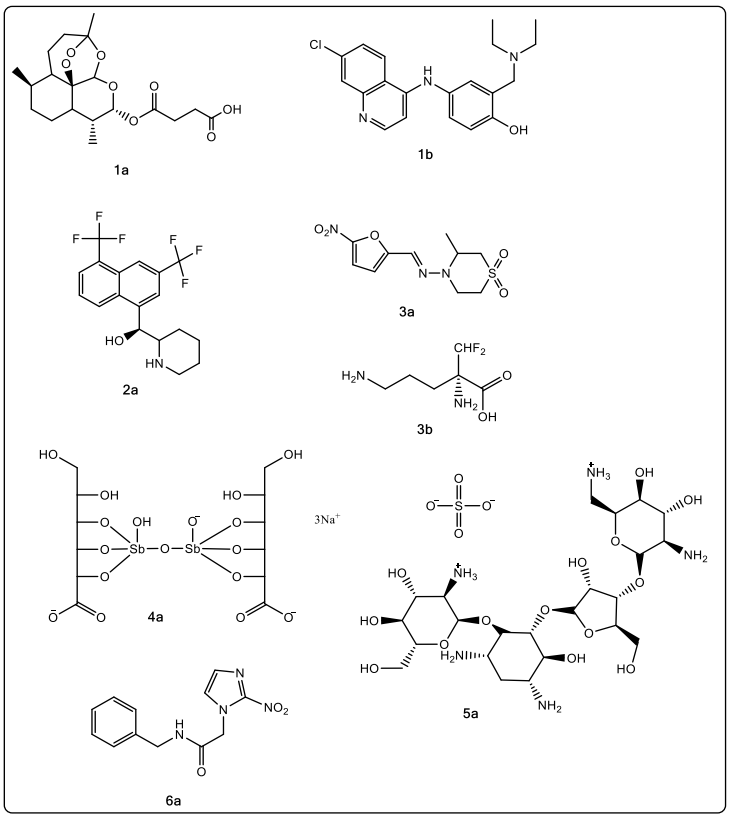

**Fonte:** Departamento de Epidemiologia e Bioestatística (MEB, 2017).

Essa classe de doenças é um problema de saúde pública, entretanto o investimento dado não é suficiente. Pacientes e sistemas de saúde com baixo poder aquisitivo e sem influência política não conseguem gerar o retorno financeiro exigido pela maior parte das indústrias farmacêuticas. Esta constatação levou à criação, pelo setor público, de programas destinados a financiar e estimular pesquisas sobre estas doenças. Como exemplos destes programas podemos citar, no Brasil, o Programa Integrado de Doenças Endêmicas (PIDE), do CNPq, ativo de 1973 a 1986 e, em nível internacional, o Programa de Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (denominado TDR, de *Tropical Diseases Research*), criado em 1975, com sede na Organização Mundial da Saúde (OMS) em Genebra e co-patrocinado por PNUD, Unicef, Banco Mundial e a própria OMS, atuante até os dias de hoje, e *Drugs for Neglected Diseases Initiative* (DNDi) (BRASIL, 2013.)

A DNDi é uma organização de pesquisa sem fins lucrativos que trabalha afim de oferecer novos tratamentos para as doenças negligenciadas. Desde a sua criação em 2003, a DNDi disponibilizou seis tratamentos com os fármacos: dois antimaláricos de dose fixa combinados

artesunato-amodiaquina (ASAQ) (1a e 1b) e artesunato-mefloquina (ASMQ) (1a e 2a) a terapia combinada de nifurtimox-eflornitina - (NECT) (3a e 3b) para a fase avançada da doença do sono, a terapia combinada à base de estibogluconato de sódio (4a) e paromomicina (5a) (SSG & PM) para a leishmaniose visceral na África, um conjunto de terapias de combinação para a leishmaniose visceral na Ásia e uma dosagem pediátrica do benznidazol (6a) para a doença de Chagas (Figura 5.2) (BRASIL,2013.)

**Figura 5.2.** Medicamentos disponibilizados pela DNDi




**Fonte:** BRASIL, 2013.

Pesquisadores da DNDi, Médicos Sem Fronteiras (MSF), o Programa Especial da OMS para a Pesquisa e Treinamento Sobre Doenças Tropicais (TDR) e de três universidades (Hospital Universitário de Grenoble e Universidade Joseph Fourier, França, e Universidade de Oxford, Reino Unido) constataram que dos 850 novos medicamentos e vacinas aprovados entre 2000 e 2011 apenas 4% destinavam-se às doenças negligenciadas. A maioria dos produtos terapêuticos desenvolvidos recentemente são versões reformuladas de fármacos já existentes. Dos 336 novos medicamentos (novas entidades químicas ou NCEs, na sigla em inglês) aprovados para conjunto total das doenças no período de 2000 a 2011, apenas quatro ou 1% foram destinados a esta classe de enfermidades. Além disso, faltam ensaios clínicos relacionados às doenças negligenciadas. Dos quase 150.000 estudos clínicos registrados para novos produtos terapêuticos em desenvolvimento em dezembro de 2011, somente 1% era relacionado à estas doenças (PEDRIQUE *et al.*, 2013).

Este estudo visa, portanto, à revisão bibliográfica com identificação das pesquisas desenvolvidas e em desenvolvimento utilizando substâncias triazólicas como possível fármaco para combater leishmaniose.

## MÉTODO

A busca pelos artigos foi realizada na plataforma Portal de Periódicos Capes. Os artigos foram selecionados no período de 6 anos (2013-2018), com o filtro "triazoles". As palavras chaves para a pesquisa foram "leishmaniasis" and "triazoles".

Os critérios de inclusão adotados foram: artigos em inglês, trabalhos com substâncias triazólicas ativas in vitro ou in vivo nos protozoários do gênero *Leishmania* e com rota sintética estabelecida. Os critérios de exclusão foram: artigos em língua não inglesa, trabalhos sem atividade anti-leishmaniótica e artigos com substâncias não-triazólicas. Foram selecionados 12 artigos para execução do presente estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A leishmaniose atinge 350 milhões de pessoas em 98 países, com cerca de 1,8 milhões de casos novos/ano no mundo e 25,5 mil novos casos no Brasil, estes por sua vez se concentram nos estados: MG, BA, CE, MA, TO, PA, PI, PE, MS e SP. A leishmaniose é endêmica em 98 países e territórios do mundo, mais de 12 milhões de pessoas estão infectadas e 350 milhões estão em risco (WHO, 2018).

Os agentes etiológicos das leishmanioses são protozoários do gênero Leishmania, da família Trypanasomatidae, da ordem Kinetoplastida. Este gênero apresenta um número crescente de espécies. Dentre as 30 espécies de Leishmania conhecidas atualmente, aproximadamente 20 são patogênicas para o homem (WHO, 2018).

A transmissão se faz por meio da picada de fêmeas de flebotomíneos infectados, que injetam formas promastigotas metacíclicas nos hospedeiros vertebrados. Estas são englobadas pelos macrófagos, localizando-se nos fagolisossomos onde se transformam nas formas amastigotas e se multiplicam. As manifestações clínicas da doença dependem da espécie de Leishmania e da resposta imune do hospedeiro, podendo ser: leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose visceral (LV), sendo que esta última pode levar a uma incidência muito alta de mortes quando a doença não é tratada (WHO, 2018).

Estima-se que 75% de todos os casos de LC estão concentrados em 10 países, sendo um deles o Brasil. O Brasil é um dos seis países onde 90% dos casos de LV foram encontrados. Nas Américas, uma média de 60.000 casos de leishmaniose cutânea e mucosa e 4000 casos de LV são diagnosticados a cada ano, com uma taxa de mortalidade de 7%. Uma das espécies mais amplamente distribuídas na América Latina é a *Leishmania braziliensis* que pode levar à LC e LMC. Outra espécie importante é *L. infantum* que pode levar à LV que acomete o humano, cães e os gatos (PERTINO *et al.*, 2017). Em 2016, o Brasil divulgou o coeficiente de incidência de 1,55 casos/100.000 habitantes, com o relato de 3200 novos casos, no qual na qual 47,6% foi na Região

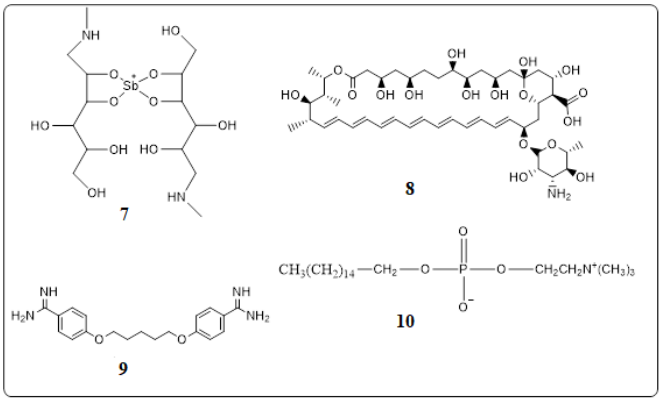
Nordeste, havendo 2.228 internações (70,0%) com média de permanência de 13,4 dias, com letalidade de 7,8% (PERTINO *et al.*, 2017).

As formas cutânea e mucocutânea da doença muitas vezes resultam em autocura, apesar de consequências, como cicatrizes permanentes e deformações no rosto dos pacientes e/ou garganta, o que pode levar ao isolamento social devido a preconceitos e problemas nutricionais (WHO, 2018). Ainda não existe um tratamento eficaz para as várias formas de leishmaniose. Até o momento, não há vacinas eficientes e o arsenal clássico terapêutico para o tratamento desta doença é restrito, sendo que todos os medicamentos disponíveis no mercado possuem alguma limitação: toxicidade, resistência, custo, tratamento longo ou modo de administração inadequado.

O tratamento dos pacientes infectados normalmente consiste no uso de sais orgânicos de antimônio pentavalente, introduzidos pela primeira vez em 1945, e que são, ainda hoje, a base da terapia para leishmaniose. Os principais representantes desta classe são o estibogluconato de sódio (4a) e o antimoniato de meglumina (7), utilizados no tratamento de ambas as formas, cutânea e visceral, da doença. A utilização destes fármacos é limitada por causa da sua eficácia reduzida, efeitos colaterais frequentes e devido ao surgimento de uma resistência significativa (CROFT & COOMBS, 2003; ST. GEORGE *et al.*, 2006; PATEL & SHAH, 2008).

Ainda assim, antimoniais pentavalentes são os fármacos de primeira escolha para o tratamento da leishmaniose em muitos países, com exceção da Índia, no Estado de Bihar (OLLINARO *et al.*, 2005), onde múltiplos casos de resistência surgiram e, por isso, eles foram substituídos por anfotericina B (8), – de alto custo, pentamidina (9), - associada a diabetes mellitus insulino-dependente, paromomicina (5a), - com alta nefrotoxicidade e miltefosina (10), - único fármaco com administração oral, porém altamente teratogênico (Figura 5.3) (MURRAY *et al.*, 2005).

**Figura 5.3.** Medicamentos utilizados no tratamento de Leishmaniose

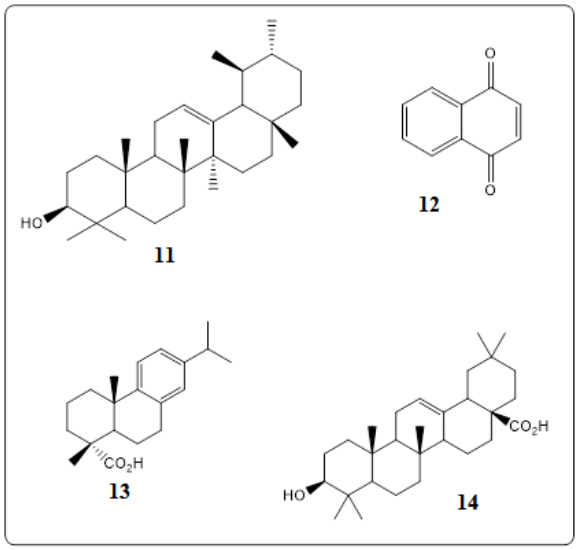



**Fonte:** MURRAY *et al.*, 2005.

Vários compostos naturais advindos de plantas, como compostos fenólicos, alcaloides, saponinas e terpenos mostram bioatividade potente e seletiva para o tratamento de doenças tropicais. Os diterpenos isolados de raízes de *Salvia cilicica* (Lamiaceae) e triterpenos como ácido ursólico (11), que possui IC50 de 5 e 27 µg/mL contra o estágio promastigota e amastigota de L. amazonensis, exibem atividade leishmanicida, *in vitro*, significativa.

Recentemente, diferentes grupos de pesquisas utilizaram a reação de 1,3-dipolar-cicloadição catalisada por azida de cobre e alcino, que gerou 1,2,3-triazois buscando por fármacos antiparasitárias. Usando esta reação, eles obtiveram triazol-derivados de açúcares, benznidazol (6a), naftoquinonas (12) e esteróis como excelente antiparasitário. Foram sintetizados 34 derivados sintéticos a partir dos terpenos de partida, ácido desidroabiético (DHA)(13), derivados de ácido oleanólico (AO) (14) e dehidroabietinol (15). Eles foram avaliados contra formas epimastigostas de T. cruize e promastigotas de Leishmania spp, analisando também a citotoxidade (Figura 5.4) (PERTINO *et al.*, 2017).

**Figura 5.4.** Terpenos utilizados como composto de partida

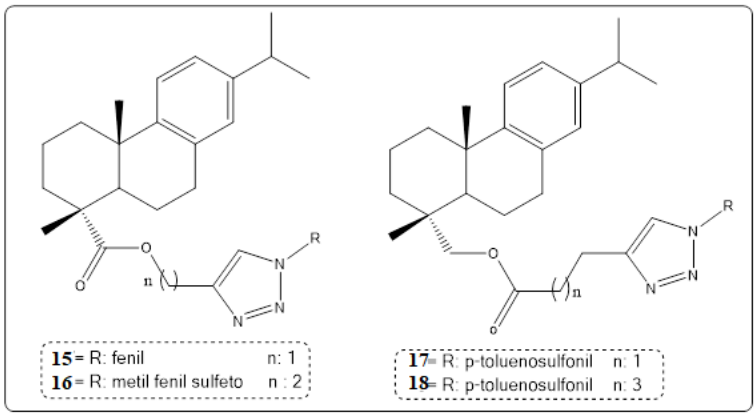



**Fonte:** PERTINO *et al.*, 2017.

Os produtos mais ativos derivados de DHA contra T. cruize foram os 15, 16 e 17 com valores de IC50 de 46, 61 e 69 µg/mL, respectivamente. A inibição da proliferação *in vitro* da Leishmania spp. Foi testada contra duas estirpes promastigotas, os compostos derivados de DHA 15, 16, 17 e 18, foram os compostos mais ativos contra ambas as espécies avaliadas com valores de IC50 de 44, 63, 53, 64, 89 e 71 µg/mL contra L. braziliensis, e 72, 40, 60, 64, 53 e 73 µg/mL contra L. infantum, respectivamente.

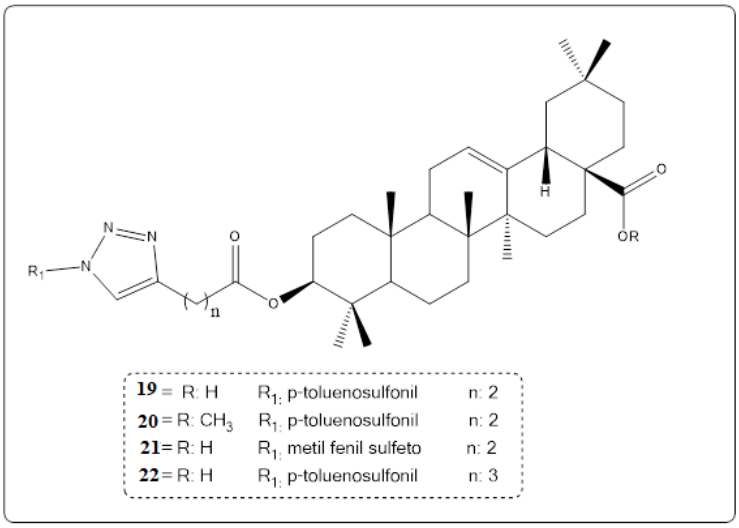
A citotoxicidade dos compostos foi avaliada em fibroblastos NCTC-Clone 929. Entre os derivados avaliados apenas os compostos 16, 17 e 18 mostraram moderada atividade citotóxica com valores de IC50 na faixa de 129-232 µg/mL (Figura 5.5). Para os derivados de OA, apenas os compostos 19 e 20 apresentaram um efeito no T. cruzi com valores de IC50 de 43 e 61 µg/mL, respectivamente. Por outro lado, os resultados da atividade leishmanicida mostram que apenas os compostos 21 e 22 têm um efeito leve, na qual o composto 21 apresenta atividade contra L. *braziliensis* e L. *infantum* promastigotas, com valores de IC50 de 109 µg/mL e 155 µg/mL, respectivamente, e o composto 22 mostrou atividade apenas contra promastigota de L. *infantum*, com um IC50 de 128 µg/mL (Figura 5.6). (PERTINO *et al.*, 2017).

**Figura 5.5.** Compostos derivados de DHA com maior IC50




**Fonte:** PERTINO *et al*., 2017.

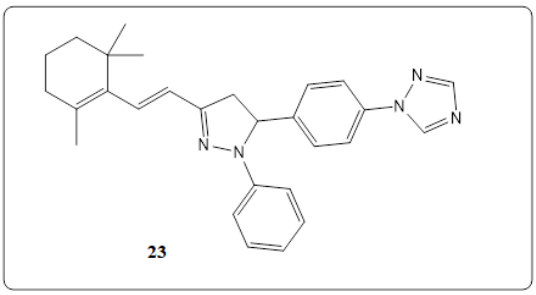
**Figura 5.6.** Compostos derivados de OA com maior IC50




**Fonte:** PERTINO *et al*., 2017.

Uma nova série de triazois integrados a fenil heteroterpenos foram sintetizados e selecionados para sua atividade *in vitro* contra a forma amastigota intracelular de *L. donovani* por Suryawanshi *et al.* (2013). Todos os derivados obtidos foram testados e verificou-se que o composto 23 é o mais ativo, com IC50 6,4 µM e melhor índice de seletividade (SI) (SI= 18) em comparação com os fármacos de referência, miltefosina (24) (IC50= 8,6; SI= 6) e miconazol (25) (IC50= 5,4; SI= 7). Quando avaliado *in vivo* em *L. donovani* no modelo de hamster, 23 exibiu 79 ± 11% de inibição da multiplicação do parasita a 50 mg kg por 5 dias após o sétimo dia de tratamento (Figura 5.7) (SURYAWANSHI *et al*., 2013).

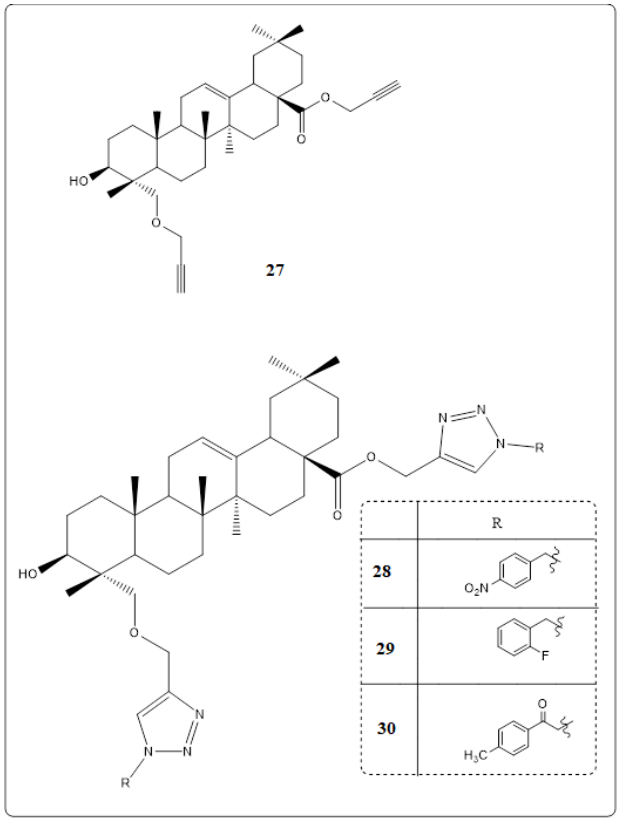
**Figura 5.7.** Composto 23, derivado de fenilheteroterpenos




**Fonte:** SURYAWANSHI *et al*., 2013.

Hernández *et al.* (2017) sintetizou um conjunto de derivados hederagenina (26) modificados no carbonil-28 através da introdução de diferentes grupos como benzil, amina ou heterociclos triazólicos, os derivados sintetizados foram testados para inibição da proliferação de formas amastigotas intracelulares L. infantum. Os derivados 27, 28, 29 e 30 foram altamente eficazes nessa inibição apresentando IC50 28,8, 25,9, 5,6 e 7,4 µM, respectivamente. Esses derivados apresentaram um maior índice de seletividade e baixa toxicidade (27, Toxicidade= 259 µM; SI= 9; 28, Toxicidade= >1000 µM; SI= >38 ;29, Toxicidade= >1000 µM; SI= >178; 30, Toxicidade= >1000 µM; SI= >135) contra as estirpes que foram testados (Figura 5.8) (HERNÁNDEZ *et al*., 2017).

**Figura 5.8.** Compostos hederaginina (26) e derivados

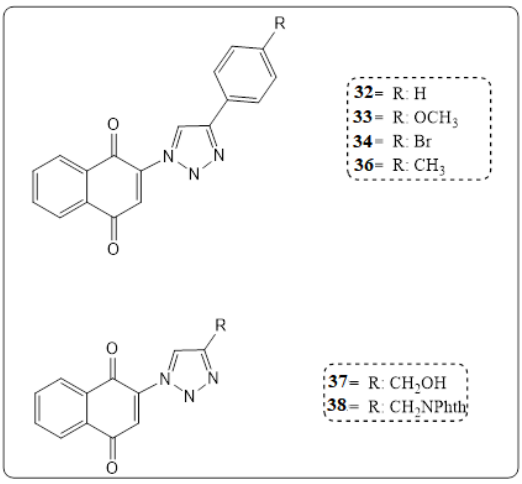



**Fonte:** HERNÁNDEZ et *al.*, 2017.

Foi realizado a síntese de derivados triazolicos naftoquinonicos e suas atividades leishmanicidas foram avaliadas contra formas promastigotas de cepas de *L. infantum* sensíveis e

resistentes a antimônio e *Leishmania amazonenses* (GUIMARÃES *et al.*, 2013). A primeira série de compostos 1,4-naftoquinona 1,2,3-triazol (31) foi o que obteve maior atividade contra todas as cepas de Leishmania (com exceção do composto 35) com valores de IC50 na faixa de 5,8 e 57,8 µM nas linhas celulares estudadas, no entanto, estes compostos foram tóxicos para macrófagos peritoneais, com CC50 na faixa de 5,39 a 50 µM (Figura 5.9).

**Figura 5.9.** Primeira série de compostos derivados triazólicos-naftaquinona




**Fonte:** GUIMARÃES *et al.*, 2013.

## CONCLUSÃO

A demanda de tratamentos inovadores para leishmaniose é alta no cenário de saúde pública necessitando de fármacos mais eficazes e menos nocivos, portanto, o desenvolvimento de novos fármacos contra essas doenças é estratégico sob o ponto de vista econômico e de desenvolvimento científico.

As abordagens descritas nesta revisão visam atender à necessidade de organização das informações advindas de novas pesquisas com a união de informações essenciais para facilitar o desenvolvimento de novos fármacos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


BRASIL, Agência Fiocruz de Notícias. Doenças negligenciadas. Brasília-DF, 2013. Disponível em: https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas. Acessado em: 21 out. 2020.

CROFT, S. L.& COOMBS, G. H. Leishmaniasis - current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. Trends in Parasitology, v. 19, p. 502, 2003.

GUIMARÃES, T.T. *et al*. Potent naphthoquinones against antimony-sensitive and –resistant Leishmania parasites: synthesis of novel *α*- and nor-*α*-lapachone-based 1,2,3-triazoles by cooper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 63, p. 523, 2013.

HERNÁNDEZ, D.R. *et al*. Leishmanicidal and citotoxic activy of hederagenin-bistriazoly derivates. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 140, p. 624, 2017.

MEB, Departamento de Epidemiologia e Bioestatística. Vigilância Epidemiológica das Doenças Negligenciadas e das Doenças Relacionadas à pobreza. Rio de Janeiro- RJ, 2017. Disponível em: http://www.epi.uff.br/wp-content/uploads/2013/08/DOENCAS-neglig-POBREZA-20172.pdf. Acesso em: 21 out. 2020.

MURRAY, H. *et al*. Advances in leishmaniasis. Lancet, v.366, p. 1561, 2005.

OLLINARO, P.L. *et al*. Antileishmanial Structure-Activity Relationships of Synthetic Phospholipids: In Vitro and In Vivo Activities of Selected Derivatives. The Lancet Infectious Diseases, v. 51, p. 763, 2005.

PATEL, J.A. & SHAH, K. Leishmaniasis: a review. Pharmacology Online, v. 2, p. 1, 2008.

PEDRIQUE, B. *et al*.The drug and vacina landscape for neglected diseases(2000-11): a systematic assessment. Lancet Global Health, Publicação, v. 1, e371-9, 2013.

PERTINO, M.W. *et al*. Antiprotozoal activy of triazole derivatives dehydroabietic acid and oleanolic acid. Revista Molecules, v. 22, p. 1, 2017.

ST. GEORGE, S. *et al*. Novel compounds active against Leishmania major. Antimicrobial Agents Chemotheraphy, v. 50, p. 474, 2006.

SURYAWANSHI, S.N. *et al*. Chemotherapy of leishmaniasis. Part XII: Design, synthesis and bioevaluation of novel triazole integrated phenil heteroterpenoids as antileishmanial agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter, v. 23, p.2925, 2013.

WHO. World Health Organization. Disponível em: https://www.who.int/ . Acesso em: 22 nov. 2020.

# CAPÍTULO 6

# INTRODUÇÃO A TÉCNICAS SINTÉTICAS EM QUÍMICA MEDICINAL

*Palavras-chave: Química; Química Medicinal; Técnicas; Revisão*

**FELIPE FIGUERÔA TASSINARI ROCHA MARTINS[1]**
**GABRIEL GOMES MAGALHÃES DE SOUZA[2]**
**RAFAELLA MACHADO DE ASSIS CABRAL RIBEIRO[3]**

1. Acadêmico do Curso de Farmácia da Universidade Federal Fluminense de Niterói, Rio de Janeiro.
2. Acadêmico do Curso de Química Industrial da Universidade Federal Fluminense de Niterói, Rio de Janeiro.
3. Acadêmica do Curso de Engenharia Química da Universidade Federal Fluminense de Niterói, Rio de Janeiro.

## INTRODUÇÃO

A Química Medicinal é uma área antiga, com estipulações de sua criação desde a Antiguidade com Hipócrates e Paracelso, ao se utilizarem do conhecimento, da denominada hoje, Fitoterapia, ao utilizar plantas para diversos tratamentos (BARREIRO & FRAGA, 2015; LIMA & BARREIRO, 2005).

No Egito Antigo também se descobriu que plantas como o alho, girassol e mel também eram utilizados para alguns tratamentos de enfermos. Com o fim da Idade Média e a chegada das Grandes Navegações, uma incessante busca por novas moléculas se destacou, seja para fins de conservação de alimentos como as especiarias ou ainda as tinturas. O que era de difícil obtenção e não se possuía conhecimentos de síntese orgânica para auxiliá-los. Com a chegada da Idade Moderna e a maior elucidação dos patógenos, vias de transmissão e patogênese, a força dos cientistas começou a encontrar um terreno fértil e em 1863 a empresa Bayer, uma empresa farmacêutica, foi criada (BARREIRO & FRAGA, 2015; BRUICE, 2006; BRUNTON *et al.*, 2019; CAREY, 2011; KATZUNG *et al.*, 2017; LIMA & BARREIRO, 2005; RITTER *et al.*, 2016; SOLOMONS & FRYHLE, 2012). Felix Hoffman, da Bayer, no século XIX descobriu o Ácido acetilsalicílico, dando então um marco para a criação da Química Medicinal. A Ciência foi evoluindo, houve a descoberta da morfina, da penicilina que foram cruciais durante a Segunda Guerra Mundial. Com esse "salto tecnológico", aprimoraram-se conceitos, inovando em compostos e a forma de estudá-los, sem uma área definida.

Nos dias atuais, a partir de uma abordagem multidisciplinar e delimitada, a Química Medicinal busca compreender e elucidar as razões moleculares do mecanismo de um fármaco com seu biorreceptor, seja de forma agonista ou antagonista (BARREIRO & FRAGA, 2015; BRUNTON *et al.*, 2019; KATZUNG *et al.*, 2017; LIMA & BARREIRO, 2005; RITTER *et al.*, 2016).

Para isso, o Químico Medicinal utiliza conhecimentos da área de Química Orgânica, Farmacologia e Química Computacional. Visando escolher a melhor rota sintética, purificar os produtos obtidos e determinar as características físico-químicas de uma molécula, o Químico Medicinal utiliza conhecimentos da Química Orgânica. Os estudos de farmacologia são utilizados para que se possa compreender a nível biológico e molecular como esse composto irá atuar, suas formas de inativação e metabolização, ou seja, crucial para que haja a comparação de uma molécula precursora às suas derivações. Afinal, uma molécula pode perder completamente sua atividade ou ainda haver uma melhora significativa em seu desempenho, ou seja, menos tóxico, mais biodisponível, características que devem ser comparadas com seu precursor. A Química Computacional, visa solucionar problemas e prever certas características microscópicas das moléculas (BARREIRO & FRAGA, 2015; BRUICE, 2006; BRUNTON *et al.*, 2019; CAREY, 2011; KATZUNG *et al.*, 2017; LIMA & BARREIRO, 2005; RITTER *et al.*, 2016; SOLOMONS & FRYHLE, 2012).

Esse ramo, portanto, une quase todo o processo de produção de um medicamento, apenas sem a parte da formulação. Nesta revisão será apenas abordada as principais técnicas envolvidas no desenvolvimento de um Fármaco, passando pela elaboração de um composto protótipo.

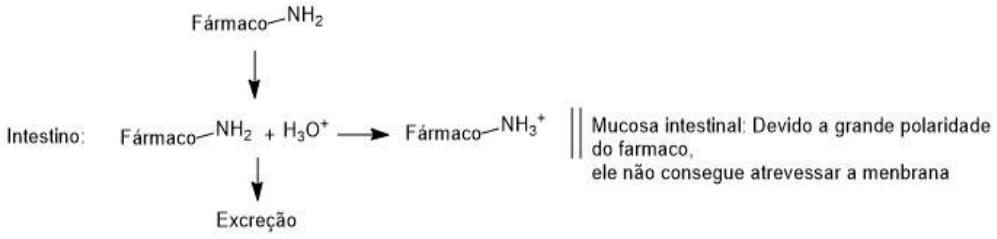
# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Latenciação

Latenciação é um método de desenvolvimento de fármacos que visa gerar uma substância que é em si inativa, mas que se torna ativa dentro do organismo após sofrer uma transformação química. Desta forma, o fármaco está latente e só depois será ativado. Essa estratégia sintética tem por objetivo resolver alguns dos problemas comuns aos fármacos, como baixa solubilidade, baixa biodisponibilidade, alta toxicidade e o transporte do fármaco até o sítio ativo (CHUNG *et al*, 2005).

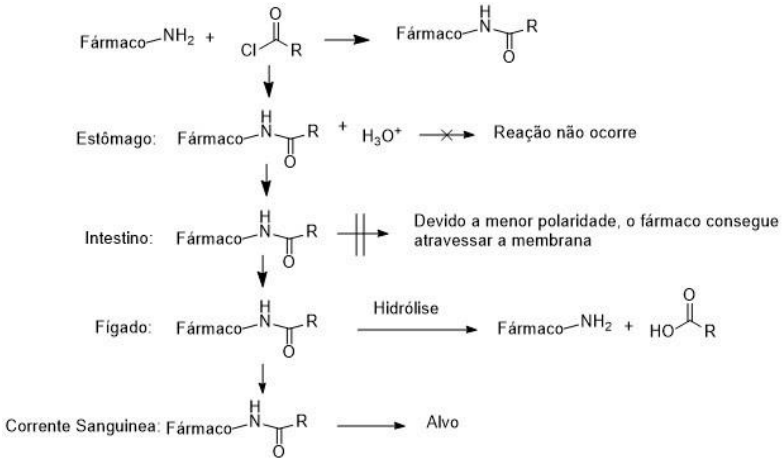
Uma forma mais prática de entender a latenciação é imaginar um fármaco qualquer que tenha um grupo amina livre. Quando esse fármaco atinge o estômago ele é protonado e, nesta forma, apresenta uma carga real e se torna muito mais hidrofílico. Assim, ele pode não conseguir atravessar a mucosa intestinal, afinal ela tem um caráter mais hidrofílico, conduzindo para sua rápida excreção em função da reduzida capacidade de absorção (Figura 6.1).

**Figura 6.1.** Exemplificação hipotética de um fármaco que não atravessa a mucosa intestinal




Entretanto, a transformação química do grupo amina em uma amida, reduzirá a disponibilidade do par de elétrons livre do átomo de nitrogênio, tornando mais difícil a protonação do fármaco e, com isso, o fármaco consegue atravessar a barreira intestinal. Porém, há um problema: o fármaco não é ativo na sua forma de amida. Desta forma, é necessário que o próprio organismo promova a hidrólise do grupo amida para que o mesmo volte a ter atividade (Figura 6.2).

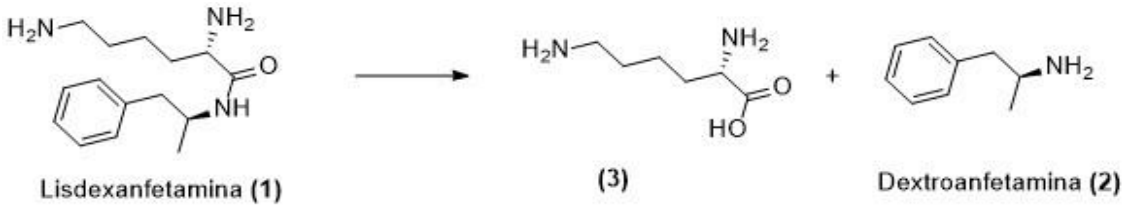
**Figura 6.2.** Exemplificação hipotética de um pró-fármaco



Como exemplificado, é necessário saber como a molécula será metabolizada, pois é isto que transformará o pró-fármaco, uma molécula inativa, em um fármaco, uma molécula ativa. A seguir alguns exemplos de pró-fármacos ou protótipos de pró-fármacos.

O Lisdexanfetamina **(1)** é um fármaco utilizado para tratamento do transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH). Este fármaco sofre hidrólise no sangue liberando a dextroanfetamina **(**Figura 6.3, **2)**, que apresenta a atividade desejada para tratar o TDAH (MATTOS, 2014).

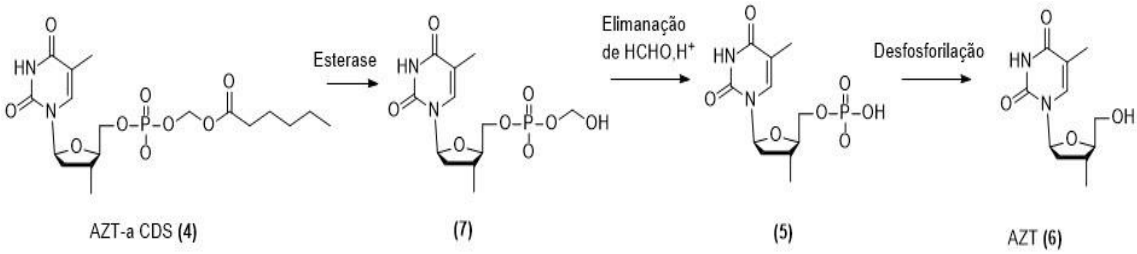
**Figura 6.3.** Hidrólise do pró-fármaco Lisdexanfetamina **(1)** liberando o fármaco dextroanfetamina **(2)**




**Fonte:** MATTOS, 2014.

O Figura 6.4 mostra as etapas de liberação do AZT-a CDS **(4)** (zidovudina acoplado ao sistema de transporte aniônico). Este fármaco é utilizado no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA, do inglês *AIDS*), causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Tal processo de liberação é promovido pelas enzimas endógenas. Tem-se a primeira etapa correspondente a hidrólise que libera o AZT fosforilado (zidovudina fosforilada) **(5)** e desta forma inativo. Posteriormente ocorre a desfosforilação liberando o AZT (zidovudina) **(6)** (SOMOGYI *et al*, 2004).

**Figura 6.4.** Etapas de liberação do fármaco AZT **(6)** a partir do pró-fármaco AZT-a CDS **(4)**

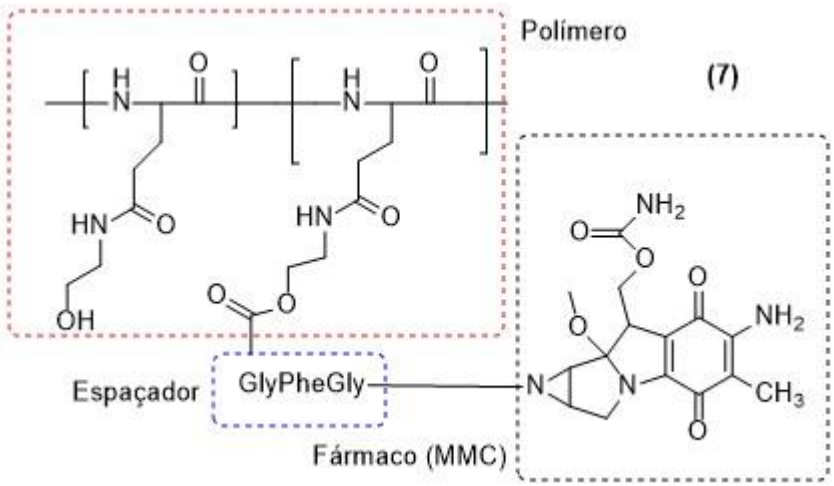



**Fonte:** SOMOGYI *et al*, 2004.

Uma aplicação desta técnica é no transporte de fármacos para o tratamento de câncer, pois é muito comum que os quimioterápicos sejam tóxicos. Entretanto, em vez de se usar um fragmento de molécula como transportador, usa-se um polímero. Além disso, o polímero pode ser funcionalizado de forma a melhorar os quatro parâmetros citados no início. Ademais, um espaçador pode ser colocado entre o polímero e o fármaco e, desta forma tem-se um melhor controle da

liberação do mesmo. Como exemplo, tem-se o pró-fármaco **(7)** que libera o fármaco quimioterápico Mitomicina C (Figura 6.5) (GAO, 2018).

**Figura 6.5.** Pró-fármaco polimérico Mitomicina C com Poli[N5-(2-hidroxietil)-L-glutamina] como polímero e oligopeptídeos como espaçador **(7)**



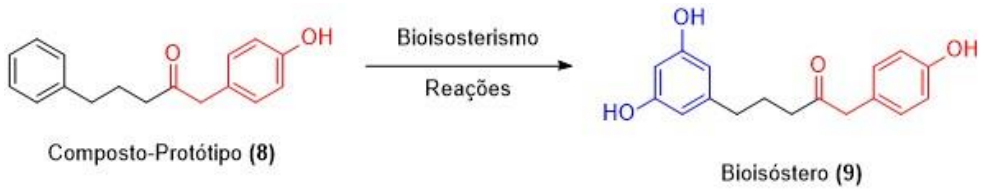

**Fonte:** GAO, 2018.

## Bioisosterismo

Uma das técnicas mais conhecidas e difundidas da Química Medicinal é o bioisosterismo (Figura 6.6). É uma estratégia que utiliza conhecimentos de diversas áreas, como a Química Orgânica, onde se estuda as propriedades físicas e químicas e ainda a síntese de novas moléculas. Utiliza conhecimento da farmacologia, que busca compreender e elucidar a interação entre uma substância e um indivíduo. O principal centro de estudo dessa técnica está na interação entre as moléculas e seus alvos em organismos vivos e sua forma de obtê-las (BARREIRO & FRAGA, 2015; BRUNTON *et al.*, 2019; KATZUNG *et al.*, 2017; LIMA & BARREIRO, 2005; RITTER *et al.*, 2016).

O Bioisosterismo ainda pode ser encontrado em organismos vivos, onde já se constatou-se bactérias que podem utilizar diferentes compostos em seu ciclo metabólico de acordo com sua disponibilidade no ambiente, gerando derivados. Há Bioisosterismo dentro do organismo humano também, onde os aminoácidos podem ser enquadrados como uma *Sequência Bioisostérica* (BARREIRO & FRAGA, 2015; LIMA & BARREIRO, 2005).

**Figura 6.6.** Exemplo de bioisosterismo, destaque em vermelho para o grupo farmacofórico e em azul a troca bioisostérica



De início, o estudo parte de uma molécula precursora, o *Composto-Protótipo* **(8)**, que gerará a sequência bioisostérica. O composto de partida pode ser uma molécula inédita ainda em fases de testes biológicos ou ainda pode ser um fármaco que se deseja melhorar e então sofrerão modificações em seu arcabouço molecular, um exemplo pode ser observado no Esquema 5 (BARREIRO & FRAGA, 2015; LIMA & BARREIRO, 2005).

Essas modificações podem ter diversas finalidades: Uma nova rota sintética, uma melhora no desempenho em algum estágio de desenvolvimento do fármaco, como por exemplo na sua inativação, excreção ou solubilidade ou ainda estabilidade, visto que diversos fármacos podem ter uma baixa disponibilidade quando comparados aos seus bioisósteros (BARREIRO & FRAGA, 2015; BRUNTON *et al.*, 2019; KATZUNG *et al.*, 2017; LIMA & BARREIRO, 2005; RITTER *et al.*, 2016).

As moléculas, que possuem atividade biológica, possuem os chamados grupos Farmacofóricos, grupos esses que dão a atividade da molécula (Figura 6.6). São os fragmentos, partes das moléculas que podem desencadear uma resposta biológica ou é necessário para que haja a interação com um certo receptor. Os grupos Farmacofóricos podem ser modificados por seus equivalentes, ao se realizar uma "troca bioisostérica" (Figura 6.6). Evita-se mudanças muito abruptas pois a molécula pode perder sua atividade, por isso, como esses grupos vêm com diversas outras partes em seu arcabouço molecular, pode-se realizar alterações diversas nesses locais. Mudanças mínimas podem acarretar o aumento significativo da atividade do composto ou ainda sua inativação (BARREIRO & FRAGA, 2015; LIMA & BARREIRO, 2005).

## Simplificação Molecular

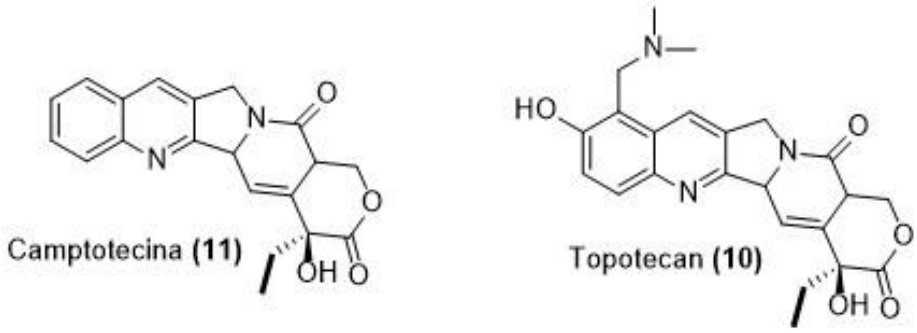
Essa técnica de modificação molecular consiste na otimização de protótipos a partir da síntese de estruturas análogas mais simples, as quais preservam seus grupos farmacofóricos, além de manter ou melhorar suas propriedades farmacológicas (BARREIRO & FRAGA, 2015; CERA & PANCOTE, 2012).

A princípio, quando ainda não havia o conhecimento das contribuições farmacofóricas presentes nas substâncias, essa estratégia foi adotada para reduzir a complexidade estrutural de compostos naturais, contudo, com os inúmeros estudos ao longo do tempo, a partir da noção obtida acerca da relação entre estrutura química e atividade (SAR), foi viabilizado o seu emprego tanto em compostos naturais como sintéticos (BARREIRO, 2002; GARCÍA *et al.*, 2010).

Dessa forma, esse método pode vir a possibilitar aumento na solubilidade, bem como redução na toxicidade do fármaco usado como protótipo, potencializando, assim, o seu efeito farmacológico. Um exemplo disso é a obtenção do topotecan, análogo modificado da camptotecina, um alcaloide quinolínico isolado a partir da planta chinesa *Camptotheca acuminata*, por meio de simplificação molecular. A tentativa era de manter as já conhecidas propriedades antitumorais desta última substância citada, melhorando sua biodisponibilidade, dado que seu emprego terapêutico era prejudicado por conta de sua baixa solubilidade em água, além de severa toxicidade. Então, o derivado foi obtido a partir de substituição no sistema quinolínico, através da funcionalização nos carbonos C-9 e C-10, como observado na Figura 6.7.

Logo, apresentando potência similar a camptotecina **(11)** em relação a atividade antitumoral, além de se mostrar extremamente ativo sobre a DNA topoisomerase-I com ação em câncer de pulmão, ovário e colorretal, bem como ser solúvel em água, dada a sua formulação como cloridrato, o topotecan **(10)** pôde ingressar no mercado em 1996 (BARREIRO & FRAGA, 2015; BARREIRO, 2009a; ZUFÍA *et al.*, 2001).

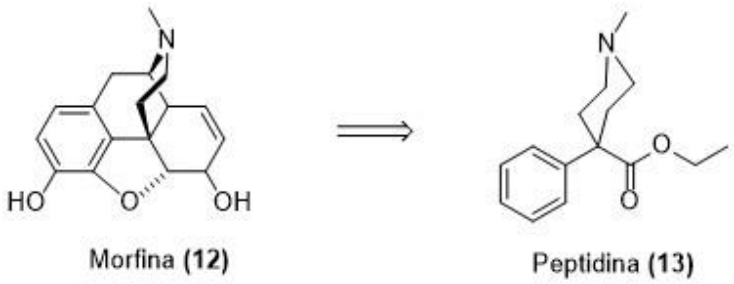
**Figura 6.7.** Estrutura química da camptotecina **(11)** e topotecan **(10)**




Além disso, um outro exemplo relevante é a morfina, um analgésico hipnótico pertencente ao grupo dos opioides. A morfina é um alcaloide originalmente isolado de *Papaver somniferum* (Papaverácea) pelo farmacêutico alemão Friedrich Wilhelm Adam Sertürner, em 1804. Esse é um composto tetracíclico com cinco carbonos quirais, o que a torna estruturalmente complexa, como é perceptível através da Figura 6.8 (BARREIRO, 2002; BARREIRO *et al.*, 2011).

Esse fármaco **(12)** deu origem aos analgésicos da classe das 4-fenilpiperidinas, o que revela o sucesso do uso da simplificação molecular a partir de protótipos naturais. Ilustrando então essa classe, é possível observar que a peptidina **(13)**, presente na Figura 6.8, apresenta sistema piperidínico similar ao da morfina **(12)**, no qual o carbono C-4, quaternário, está ligado ao anel benzênico da molécula, sendo esse o grupo farmacofórico clássico dos hipnoanalgésicos opiáceos, de emprego mais efetivo e seguro (BARREIRO, 2002; BARREIRO, 2009b).

**Figura 6.8.** Estrutura química da morfina **(12)** e peptidina **(13)**

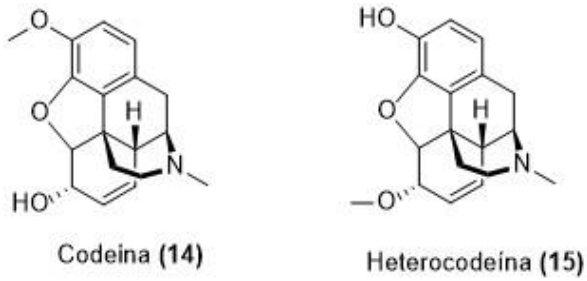



**Fonte:** BARREIRO, 2002.

Ademais, a morfina **(12)** compõe um ótimo exemplo da importância do grupo metila e como a sua introdução ou remoção desse pequeno fragmento pode mudar significativamente a atividade farmacológica de um composto bioativo, levando a diferentes perfis farmacocinéticos e

farmacodinâmicos. Referente a isso, temos por exemplo, a codeína **(14)** e a heterocodeína **(15)**, apresentadas na Figura 6.9, que, por *O*-metilação da hidroxila fenílica da morfina **(12)** nos carbonos C-3 e C-6, respectivamente, apresentam diferenças em suas atividades.

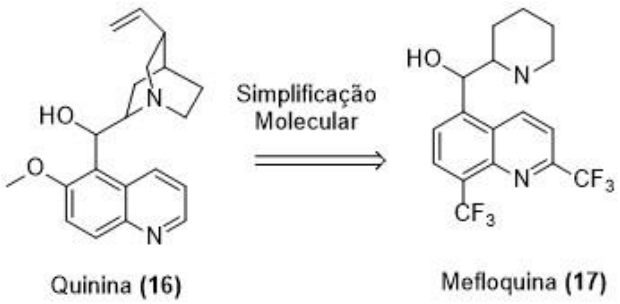
**Figura 6.9.** Estrutura da codeína **(14)** e da heterocodeína **(15)**




Sendo assim, a introdução do grupo metila na formação da codeína **(14)** reduz a interação com os receptores opioides, além de que, se tratando da heterocodeína **(15)**, essa apresenta 2 vezes mais atividade *in vivo* que a morfina **(12)**, bem como, considerando que sua atividade *in vitro* seja equivalente, a metilação deve impactar nos parâmetros farmacocinéticos, levando a um aumento da lipofilicidade e facilitando sua passagem através do sistema nervoso central (BARREIRO *et al.*, 2011; LEMKE *et al.*, 2012)

Por fim, um outro exemplo partindo de compostos naturais é a quinina **(16)**, advinda da casca de *Cinchona officinalis*, que, por simplificação molecular planejada, deu origem a derivados antimaláricos levando em conta a classe dos hidroximetilquinolínicos, como, por exemplo, a mefloquina **(17)**. Esse processo se deu, basicamente, a partir da substituição do anel rubânico da quinina **(16)** para o sistema piperidínico (Figura 6.10), onde, por razões metabólicas, há a presença dos substituintes triflúormetila nos carbonos 2 e 8 do sistema quinolínico (GARCÍA *et al.*, 2010).

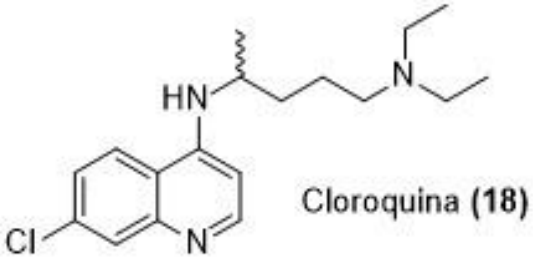
**Figura 6.10.** Estrutura química da quinina **(16)** e da mefloquina **(17)**




**Fonte:** BARREIRO, 2002.

Contudo, com o início da Segunda Guerra Mundial e consequente interrupção do fornecimento de quinina **(16)**, alternativas sintéticas começaram a ser buscadas. Desse modo, com o conhecimento básico acerca da relação entre estrutura química e atividade dessa molécula, novos agentes antimaláricos, derivados de 4-aminoquinolinas, foram descobertos, como foi o caso da cloroquina (18, Figura 6.11) (BARREIRO *et al.*, 2011).

**Figura 6.11.** Estrutura da cloroquina **(18)**




Logo, nota-se que o planejamento e uso da simplificação molecular podem ser realizados por diversos motivos, bem como vêm sendo abundantemente empregados na descoberta de novos fármacos, os quais podem obter as mais variadas atividades. Então, preservando as subunidades farmacofóricas, é possível não só estudar a relação estrutura química e atividade de derivados de um composto bioativo tido como protótipo, como de fato simplificar estruturalmente tais protótipos e otimizá-los, visando seu melhor efeito.

## Hibridação Molecular

A hibridação molecular é uma técnica sintética consistindo na união de dois ou mais grupos farmacofóricos de conhecida atividade biológica. Com esta união espera-se gerar um fármaco que tenha melhor atividade que os fármacos originais. Além disso, deseja-se que tenha melhor perfil farmacocinético e farmacodinâmico (SUNIL *et al.*, 2019).

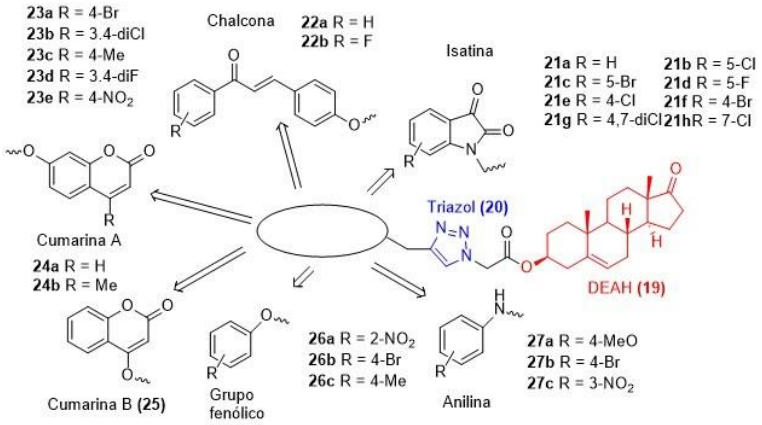
Por ser composto de dois grupos farmacofóricos, ele tem maior capacidade de ser multi alvo e de apresentar menor interação medicamentosa se comparado aos fármacos originais administrados em uso conjunto ao paciente (SUNIL *et al.*, 2019)

Importante notar que os fármacos híbridos não são pró-fármacos, pois não dependem de alterações (clivagem, redução etc.) feitas pelo organismo para se tornarem ativos (BOSQUESI *et al.*, 2011).

Como a hibridização busca a união dos grupos farmacofóricos e não necessariamente do fármaco inteiro, pode ocorrer da diminuição do perfil farmacocinético ou farmacodinâmico devido a supressão de um ou mais grupos funcionais que estejam presentes no fármaco, mas não correspondam ao grupo farmacológico per se (SUNIL *et al*, 2019). Esta união pode ser feita diretamente, ou seja, unindo por meio de uma ligação carbono-carbono, desta forma diz-se que os grupos estão fundidos. Pode-se também usar outras moléculas, chamadas de espaçadores, com a função de aumentar a distância entre os grupos farmacofóricos. Além disso, o próprio espaçador pode apresentar algum tipo de atividade ou aumentar a afinidade do fármaco (PAWELCZYK *et al.*, 2018).

Como exemplo disso, tem-se os protótipos desenvolvidos por Yu *et al.* (2016), utilizando Desidroepiandrosterona (DHEA) **(19)** como grupo farmacofórico principal, 1,2,3 triazol **(20)** como espaçador e uma variedade de outros compostos com atividade biológica conhecida a fim de produzir um híbrido com melhor atividade biológica, como pode ser observado no Figura 6.12 (YU *et al*, 2016).

**Figura 6.12.** Híbridos moleculares sintetizados




**Fonte:** YU *et al.*, 2016.

Como pode ser observado na Tabela 6.1, não é porque se utilizou fragmentos de moléculas com atividade biológica que o híbrido produzido terá boa atividade biológica. Entretanto, percebe-se a eficiência da técnica pela possibilidade de gerar protótipos com bons valores de $IC_{50}$, como a substância **12 g**.

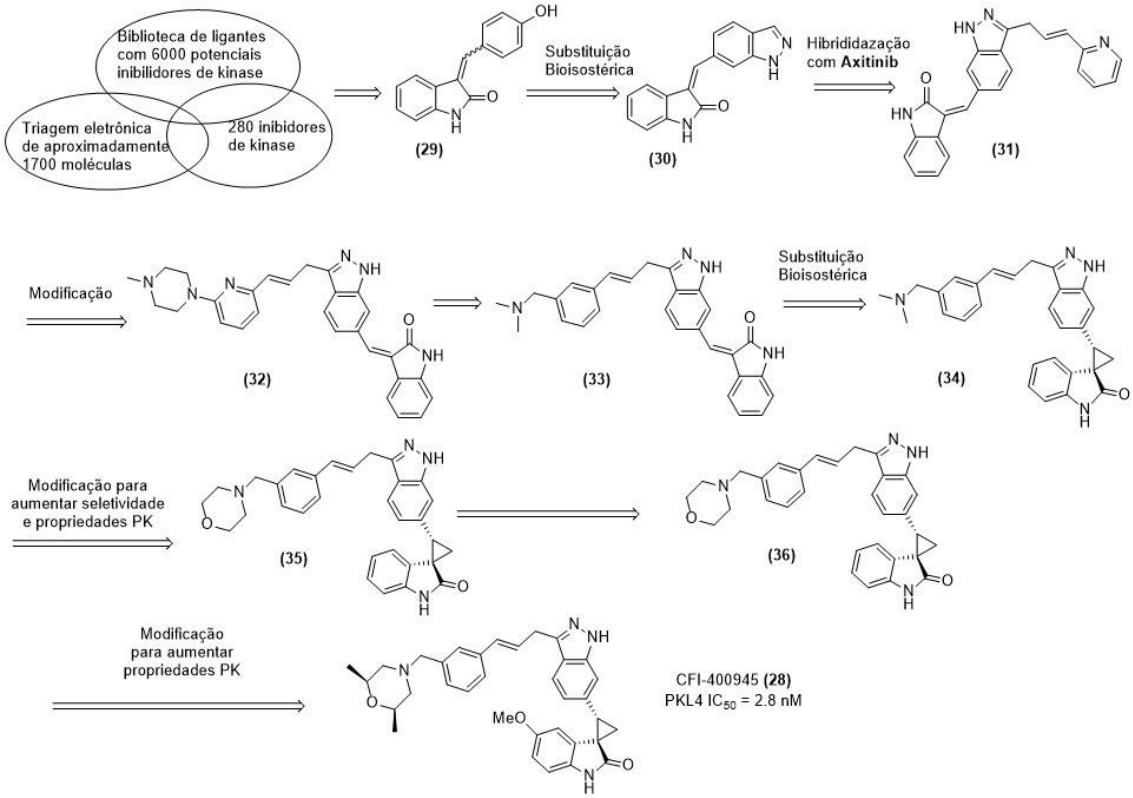
**Tabela 6.1.** $IC_{50}$ dos híbridos moleculares sintetizados

| Composto | $IC_{50}(\mu M)$ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | MCF-7 | U87 | SH-SY5Y | MGC-803 | EC109 |
| **12a** | >128 | 45.61±1.66 | 8.62±0.94 | >128 | >128 |
| **12b** | >128 | 47.86±1.86 | 7.32±0.87 | 57.77±1.32 | 61.72±1.79 |
| **12c** | >128 | 39.21±1.59 | 10.3±0.87 | 32.49±1.51 | 44.11±1.65 |
| **12d** | >128 | 91.19±1.96 | 9.25±0.97 | 58.85±1.77 | >128 |
| **12e** | >128 | 33.07±1.52 | 18.51±1.27 | >128 | 123.99±2.09 |
| **12f** | >128 | 21.31±0.58 | >128 | 26.38±1.42 | 78.35±1.31 |
| **12g** | 32.25±1.51 | 9.57±0.98 | 4.06±0.61 | 5.95±0.77 | 20.77±1.73 |
| **12h** | 13.29±1.12 | 20.82±1.32 | 14.6±1.16 | 8.74±0.94 | 84.61±1.93 |
| **13a** | >128 | >128 | 75.0±1.88 | >128 | 117.59±2.07 |
| **13b** | 91.47±1.97 | >128 | 46.45±1.67 | >128 | >128 |
| **14a** | 111.88±2.05 | >128 | 72.56±1.86 | >128 | 79.81±1.33 |
| **14b** | >128 | >128 | 36.64±1.56 | >128 | >128 |
| **14c** | 73..34±1.87 | >128 | 50.06±1.7 | >128 | >128 |
| **14d** | 92.58±1.97 | >128 | 42.07±1.62 | >128 | >128 |
| **14e** | >128 | >128 | >128 | 99.46±2.00 | >128 |
| **15a** | >128 | 43.71±1.64 | 54.85±1.74 | >128 | >128 |
| **15b** | >128 | 47.43±1.68 | 49.47±1.70 | >128 | >128 |
| **16** | >128 | 40.02±1.6 | >128 | >128 | >128 |
| **17a** | 45.12±1.65 | >128 | 65±1.81 | 51.34±1.71 | 49.84±1.70 |
| **17b** | 93.18±1.97 | 30.31±1.48 | 22.72±1.36 | 48.23±1.68 | 20.99±1.32 |
| **17c** | 38.6±1.59 | 18.46±1.14 | 26.95±1.43 | 21.61±1.34 | 23.89±1.38 |
| **18a** | 21.27±1.05 | 96.53±1.52 | 69.76±1.84 | 11.56±1.06 | 24.73±0.85 |
| **18b** | 27.6±1.39 | 86.72±0.89 | 59.41±1.77 | 19.42±1.35 | 37.12±1.43 |
| **18c** | 45.2±1.12 | >128 | >128 | 28.62±1.46 | 55.43±1.84 |

**Fonte:** YU *et al*, 2016.

Além disso, o objetivo central de toda e qualquer técnica é produzir um fármaco. Desta forma, pode-se e deve-se usar uma combinação de várias técnicas para além de otimizações para produzir o fármaco. Como exemplo tem-se a molécula CFI-400945 **(28)** que entrou na 1 fase de testes clínicos anticâncer de uso oral. Na qual se percebe o uso não só da hibridização, mas como do bioisosterismo e etapas de otimização. No Figura 6.13 percebe-se as várias etapas a fim de desenvolver e otimizar a molécula. Sendo isso, o procedimento comum no desenvolvimento de fármacos e portanto, explicando a demora e alto custo (YU *et al*, 2015).

**Figura 6.13.** Etapas no desenvolvimento de protótipo de fármaco CFI-400945 **(28)**




**Fonte:** YU *et al*, 2016.

## Síntese de Séries Homólogas

Uma outra estratégia de modificação molecular dentro da Química Medicinal é a Síntese de Séries Homólogas. Esse conceito de séries homólogas foi introduzido na Química Orgânica por Charles Frédéric Gerhardt e significa que as moléculas presentes em tal conjunto diferem entre si pela presença de grupo metilênico (CERA & PANCOTE, 2012; WERMUTH, 2008).

Vale ressaltar que esse processo de homologação pode gerar profundos efeitos na potência e atividade farmacológica do protótipo em questão. Isso porque a inserção do já citado grupo metilênico cria uma molécula com maior dimensão, além de com caráter lipofílico diferente do da substância de partida, influenciando nas suas propriedades de absorção, distribuição e excreção (LEMKE *et al.*, 2012).

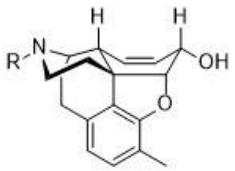
Com isso então, dependendo de outras características desse análogo, ele poderá apresentar um aumento ou diminuição na sua atividade farmacológica, dada a maior lipofilicidade e, consequente, melhor penetração nas membranas, ou menor hidrossolubilidade e sua consequente má distribuição (AVER *et al.*, 2015).

Sendo assim, há três tipos de homólogos possíveis de se obter: Homólogo linear, quando o grupo metilênico é inserido em uma cadeia; Homólogo cíclico, quando o grupo metilênico é inserido em um sistema cíclico e, por fim, Homólogo ramificado, quando há a inserção de um grupamento metila (BARREIRO & FRAGA, 2015; CERA & PANCOTE, 2012).

Um exemplo, do primeiro tipo citado de homólogos, é uma série de análogos *N*-alquil da morfina (12), a qual mostra que o aumento na cadeia da molécula afeta diretamente na ação dela, podendo denominá-la então como agonista ou antagonista (LEMKE *et al.*, 2012).

Sendo assim, ilustrado a partir do Figura 6.14, é possível notar que o acréscimo de grupo metilênico gera, de fato, diferentes atividades. No caso da molécula *N*-propil normorfina ($R=CH_2CH_2CH_3$), há uma diminuição na atividade agonista e um aumento na antagonista. Já no caso da *N*-butil normorfina ($R=CH_2CH_2CH_2CH_3$), não há atividade. E, por fim, realizando mais aumentos na cadeia, a atividade crescente observada nos compostos é a antagonista.

**Figura 6.14.** Efeito do acréscimo de grupo metilênico na atividade das moléculas




| R | Atividade Farmacológica |
|---|---|
| $-CH_3$ | Anestésico (morfina) |
| $-CH_2CH_3$ | Opioide agonista de atividade reduzida |
| $-CH_2CH_2CH_3$ | Opioide antagonista de atividade aumentada |
| $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ | Inativo como opioide agonista ou antagonista |
| $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ | Opioide antagonista de atividade aumentada |
| $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ | |

**Fonte:** LEMKE *et al.*, 2012.

Logo, é perceptível que a síntese de séries homólogas produz efeitos não só estruturalmente, bem como na ação farmacológica da molécula. Desse modo, se a cadeia alquílica está diretamente ligada a uma interação com o alvo biológico, como ocorre no exemplo acima, então o tipo de alteração realizada nela pode influenciar na interação também. Então, torna-se necessário atentar para essas pequenas modificações estruturais, as quais são de extrema importância no planejamento de análogos, dado que considera também as modificações relacionadas às atividades farmacológicas.

## CONCLUSÃO

Em resumo, nota-se a importância da utilização das mais diversas técnicas como forma de produzir um fármaco com melhor atuação possível, a partir de certos parâmetros tais como

toxicidade, solubilidade e biodisponibilidade. Sendo assim, como previamente visto, podem ser realizadas, por exemplo: A síntese de uma substância que somente se tornará ativa no organismo após uma transformação química, de bioisósteros, de análogos estruturalmente mais simples e de moléculas a partir da união de dois ou mais grupos farmacofóricos com atividades biológicas de antemão conhecidas. Dessa forma, todo o processo de planejamento e produção de um novo fármaco ganha o seu devido destaque, dado todo o estudo envolvido para escolha da melhor ou das melhores técnicas sintéticas a serem utilizadas, visando sempre uma ação mais satisfatória de novos compostos.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AVER, G.M. *et al*. Métodos de Obtenção de Fármacos Sob a Óptica da Química Medicinal. Revista Conhecimento Online, v. 2, p. 63, 2015.

BARREIRO E.J. & FRAGA, C.A.M., Techbooks. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BARREIRO, E.J. A Química Medicinal e o Paradigma do Composto Protótipo. Revista Virtual de Química, v. 1, p. 26, 2009a.

BARREIRO, E.J. Biodiversidade: Fonte Potencial Para a Descoberta de Novos Fármacos. Química Nova, v. 32, p. 679, 2009b.

BARREIRO, E.J. Estratégia de Simplificação Molecular no Planejamento Racional de Fármacos: A Descoberta do Novo Agente Cardioativo. Química Nova, v. 25, p. 1172, 2002.

BARREIRO, E.J. *et al*. The Methylation Effect in Medicinal Chemistry. Chemical Reviews, v. 111, p. 5215, 2011.

BOQUESI, P.L. *et al*. Anti-inflammatory drug design using a molecular hybridization approach, Pharmaceuticals, v. 4, p. 1450, 2011.

BRUICE, P.Y. Prentice Hall. Química Orgânica. São Paulo: LTC Livros Técnicos e Científicos, v. 1 e 2, 2006.

BRUNTON, L. *et al*. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman. Porto Alegre: Editora AMGH Ltda., 2019.

CAREY, F.A. Química Orgânica. Porto Alegre: Editora AMGH Ltda., v. 1 e 2, 2011.

CERA, T. P. & PANCOTE, C. G. Planejamento de Fármacos. Revista Científica Unilago, v. 11, p. 137, 2012.

CHUNG, M.C. *et al*. Latenciação e Formas Avançadas de Transporte de Fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 41, p. 155, 2005.

GAO, Y. Introduction and Synthesis of Polymeric Prodrugs. MOJ Bioequivalence & Bioavailability, v. 5, p. 125, 2008.

GARCÍA, C. *et al*. Enhancement of Antiproliferative Activity by Molecular Simplification of Catalpol. Bioorganic and Medicinal Chemistry, v. 18, p. 2515, 2010.

KATZUNG, B. *et al*. Farmacologia Básica e Clínica. Porto Alegre: Editora AMGH Ltda., 2017.

LEMKE T.L., *et al*. Editora Lippincott Williams and Wilkins. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7ª edição, Filadélfia, 2012.

LIMA, L.M. & BARREIRO, E.J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. Current Medicinal Chemistry. v. 12, p. 23, 2005.

MATTOS, P. Dimesilato de Lisdexanfetamina No Tratamento Do Transtorno Do Déficit de Atenção e Hiperatividade: Farmacocinética, Eficácia e Segurança Em Crianças e Adolescentes. Revista de Psiquiatria Clínica, v. 41, p. 34, 2014.

PAWELCZYK, A. *et al*. Molecular consortia-various structural and synthetic concepts for more effective therapeutics synthesis, International Journal of Molecular Sciences, v. 19, p. 1, 2018.

RITTER, J. *et al*. Rang & Dale: Farmacologia. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2016.

SOARES, B.G. *et al*. Química Orgânica: Teoria e técnicas de purificação e Identificação de Compostos Orgânicos. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1988.

SOLOMONS, T.W.G. & FRYHLE, C.B. Textbooks. Química Orgânica. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, 2012.

SOMOGYI, G. *et al*. Metabolic Properties of Phosphonate Esters. Pharmazie, v. 59, p. 378, 2004.

SUNIL, R. *et al*. Molecular Hybridization - An Emanating Tool in Drug Design, Medicinal Chemistry (Los Angeles), v. 9, p. 93, 2019.

WERMUTH, C.G. Molecular Variations in Homologous Series: Vinylogues and Benzologues. The Practice of Medicinal Chemistry, p. 175, 2008.

YU, B. *et al.*, Efficient synthesis of new antiproliferative steroidal hybrids using the molecular hybridization approach, European Journal of Medicinal Chemistry, v. 117, p. 241, 2016.

YU, Z. *et al*. Discovery of orally active anticancer candidate CFI-400945 derived from biologically promising spirooxindoles: Success and challenges. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 95, p. 35, 2015.

ZUFÍA, L. *et al*. Separation Methods for Camptothecin and Related Compunds. Journal of Chromatography B, v. 764, p. 141, 2001.

# CAPÍTULO 7

## ISOTRETINOÍNA: REGULAMENTAÇÃO E CARACTERÍSTICAS

*Palavras-chave: Isotretinoína; Regulamentação; Características*

GUSTAVO HENRIQUE SILVA SIDRIM[1]
TALES NOGUEIRA FONSECA[2]
ISADORA CHRISTINA TAVARES LAIZO[1]
LUANA CIMINI DE OLIVEIRA[1]
THAÍS FERNANDES THEOPHILO DE ALMEIDA RODRIGUES[1]
LARISSA ALVES ROCHA[1]
DANIEL BARBOSA MARQUES SILVA[1]
RAPHAEL NARDELLI DE MATTOS[1]
LEANDRO JOSÉ REZENDE RUBIM[1]
CAROLINA DE PAULA BATISTA DUARTE[1]
ANA PAULA DINIZ GONÇALVES DRUMOND[1]
ELZY LORENA PEREIRA MACIEL[1]
KELVIN BOTELHO NUNES[1]

1. Discente do Curso de Medicina da FAMINAS BH.
2. Discente de Medicina da UFSJ.

## INTRODUÇÃO

O uso racional de medicamentos, de acordo com a definição estipulada na Conferência Mundial sobre uso racional de medicamentos em Nairobi, 1985, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), é quando o paciente utiliza os devidos medicamentos necessários para melhorar ou estabilizar sua situação clínica na dose e no tempo adequado ás suas necessidades, contando com um custo acessível e com a orientação de um profissional de saúde (OMS, 1985). A isotretinoína é um medicamento cada vez mais utilizado por adolescentes com diagnóstico de acne vulgar. Trata-se de um medicamento que requer acompanhamento terapêutico devido aos graves eventos adversos descritos na literatura. É um medicamento disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e faz parte dos medicamentos do Componente Especializado da Política de Assistência Farmacêutica (GOULART, 2013).

Diante do exposto e visando obter mais informações sobre o tema abordado, objetiva-se com este estudo elaborar um material educativo visando à promoção do uso racional de isotretinoína no tratamento da acne. Além disso, objetiva-se também, descrever os fatores sociais, culturais e econômicos que estão associados ao uso dessa substância, bem como descrever a estrutura, funções e características gerais do sistema epitelial por se tratar do local de ação do referido medicamento. Será abordado também neste trabalho a estrutura química da Isotretinoína e suas propriedades físico-químicas.

## MÉTODO

Será realizada revisão da literatura sobre o "Uso Racional de Medicamentos" especificando a Isotretinoína, a partir dos órgãos que regulamentam a Legislação Brasileira de Medicamentos. Foram utilizados como base livros acadêmicos da área farmacêutica, seleção de artigos e teses por meio das plataformas virtuais: Biblioteca Virtual de Saúde, PubMed. Foram encontrados artigos científicos por meio da utilização dos descritores: "Isotretinoína", "acne vulgar", "efeitos adversos", "educação em saúde". Utilizamos como método de exclusão aqueles artigos que o texto não estava disponível gratuitamente, e como método de inclusão artigos no idioma português.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ainda no início do século XIX, a maioria dos medicamentos provinha de origem natural e natureza desconhecida, sendo que a posologia era o diferencial entre o medicamento e o veneno. Dessa maneira, foi criada no Brasil a legislação para o uso racional de isotretinoína. Portanto, essa substância se encaixa no quadro de medicamentos que precisam de prescrição para ser aviada, e ela tem seu uso controlado pela Portaria n.º 344, de 12 de maio de 1998, sendo que esta aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. De acordo com a portaria, para conseguir retirar a medicação, é preciso entregar dois termos: a notificação de receita C2 e o termo de consentimento de risco/pós informação (ANVISA, 1998).

## Função da isotretinoína

A isotretinoína é uma medicação que faz parte do painel de tratamento da Acne vulgar. A acne tem sido atualmente tratada com maior atenção e consideração, devido aos atuais conceitos de que a estética não bem aceita pode causar sentimentos de frustração, baixa autoestima e irritação. O grupo mais afetado pelos impactos sociais da acne são as mulheres e os doentes com percepção subjetiva de maior gravidade de tal problema. Foi observado que pacientes que apresentavam acne mais severa tinham cerca de duas vezes mais chances de apresentar problemas psicológicos (TEIXEIRA *et al*., 2012).

Apesar de eficaz, foram relatados casos em que o uso desse retinóico pode causar alterações comportamentais, incluindo a depressão, apresentando diminuição de produtividade, tristeza a maior parte do dia durante longo período, perda de interesse por atividades consideradas antes prazerosas pelo indivíduo acometido pelo problema, diminuição ou aumento do apetite, baixa ou aumento do peso corporal, insônia ou excesso de sono, tentativas de suicídio, entre vários outros fatores que podem alterar significativamente a interação social do indivíduo (BREMNER & MCCAFFERY, 2008).

Após o uso da isotretinoína, há melhora na qualidade de vida dos pacientes tratados, relacionados diretamente à melhora da aparência, mesmo com as alterações de humor observadas. Essa elevação na qualidade de vida pode, também, causar declínio nos casos de depressão anteriormente observados nos pacientes usuários do retinoide (FAKOUR *et al.*, 2014). Porém, deve ser realizado o tratamento com rigoroso acompanhamento médico, não devendo haver prescrição do medicamento levianamente, somente nos casos em que houver real necessidade de uso, pois além das alterações comportamentais, as quais foram relatadas anteriormente, também são observadas algumas reações adversas provenientes do uso do medicamento, como alterações nas funções hepáticas e alterações oftálmicas (MAGIN *et al.*, 2005).

O paciente deve ter clara consciência dos riscos proveniente do tratamento com a isotretinoína, e deve ter assinado o termo de consentimento de risco, não fazendo uso do medicamento sem o acompanhamento médico adequado. Uma das grandes dificuldades também encontradas foi o fato que com a popularização do uso aumentou a procura de muitos indivíduos, com acne em grau mais amenizado, pelo tratamento com o ácido retinóico sem real necessidade. O incentivo ao uso desse medicamento a essas pessoas, levando em consideração apenas questões econômicas, pode ser considerada uma grande falha ética (ANVISA, 1998).

## Características da pele: Órgão afetado pela Acne e mecanismo de ação da isotretinoína sobre esse órgão

A pele é o maior órgão do organismo humano, recobrindo cerca de 2 metros quadrados do corpo e forma uma barreira sendo assim o principal protetor contra o meio externo, desempenha também diversas funções de comunicação e controle dos organismos. As principais camadas da pele incluem a epiderme, derme e a hipoderme. A epiderme é formada por células epiteliais de revestimento onde as células se dispõem em folhetos que recobrem a superfície externa do corpo. No caso da epiderme as células epiteliais apresentam uma intensa adesão mútua por meio de interdigitações (WILLIAMS & KUPPER, 1996; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A superfície da pele seca é revestida por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. Neste epitélio as células das camadas mais superficiais morrem, perdem suas organelas e seu citoplasma é ocupado por grande quantidade de queratina. Essa camada de queratina confere grande proteção à superfície da pele e impede a perda de líquido. Já as células mortas descamam gradativamente (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A derme é a camada da pele formada por tecido conjuntivo que é responsável pelo estabelecimento e pela manutenção da forma do corpo. Este papel mecânico é determinado pela matriz extracelular (consiste em proteínas fibrosas e substância fundamental) que conecta as células e órgãos. As camadas que contêm muitas fibras elásticas e que conferem elasticidade à pele são: o tecido conjuntivo frouxo - que são estruturas normalmente sujeitas a pressão e atritos pequenos e que suporta células epiteliais; e o tecido conjuntivo denso não modelado que se encontra na derme profunda da pele, nele as fibras colágenas são organizadas em feixes sem uma orientação definida. Nesse tecido as fibras formam uma trama tridimensional, o que confere certa resistência às trações exercidas em qualquer direção (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A derme é altamente vascularizada e nela encontram-se os vasos sanguíneos e linfáticos, é através deles que a derme recebe células como os mastócitos que desempenham funções na infecção, inflamação e na cicatrização da pele (WILKES & KUPPER, 1996).

De acordo com a bula da isotretinoína (ISOTRETINOÍNA, 2014):

> "O mecanismo de ação de Isotretinoína ainda não foi elucidado em detalhes, mas já se estabeleceu que a melhora observada no quadro clínico da acne grave está associada com a supressão dose dependente da atividade da glândula sebácea e com a redução no tamanho das glândulas sebáceas demonstradas histologicamente. Estabeleceu-se, também, o efeito anti-inflamatório dérmico da Isotretinoína."

## Tratamento

O tratamento é realizado com uso oral de 0,5 a 1,0 mg/kg/dia de isotretinoína.. Nos pacientes com acne grave e resistente a terapias convencionais necessita doses diárias maiores, de até 2,0 mg/kg por 16 a 24 semanas, respeitando uma dose cumulativa de 120-150 mg/kg de peso (DINIZ *et al.*, 2002; KEDE, 2009).

## Eventos adversos

Segundo Coghi e Neves (2011) os eventos adversos cutâneos dos retinoides orais têm sido atribuídos a diminuição na produção de sebo e mudanças na epiderme, principalmente, redução na espessura do estrato córneo. Estes fatores levam a xerose, quelite e secura nas mucosas (tabela 1).

A sociedade brasileira de dermatologia restringe a prescrição do medicamento para todas as mulheres em idade fértil que não utilizam algum método contraceptivo, devido a teratogênese. Além de ressaltar que o uso da substância não está associada à menopausa precoce (SBD, 2018).

**Tabela 7.1.** Efeitos adversos da isotretinoína

| Sistema | Possíveis efeitos adversos relatados na literatura |
|---|---|
| Pele e mucosas | Quelite, dermatite, ressecamento de mucosas, epistaxe, descamação palmoplantar, prurido, alopecia |
| SNC | Cefaleia, letargia, depressão |
| Olhos | Conjuntivite, dor ocular, diplopia, cegueira noturna, opacidade córnea |
| Musculoesquelético | Cãibras, dor articular |
| Gastrointestinal | Náuseas e vômitos, anorexia, dor abdominal, aumento de enzimas hepáticas |
| Reprodutor | Teratogenicidade |
| Hematológico | Aumento do VHS, plaquetose, aumento do VCM |
| Metabolismo | Dislipidemia, redução HDL, aumento triglicérides, hiperglicemia |
| Geniturinário | Proteinúria |

**Fonte:** Adaptado de COGHI & NEVES, 2011.

### Características físico-químicas da isotretinoína

A isotretinoína é predominantemente apolar mesmo tendo um grupo carboxílico, pois a maior parte de sua cadeia é constituída apenas por C e H, sendo melhor solúvel em ambientes lipofílicos. Recebe o nome químico de Ácido-13-cis-retinóico, pois sua formula química é C20H28O2. Possui peso molecular de 300,44 g/mol, sendo um pó cristalino amarelo, com estrutura química semelhante a vitamina A (DINIZ, 2002). Lábio ao calor, à luz e ao ar. Essas propriedades se apresentam como limitações consideráveis nas opções de formulação. (KEDE, 2009)

## CONCLUSÃO

Percebe-se que o uso racional de medicamento e a não automedicação são essenciais para evitar riscos à saúde. Os fatores sociais, culturais e econômicos influenciam nesta prática de automedicação. Alguns casos são feito uso de medicações sem indicação profissional sendo que há alternativas ao tratamento. No caso do uso da isotretinoína para acne vulgar, com adequado acompanhamento médico é a melhor alternativa em casos mais graves para tratamento e cura da mesma.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ANVISA, Parecer sobre medicamentos retinóides, 1998. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/divulga/informes/2003/260203.htm> Acesso em: 18 mar. 2020.

BREMNER, J.D. & MCCAFFERY, P. The neurobiology of retinoic acid in affective disorders Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. v. 15, p. 315, 2008.

COGHI, S. & NEVES, M.C. Hidratação nasal e tratamento da pele. Revista Brasileira de Medicina, v. 68, p. 15, 2011.

DINIZ, D.G.A. *et al.* Isotretinoína: perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 38, p. 415, 2002.

FAKOUR, Y. *et al.* The effect of isotretinoin (roaccutane) therapy on depression and quality of life of patients with severe acne. Iranian Journal of Psychiatry, v. 9, p. 237, 2014.

GOULART, A.C. Effect of Roaccutane® (isotretinoin) on the reproductive system of adult rats Wistar. 2013. 83f. Dissertação (Mestrado em Biologia e Manejo animal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

ISOTRETINOÍNA: cápsula. Responsável técnico: Dra. Maria Betânia Pereira. São Paulo: Legrand Pharma, 2014. Bula de remédio.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. Histologia básica. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KEDE, M.P.V. Tratamento Sistêmico com Isotretinoína Oral. In: KEDE, M.P.V. & SABATOVICH, O. Dermatologia Estética. São Paulo: Atheneu, v. 1, p. 180, 2009.

MAGIN, P. *et al*. A systematic review of the evidence for 'myths and misconceptions' in acne management: diet, face-washing and sunlight. Family Practice. v. 22, p. 62, 2005.

OMS. Conferência mundial sobre uso racional de medicamentos. Revista Brasileira de Educação Médica: v. 34, 1985.

SBD – Sociedade Brasileira de Dermatologia. Nota oficial: Sociedade Brasileira de Dermatologia esclarece que isotretinoína oral não está associada à menopausa precoce. Disponível em: https://www.sbd.org.br/noticias/nota-oficial-sociedade-brasileira-de-dermatologia-esclarece-que-isotretinoina-oral-nao-esta-associada-a-menopausa-precoce/. Acesso em: 8 mar 2021.

TEIXEIRA, V. *et al*. The psychosocial impact of acne. Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venerologia. v. 70, p. 291, 2012.

WILLIAMS, I.R. & KUPPER, T.S. Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system. Life Sciences, v. 58, p. 1485, 1996.

# CAPÍTULO 8

## DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS NA REGIÃO DE TOLEDO – PR

*Palavras-chave: Glifosato; Toxicologia; Contaminação em Águas Superficiais*

JEAN COLACITE[1]
CÉLIO FERNANADO DIAS MACHADO[2]
JULIANA FERRERIA LEAL[3]
DIEGO GUILHERME GIRELLI[3]
CAROLINA COLACITE LOBATO[3]
NICOLE MELO CALIXTO[3]

1. Docente Coordenador do Curso de Farmácia do Centro Universitário União das Américas - UNIAMÉRICA - Paraná. Acadêmico do Curso de Medicina da Universidad Privada del Este - UPE - Ciudad del Este/Paraguai.
2. Acadêmico do Curso de Farmácia da Universidade Paranaense – UNIPAR - PR.
3. Acadêmico do Curso de Medicina da Universidad Privada del Este - UPE - Ciudad del Este/Paraguai.

## INTRODUÇÃO

O avanço da tecnologia na produção de substâncias que auxiliam e facilitam o cultivo de grãos e outras culturas agrícolas, possibilitou o aumento da produção no ramo em larga escala, resultando em um grande salto na economia de diversas regiões do Brasil, sendo o país que desde os anos 70, está entre os 10 maiores consumidores mundiais de defensivos agrícolas (FERNANDES *et al*., 2012). Com isso surgiu uma grande preocupação e uma série de debates em torno da toxicidade desses compostos e a segurança de suas aplicações. Atualmente o uso de pesticidas é cada vez mais indiscriminado, uma vez que a produção agrícola moderna é dependente desse fator, em especial o glifosato, cujo qual é líder disparado de mercado mundial de herbicidas, representando uma fatia de mínimo 60% de todo esse comércio (GARCIA & ROLLEMBERG, 2007).

Apesar de ser considerado o maior consumidor de defensivos agrícolas do mundo, utilizando em larga escala inúmeras classes desses compostos, o Brasil ainda carece de um sistema para monitoramento do consumo em todos os aspectos. Segundo o censo atual apenas 30% dos estabelecimentos rurais declaram o uso de defensivos agrícolas (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2006). Toledo está entre os maiores produtores rurais no estado do Paraná, especialmente na produção de grãos, como soja e milho, cujo cultivo necessita da utilização do herbicida foco do estudo.

O [N-(fosfonometil)glicina], pertence à classe de herbicidas de ação sistêmica e não seletiva, sendo classificado quimicamente como um aminoácido fosfonado do grupo das glicinas substituídas, é composição principal do herbicida comercializado pela Monsanto na marca denominada Roundup®, possui seu mecanismo de ação baseado na inibição de uma importante enzima na via do ácido chiquímico, consequentemente evitando a síntese de aminoácidos essenciais, o que possibilita o controle de plantas invasoras em meio ao cultivo de interesse, reduzindo a competitividade e melhorando a produção (YAMADA & CASTRO 2007).

Esse herbicida é, entre os defensivos agrícolas, o líder disparado de mercado, pela eficiência e baixo custo relativo (FERNANDES *et al*., 2012). Tal molécula possui a característica de contaminar facilmente rios e mananciais, especialmente em águas superficiais, uma vez que nas águas subterrâneas essa contaminação é pouco provável. Seu comportamento no ambiente, dentre outras classes de herbicidas, é o que possui o maior risco de contaminação e requer um monitoramento constante nos locais de eminência da sua aplicação (BRITO *et al*., 2001). Essa facilidade extrema desse tipo de substância contaminar solo e água, é um fator preocupante em relação ao meio ambiente e a prática de aplicação de defensivos agrícolas, podendo alterar o ciclo de vida dos peixes, algas e ainda micro-organismos, os quais são responsáveis pelo equilíbrio do ecossistema e a manutenção de suas características naturais (SILVA *et al.*, 2003).

Os estudos sobre os efeitos deletérios dos defensivos agrícolas na saúde, nos revelam que esta é uma questão alarmante devido ao uso desregrado e em larga escala, tendo como consequência o aparecimento de patologias de causas inespecíficas (ARAÚJO, 2002). Há atualmente inúmeros estudos publicados sobre a toxicidade e segurança de exposição ao glifosato. Quando exposto a concentrações elevadas desse composto pode ocorrer o comprometimento da viabilidade de células tronco, e até morte celular de outros tecidos por apoptose e necrose (MARTINS, 2014), já em doses mais baixas é considerado pouco tóxico, porém há indícios de que os efeitos crônicos, mesmo em

doses menores, podem causar alterações a nível de DNA nas células acarretando diversos tipos de problemas futuros principalmente em crianças e gestantes (ROMAN *et al*., 2009).

A qualidade da água em mananciais depende diretamente do monitoramento através da determinação de compostos químicos prejudiciais, como o herbicida glifosato, cujo os riscos à saúde são evidentes quando submetido a exposição indevida. Assim exposto o trabalho objetivou-se em determinar e quantificar o glifosato em águas superficiais que auxiliam o abastecimento de água potável a região de Toledo – PR, a fim de comprovar a segurança dessas águas, em relação a níveis aceitáveis desta substância.

## MÉTODO

### Coleta e preparo das amostras

As coletas foram realizadas no Rio Toledo, o qual possui um curso total de 26,5 km de extensão, cortando todo o município no sentido Leste-Oeste. As amostras foram obtidas em dois pontos do rio, sendo um em zona rural, próximo a sua nascente, e a outra em zona urbana mais ao centro de seu curso, sendo realizadas em um período de 2 meses, onde a primeira coleta se dera mais próxima à aplicação do agrotóxico no plantio, e as demais em intervalos de 2 semanas e 1 mês.

Armazenou-se as amostras em geladeira, à cerca de 9°C, em frasco de vidro âmbar, até o momento da análise. Para leitura das absorbâncias, submeteu-se as amostras testes a centrifugação com finalidade da sedimentação de outros componentes como sujidades maiores e para separação de materiais orgânicos sem interesse na análise, e em seguida filtrou-se essas amostras com auxílio de membrana porosa para que micropartículas não interfiram na leitura em UV-VIS.

### Método de quantificação

Dando sequência as análises, fez-se uma varredura nos comprimentos de 200 nm à 280 nm de três soluções de mesma concentração, a primeira apenas com o padrão glifosato diluído, a segunda com o padrão interno cobre (II), e a terceira com a presença das duas substâncias formando o complexo entre elas.

Em seguida, realizou-se as leituras das absorbâncias da solução padrão glifosato complexada com o íon cobre (II) diluído em 1:1, no comprimento de onda de 237 nm de seis réplicas na concentração de 75 $\mu g.L^{-1}$. A partir daí construiu-se a curva padrão de calibração com as absorbâncias da mesma solução padrão, porém com glifosato diluído em 5 diferentes concentrações (7,5 $\mu g.L^{-1}$, 22,5 $\mu g.L^{-1}$, 37,5 $\mu g.L^{-1}$, 60 $\mu g.L^{-1}$ e 75 $\mu g.L^{-1}$) em triplicata, e o padrão interno cobre (II) com sua concentração fixa em 75 $\mu g.L^{-1}$ em todas as cinco diluições. Determinou-se assim o e os coeficientes linear e angular (y) a partir da curva padrão de calibração obtida.

Com base na curva de calibração, realizou-se as leituras das amostras testes em triplicata, adicionando uma concentração fixa de 75 $\mu g.L^{-1}$ do padrão interno cobre (II), e diluindo em 1:1 com água purificada. Obteve-se o teor de contaminação em cada amostra coletada a partir da relação entre a absorbância da amostra teste e as absorbâncias resultantes da curva de calibração, dentro de seu intervalo de confiança.

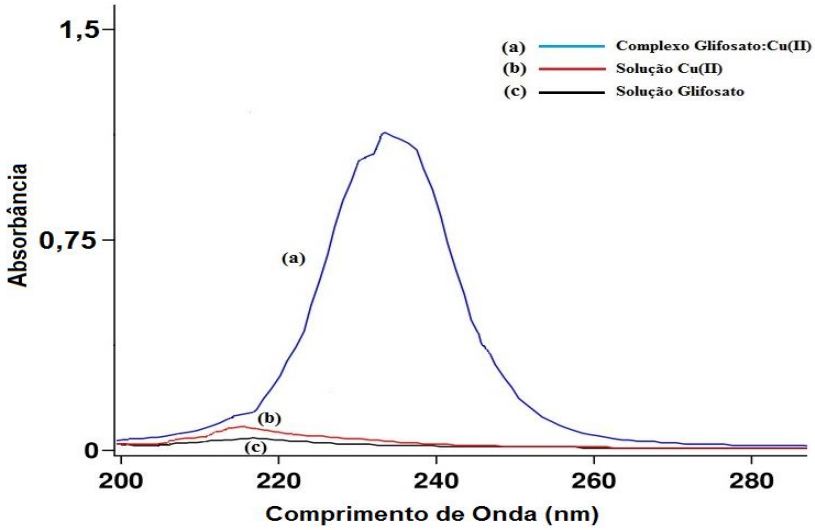
# RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Especificidade, linearidade e precisão

Para a expressão dos resultados da análise em questão foi necessário a realização de pré-testes objetivados em comprovar a efetividade e lisura dos parâmetros metodológicos, a fim de representar com transparência os teores de contaminante nas amostras.

A partir da varredura realizada, obteve-se o pico de absorbância da solução de interesse no comprimento de onda de 237 nm, e comparando os resultados da varredura das diferentes soluções (Figura 8.1), verificou-se que a absorbância do complexo entre o glifosato e o íon de cobre ficou evidentemente destacada em relação as outras duas soluções, com isso evidencia-se a especificidade do método, uma vez que, ocorreu um deslocamento e um aumento significativo do espectro de absorbância máxima da solução complexada quando em comparação com as soluções individuais de glifosato e de cobre(II).

**Figura 8.1.** Gráfico da varredura em espectrofotômetro. (Comparação entre as absorbâncias das três soluções)

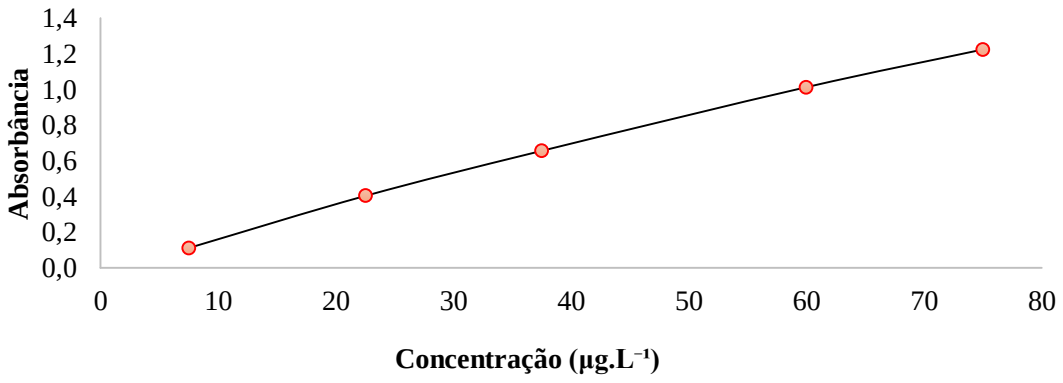



A precisão dos ensaios se deu a partir do conceito de repetibilidade, onde avaliou-se a reprodução das absorbâncias de seis réplicas de uma mesma concentração da solução padrão, e determinou-se o coeficiente de variação entre elas, resultando em um desvio padrão relativo bastante satisfatório de 0,28%.

A relação de linearidade entre as absorbâncias de diferentes concentrações do analito, foi observado a partir da construção da curva padrão de calibração, para qual a faixa de intervalo das concentrações foi de 0,75 a 7,5%, ou seja, 7,5 a 75 $\mu g.L^{-1}$ de contaminante. Os resultados da curva se mostraram satisfatórios, com o coeficiente de determinação ($R^2$) da regressão linear de 0,9978.

A quantificação das amostras teste se deu com base na equação da reta, dentro do intervalo de segurança (Figura 8.2).

**Figura 8.2.** Gráfico representativo com a curva padrão de calibração em seis pontos, nas concentrações de 7,5; 22,5; 37,5; 60,0 e 75,0 ug.L$^{-1}$




## Contaminação encontrada nas águas

O Método de quantificação para a molécula do glifosato em águas superficiais foram baseadas na complexação com íons metálicos, em específico o cobre, devido à grande afinidade entre essas moléculas capazes de formar compostos secundários de fortíssima interação, podendo ser detectados em espectrofotômetro de luz ultravioleta na região visível (COUTINHO & MAZO, 2005, 2007).

Os resultados obtidos revelaram a presença do contaminante glifosato em 100% das amostras analisadas, o que comprova a importância do monitoramento da água de mananciais em regiões com alta atividade agrícola, principalmente durante os períodos em que ocorre a aplicação do herbicida, onde o risco de contaminação se mostra inevitável durante os primeiros dias logo após o seu uso.

A Tabela 8.1 apresenta os resultados encontrados de acordo com o ponto coletado e o período de aplicação do defensivo agrícola nas lavouras próximas a extensão do rio. Os dados mostram que após a contaminação, este tipo de defensivo agrícola permanece ativo nas águas superficiais por um determinado período, apesar de ser em concentrações menores.

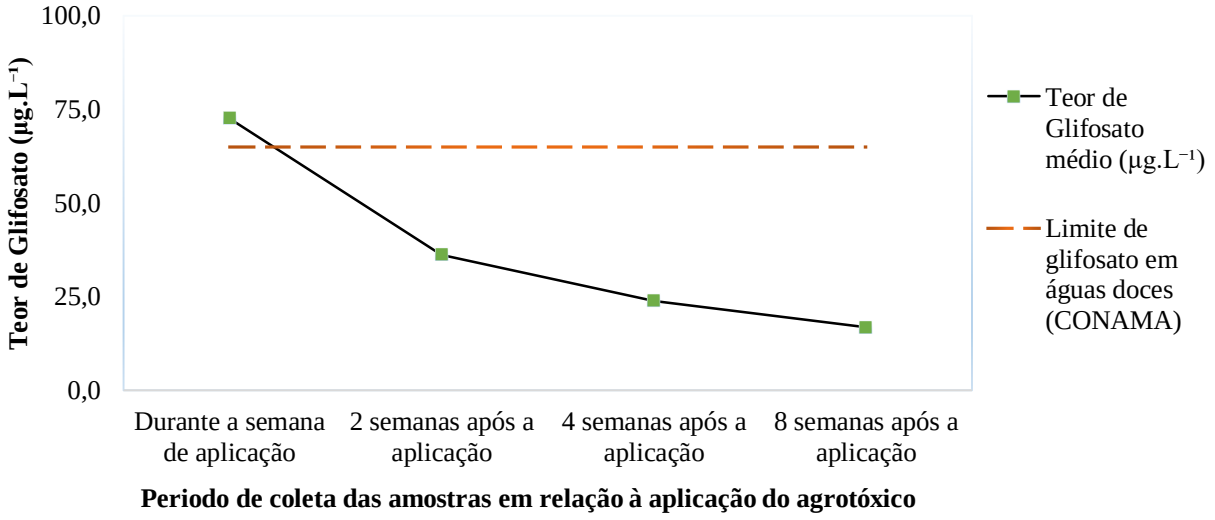
**Tabela 8.1.** Teor de contaminação pelo glifosato em função do tempo de aplicação e pontos de coleta

| Período de coleta das amostras | Teor de Glifosato (µg.L⁻¹) / Ponto de Coleta | |
|---|---|---|
| | Zona Urbana | Zona Rural |
| Durante a semana de aplicação | 71,67 | 73,66 |
| 2 semanas após a aplicação | 34,39 | 38,01 |
| 4 semanas após a aplicação | 24,60 | 23,34 |
| 8 semanas após a aplicação | 16,96 | 16,75 |
| *Valor máximo permitido de glifosato (CONAMA)* | *65,00* | *65,00* |

Em comparação entre os pontos de coleta, houve pouca variação entre zona rural ou zona urbana, ou seja, o valor de contaminação se mantem praticamente constante por toda a extensão do rio, tendo em vista que os mananciais não são estáticos, e a capacidade de transporte do glifosato pelas águas é alta (MATOS, 2014). Porém quando comparado os períodos de coleta desde a aplicação do glifosato e até 2 meses após, nota-se que o teor de contaminação pelo glifosato tende a cair gradativamente, isso se dá pela capacidade da molécula do glifosato e seu metabólito principal AMPA (ácido aminometilfosfônico) sofrerem fácil sorção pelo solo, e por sua lixiviação em meio ao ambiente, sendo degradado rapidamente (Figura 8.3) (COUTINHO *et al.*, 2009).

A contaminação do glifosato em águas superficiais em locais onde há elevado cultivo agrícola é inevitável, podendo permanecer por até 120 dias sem que ocorra a degradação, diferentemente do solo, onde o composto químico é decomposto em cerca de 7 dias por fungos e bactérias (RUBIO *et al.*, 2016).

**Figura 8.3.** Gráfico representativo da contaminação pelo glifosato em função do tempo




O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) padroniza a classificação dos corpos de água superficiais em relação a presença de substâncias de efeito tóxico na resolução n° 357/05 (2005), e estabelece o limite máximo de glifosato por litro de água superficial, o qual é de até 65 $\mu g.L^{-1}$, valor este que é o mesmo praticado no Canadá, sendo o menor limite dessa substância em águas no mundo, muito distante do que propõem a portaria MS n° 518/04 da Secretaria de Vigilância em Saúde (2005), a qual estabelece o valor permitido máximo de glifosato em água para consumo humano com um teor mais elevado, de 500 $\mu g.L^{-1}$, e os EUA pela Agencia de Proteção Ambiental, que permite uma quantidade de 700 $\mu g.L^{-1}$ dessa substancia nas águas (FARIA *et al.*, 2007).

Esses limites são muito controversos, pois não há um consenso claro e padronizado entre as entidades, o que deixa evidente a falta de dados científicos que comprovam a quantidade segura dessa classe de defensivo agrícola nas águas superficiais e de consumo humano.

Existe uma discussão muito grande em relação ao valor máximo permitido de glifosato em águas superficiais entre o CONAMA e o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa

Agrícola (SINDAG), no qual o SINDAG, em uma de suas publicações oficiais, discorda com a resolução n° 357/05 do CONAMA, julgando ser exacerbada, sem justificativa pelo perfil toxicológico do glifosato, e defendendo o uso dessa substância, com a justificativa de ser de grande importância para combate de plantas invasoras no manejo agrícola, e ainda afirmam não existir outras alternativas disponíveis sem o uso de defensivos agrícolas como o glifosato.

A preocupação maior está em relação aos efeitos crônicos, pois esse tipo de estudo se mostra mais complexo para realização, o que gera muitas vezes resultados inconclusivos e denotam uma falsa sensação de segurança, porém com a incerteza da origem de doenças como o câncer e microcefalia, que cada vez são notificadas nos sistemas de epidemiologia e crescem na mesma proporção em que o consumo de defensivos agrícolas, não se deve ignorar uma possível correlação entre esses fatores (FARIA, 2013).

Ainda em relação aos riscos à saúde, há dados que indicam atraso na puberdade devido a capacidade de agir como desregulador endócrino, e atraso na puberdade em estudo publicado sobre a interação do composto glifosato no organismo de ratos (ROMANO *et al.*, 2008, 2009), bem como alterações no comportamento sexual de camundongos machos, os quais perderam interesse na reprodução quando sob exposição crônica do glifosato (SANTOS *et al.*, 2015) e ainda polimorfismo genético em células expostas a determinadas quantidades de glifosato proposto por Carvalho (2014).

Segundo os valores da Concentração Letal Média (CL50) em alguns animais aquáticos, a classificação toxicológica do glifosato é de ser praticamente não tóxico, ou seja, a quantidade necessária para caracterizar letalidade em determinados peixes e algas é relativamente alta (ARANHA, 2013). Entretanto, segundo Santos *et al.* (2014), o impacto causado no meio ambiente com a utilização de defensivos agrícolas é severo, causando alterações na ordem natural e no equilíbrio da fauna e flora. Condições extremas de clima e falta de produtividade do solo são algumas das consequências dessas alterações, sendo de extrema importância o monitoramento das condições de solo e águas superficiais em regiões de alta produção agrícola.

O cuidado com o destino das embalagens dos defensivos agrícolas, bem como a lavagem dos materiais utilizados para sua manipulação é uma questão que deve ser ressaltada, pois sabe-se que ainda hoje há indícios do não cumprimentos das boas práticas agrícolas, fato que pode contribuir para o aumento da incidência de contaminação em águas e solo (SILVA, 2011).

Segundo trabalho publicado por Rubio *et al.* (2016), existe a possibilidade de remoção da molécula do glifosato nas águas por meio da utilização de carvão ativado impregnado com íons de prata e cobre, possibilitando a melhoria da qualidade dessa agua, com a diminuição da presença do glifosato de sua composição, sendo uma alternativa em casos de altos teores encontrados em águas.

É necessário o desenvolvimento de novas tecnologias que minimizam o uso de defensivos agrícolas, com controle de pragas e plantas invasoras por meio de técnicas alternativas, reduzindo o risco de contaminação e das consequências causadas pelo uso de agrotóxicos.

## CONCLUSÃO

Conclui-se com este trabalho, que a presença do glifosato em águas superficiais foi evidenciada em todos os períodos de coleta, sendo que a eminência maior de contaminação se deu durante a semana de aplicação do defensivo agrícola, reduzindo gradativamente no decorrer do

tempo, comprovando que o monitoramento em águas superficiais é de extrema necessidade, uma vez que os riscos à saúde são altos, e que apesar de ser considerado pouco tóxico, requer uma atenção por parte dos órgãos públicos, através da fiscalização, a fim de que não seja extrapolado o uso desses compostos, evitando os problemas que acarretam ao meio ambiente e a nós seres humanos.

Fica evidente a carência de estudos em relação as quantidades seguras de exposição ao glifosato, seja aguda ou crônica, pois há uma incerteza por parte das entidades reguladoras que determinam esses valores máximos em águas superficiais e de consumo.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ARANHA, R.C. Potencial de toxicidade dos herbicidas glifosato e imazetapir em Colossoma macropomum (Pisces). Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia) - Universidade Federal do Oeste do Pará; Santarém – PA, 2013.

ARAÚJO, A.S.F. Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solo. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo; Piracicaba - SP, 2002.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria MS n° 518/2004, de 25 de março de 2004. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente, CONAMA. Resolução CONAMA n° 357/05, de 17 de março de 2005. – In: Resoluções, 1990. Disponível em: Acesso em: 25 jun. 2017

BRITO, N.M. *et al.* Risco de Contaminação de águas por pesticidas aplicados em plantações de eucaliptos e coqueiros. Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 11, p. 93, 2001.

CARVALHO, W.F. Avaliação de danos genéticos e correlação com polimorfismos nos genes GSTM1 e GSTT1 em trabalhadores ocupacionalmente expostos a agrotóxicos em municípios goianos com intensa atividade agrícola. Dissertação (Mestrado em Genética) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás; Goiânia - GO, 2014.

COUTINHO, C.F.B. & MAZO, L.H. Complexos metálicos com o herbicida glifosato. Química Nova, v. 28, p. 1038, 2005.

COUTINHO, C.F.B. & MAZO, L.H. Estudo voltamétrico e espectrofotométrico do complexo Cu (II) - Glifosato. Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 17, p. 123, 2007.

COUTINHO, C.F.B. *et al*. Estudo do comportamento eletroquímico de substâncias complexantes utilizando eletrodo de cobre. Química Nova, v. 32, p. 228, 2009.

FARIA, N.M.X. *et al.* Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. Ciência & Saúde Coletiva, v. 12, p. 25, 2007.

FARIA, V.H.F. Glifosato: Desenvolvimento de metodologia para determinação em soja e milho e avaliação de parâmetros laboratoriais em trabalhadores expostos a agrotóxicos. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Minas Gerais; Belo Horizonte - MG, 2013.

FERNANDES, V. *et al*. Uso de pesticidas na agricultura-Análise da prática na cidade de Ibirité/MG. Scientia Plena, v. 8, n. 3, 2012.

GARCIA, A.F. & ROLLEMBERG, M.C. Determinação voltamétrica do herbicida glifosato em águas naturais utilizando eletrodo de cobre. Química Nova, v. 30, p. 1592, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema de Recuperação Automática – SIDRA, Rio de Janeiro; Censo agropecuário 2006. IBGE, 2006. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2006/segunda-apuracao. Acesso em: 20 mar. 2017.

MARTINS, C.M.R. Estudo da influência do uso de agrotóxicos e de polimorfismo do gene GSTT1 na etiologia de fissuras labiopalatais em pacientes do estado do Pará. Dissertação (Mestrado em Neurociência e Biologia Celular) - Universidade Federal do Para; Belém - PA, 2014.

MATOS, F.S. Determinação de glifosato e AMPA em água por injeção direta da amostra em cromatografia iônica capilar e LC-MS/MS. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria; Santa Maria - RS, 2014.

ROMAN, S.S. *et al*. Toxicidade renal e hepática em camundongos preencher expostos a associação do ácido 2,4 diclorofenoxiacético e do glifosato. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 2, p. 152, 2009.

ROMANO, R.M. *et al.* A exposição ao glifosato-Roundup causa atraso no início da puberdade em ratos machos. Revista Science, v. 45, p. 481, 2008.

ROMANO, R.M. *et al.* Glifosato como desregulador endócrino químico. Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais, v. 5, p. 359, 2009.

RUBIO, A.J. *et al.* Remoção do herbicida glifosato utilizando carvão ativado impregnado com compostos metálicos de prata e cobre para melhoria da qualidade da água. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 20, p. 450, 2016.

SANTOS, C.F. *et al*. Efeitos da exposição ao glifosato sobre o comportamento sexual de camundongos machos. II Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão, Universidade Estadual de Goiás; Pirenópolis - GO, 2015.

SANTOS, S.C. *et al.* Desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para determinação do pesticida glifosato em amostras ambientais. Revista Virtual de Química, v. 6, p. 866, 2014.

SILVA, F.R. Risco ocupacional em fumicultores: genotoxicidade associada à suscetibilidade genética. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Porto Alegre - RS, 2011.

SILVA, M.D. *et al.* Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônomico em águas superficiais do arroio Passo do Pilão. Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 13, p. 19, 2003.

YAMADA, T. & CASTRO, P.R.C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. International Plant Nutrition Institute, Informações Agronômica, No. 119; Piracicaba - SP, 2007.

# CAPÍTULO 9

## TERAPÊUTICA DA DOENÇA DE FABRY: TERAPIA DE REPOSIÇÃO ENZIMÁTICA, CHAPERONAS FARMACOLÓGICAS E A PROMISSORA TERAPIA GÊNICA

*Palavras-chave: Doença de Fabry; Terapia de Reposição Enzimática; Terapia Gênica*

EMERSON DE SANTANA SANTOS[1]
BEATRIZ LUDUVICE SOARES[2]
JÚLIA SOUZA DINIZ[2]
ANA CARINA FALETA DE AQUINO SILVA[2]
ANTÔNIO VINÍCIUS PIMENTEL LIMA[2]
GABRIELA NEVES COSTA LEÃO[2]
GABRIELLE CONCEIÇÃO SILVEIRA SANTANA[2]
JAYANNE LARISSA CAVALCANTE BARBOSA[2]
JOÃO MARCOS MENDES SANTOS[2]
JOÃO PAULO DIAS COSTA[2]
LUCAS REIS OLIVEIRA[2]
POLLYANNA ANDREZA RIBEIRO DOS SANTOS[2]
SILAS ZAMBALDI GARCIA[2]
VINÍCIUS BARBOSA DOS SANTOS SALES[2]
JOSELINA LUZIA MENEZES OLIVEIRA[3]

1. Médico Geneticista, Especialista em Genética Médica pela Sociedade Brasileira de Genética Médica, Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Sergipe e Professor Efetivo do Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe, Campus Prof. Antônio Garcia Filho.
2. Discente do Curso de Medicina da Universidade Federal de Sergipe.
3. Médica Cardiologista, Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Sergipe, Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia, Pós Doutorado em Angiotomografia das Coronárias pela Universidade de São Paulo e Instituto Dante Pazanesse de Cardiologia, e Professora Associada nível IV da Universidade Federal de Sergipe.

## INTRODUÇÃO

A Doença de Fabry (DF), ou Doença de Anderson-Fabry, é uma desordem do depósito lisossomal descrita de forma independente por Anderson e Fabry, na Inglaterra e na Alemanha, respectivamente, no ano de 1898. Trata-se de um erro inato do metabolismo causado por variantes patogênicas (antes chamadas de mutações) no gene GLA, responsável pela síntese da enzima $\alpha$-galactosidase A, localizado no braço longo do cromossomo X (Xq22). A deficiência de $\alpha$-galactosidase A ($\alpha$-GAL-A) leva a uma falha na via metabólica dos glicoesfingolipídios e resulta em um acúmulo patológico de globotriaosilceramida (Gb3) e seus derivados, como a globotriaosilesfingosina (liso-Gb3) (NYHAN *et al.*, 2011; VAN DER VEEN *et al.*, 2020).

Esse acúmulo excessivo de Gb3 é associado a efeitos citotóxicos, pró-inflamatórios e pró-fibróticos da doença. A doença é multissistêmica, mas apresenta como principais sinais e sintomas as acroparestesias, neuropatia periférica, manifestações cardíacas, angioqueratomas e proteinúria. Isso ocorre devido ao acúmulo de Gb3 ser mais proeminente no endotélio, nos cardiomiócitos, neurônios periféricos e células renais em geral (SANCHEZ-NIÑO *et al.*, 2011; VAN DER VEEN *et al.*, 2020).

A incidência da DF é variável devido a heterogeneidade de metodologias aplicadas nos estudos publicados pelo mundo, mas há relatos com valores em torno de 1:40000 a 1:117.000 nascidos vivos, e uma incidência em torno de 0,2% a 1,2% para homens diálise-dependentes. Além da diversidade dos estudos descritos, a ausência de um programa de rastreio efetivo e uniforme em recém-nascidos por parte de muitos países contribui para a subnotificação nos números encontrados, o que também acarreta diagnósticos tardios e mais danos à saúde dos acometidos pela doença.

A idade média de diagnóstico de pacientes do sexo masculino é de 23 anos, enquanto em mulheres chega a 32 anos, o que pode ser associado ao fato de indivíduos do sexo feminino terem maior probabilidade de desenvolvimento de quadro mais brandos. Outro fator relevante no atraso diagnóstico é a falta de conhecimento da doença entre os clínicos (FELIS *et al.*, 2020).

O objetivo deste estudo foi analisar os tratamentos disponíveis para a DF, bem como as terapêuticas em estudo que podem ser aplicadas no futuro.

## MÉTODO

O presente estudo consiste em uma revisão integrativa da literatura, realizada através da busca sistemática por revisões sistemáticas, integrativas e narrativas da literatura e meta-análises publicadas no período de 2011 a 2021. A procura dos estudos incluídos foi norteada pela pergunta: “Quais os tratamentos disponíveis atualmente para pacientes com Doença de Fabry?”.

Foram realizadas pesquisas nas bases de dados PubMed, Scopus e Science Direct, utilizando como estratégia de busca os termos MeSH (Medical Subject Headings) e os operadores booleanos “Fabry Disease” AND (“enzyme replacement therapy” OR “molecular chaperones”). Utilizando-se os descritores em conjunto, foram encontrados 762 artigos científicos, dos quais foram selecionados 119 trabalhos cujos títulos correspondessem aos critérios de elegibilidade descritos no Quadro 9.1.

**Quadro 9.1.** Critérios de elegibilidade dos artigo

| CRITÉRIOS DE INCLUSÃO | CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO |
|---|---|
| Artigos que abordam as terapêuticas disponíveis para pacientes com DF (terapia gênica, terapia de reposição enzimática e chaperonas moleculares). | Artigos que abordam terapêuticas disponíveis para outras doenças de depósito lisossômico. |
| Estudos publicados entre 2011 e 2021, disponíveis na íntegra em inglês, português ou espanhol. | Estudos que relatem o uso das terapêuticas em faixas etárias específicas. |
| Estudos secundários (revisões, revisões integrativas, revisões sistemáticas e metanálises). | Estudos primários (relato de caso, estudo de caso e controle, estudos de coorte, ensaio clínico controlado). |

Ao remover os artigos científicos duplicados, através da plataforma Rayyan, restaram 67 trabalhos. Duas revisoras realizaram a avaliação da elegibilidade dos artigos de maneira independente, através da leitura de seus respectivos resumos e, posteriormente dos textos completos. Foram selecionados 11 estudos para compor a revisão integrativa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Fisiopatologia

A DF é um erro inato do metabolismo dos glicoesfingolipídeos, de herança ligada ao cromossomo X e decorre de variantes patogênicas no gene GLA que codifica a síntese da enzima $\alpha$-galactosidase A ($\alpha$-GAL-A). A deficiência desta enzima lisossomal leva a uma incapacidade na degradação dos glicoesfingolipídios e ao consequente acúmulo destes nas células, sendo o principal deles a globotriasilceramida (Gb3) (NYHAN *et al.*, 2011). Mais de 900 variantes patogênicas no gene GLA foram encontradas em pacientes com DF, causando diferentes mudanças na quantidade, forma e capacidade catalítica da proteína, e causa um fenótipo da doença extremamente variável desde indivíduos assintomáticos a severo (FELIS *et al*., 2020; NYHAN *et al.*, 2011).

Além da influência exercida pelo tipo de variante a acometer o gene GLA, a expressão fenotípica da DF varia segundo o sexo. Uma vez que segue o padrão de herança ligado ao cromossomo X, apresenta um fenótipo mais grave em homens do que em mulheres (VAN DER VEEN *et al*., 2020). Todavia, as mulheres, antes consideradas apenas portadoras, podem expressar manifestações tão severas quanto os homens, apesar dos sintomas iniciarem de maneira tardia e os danos aos órgãos progredirem mais lentamente. As mulheres heterozigotas normalmente possuem atividade enzimática normal ou pouco reduzida, porém quadros graves também podem existir. Além dos diferentes tipos de variantes no gene GLA, a heterogeneidade na manifestação da doença em mulheres pode estar relacionada a diferentes padrões de inativação do cromossomo X, resultando em atividades enzimáticas variáveis (FELIS *et al*., 2020; FERIOZZI & HUGHES, 2020; MEHTA, 2015).

A forma clássica da DF, caracterizada por um fenótipo de progressão severa e precoce em homens, está associada a variantes patogênicas do gene GLA que causam uma atividade enzimática menor ou igual a 5% em relação ao valor médio de referência em leucócito. A forma não clássica

ou de variantes atípicas ocorre quando variantes patogênicas do gene GLA levam a atividade enzimática baixa de $\alpha$-GAL-A, mas não nula (maior que 5% a 30% em relação ao valor médio de referência em leucócito) e ocasionam um fenótipo de progressão lenta e início tardio da DF (AZEVEDO *et al*., 2021; FERIOZZI & HUGHES, 2020).

A Gb3 e outros glicoesfingolipídios neutros estão presentes em fluidos corporais e nos lisossomos de células em todo o corpo. Na DF, entretanto, há o acumulo de Gb3 que é mais proeminente em determinados nos locais como coração, sistema nervoso, endotélio, músculo liso e rim. O acúmulo de Gb3 está associado ao aumento de citocinas pró-inflamatórias, promoção de disfunção celular e de vias de morte celular, tendo como resultado sintomas multissistêmicos (AZEVEDO *et al*., 2021; KANT & ATTA, 2020; VAN DER VEEN *et al*., 2020).

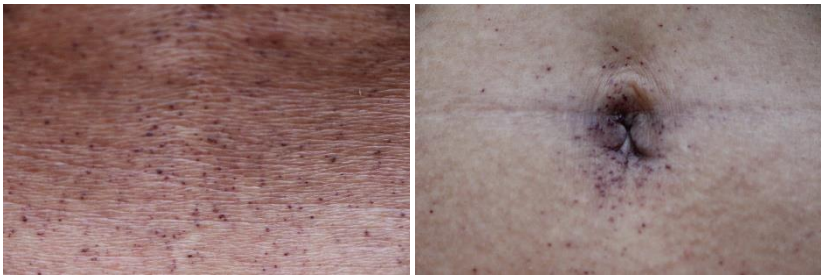
## Quadro Clínico da Doença de Fabry

Pacientes acometidos pela DF podem apresentar desde uma forma assintomática da doença (que pode acontecer em mulheres heterozigotas) até uma manifestação clínica multissistêmica que é mais comum nos homens (ROMBACH *et al*., 2014; MAUER, *et al*., 2020a). A sintomatologia da doença ocorre pelo acúmulo e pela deposição de Gb3 (NYHAN *et al*., 2011). A DF tem dois grandes grupos fenotípicos: DF clássica e DF de variantes atípicos (também chamada de variantes de início tardio) (ROMBACH *et al*., 2014).

### I. Forma Clássica

É o tipo mais grave da doença devido a pouca ou nenhuma atividade da enzima $\alpha$-GAL-A. É tipicamente predominante em homens (MAUER *et al*., 2020). Entretanto as mulheres heterozigotas podem ter uma apresentação clínica semelhante ao que ocorre na forma clássica (NYHAN *et al*., 2011). As manifestações clínicas iniciam na infância ou adolescência com quadro neurológico seguido de manifestações dermatológicas (Figura 9.1) e do trato gastrointestinal. Ao longo da evolução, nos adultos jovens, surgem as manifestações oftalmológicas e renais, e em torno da quarta e quinta década de vida, ocorrem as cardíacas e cerebrovasculares, ambas fortemente associadas à mortalidade dos pacientes com DF (Quadro 9.2). Outras manifestações de envolvimento pulmonar, linfático e psiquiátrico também podem ocorrer (MAUER *et al*. 2020a).

**Figura 9.1.** Angioqueratomas em paciente com Doença de Fabry



**Legenda:** Os angioqueratomas consistem no principal sinal que leva ao diagnóstico da Doença de Fabry. Costumam surgir na adolescência, principalmente nas regiões das coxas, da virilha, do quadril e na região periumbilical. **Fonte:** Cedida pela National Fabry Disease Foundation (EUA) com autorização do paciente.

**Quadro 9.2.** Manifestações clínicas da Doença de Fabry segundo o sistema afetado

| Local afetado | Manifestações Clínicas |
|---|---|
| **Sistema Nervoso** | Acroparestesias que podem ser precipitadas por estresse, extremos de calor ou frio e esforço físico. |
| **Pele** | Telangiectasias difusas, angioqueratomas em região de virilha, quadril e áreas periumbilicais e hipoidrose |
| **Trato Gastrointestinal** | Os sintomas gastrointestinais ocorrem por dismotilidade intestinal, função autonômica prejudicada, vasculopatia e miopatia que se manifestam com dor abdominal, náusea e vômito, diarreia ou constipação. |
| **Olhos** | Opacidades da córnea (córnea verticillata) é a principal manifestação ocular da DF. Além disso, pode ocorrer também a catarata subcapsular anterior e posterior (a "catarata de Fabry"), dilatação aneurismática e tortuosidade dos vasos conjuntivais e retinianos e linfangiectasia subconjuntival que cursa com sintoma de xeroftalmia. |
| **Rins** | Proteinúria é a principal manifestação renal da DF, entretanto geralmente o paciente abre o quadro renal com poliúria e polidipsia. Pode ocorrer também isostenúria, síndrome de Fanconi e cisto do seio renal. Pacientes com DF podem apresentar doença renal crônica sem causa aparente que evolui para necessidade de tratamento dialítico e transplante. Inclusive, esses pacientes podem apresentar recorrência da doença mesmo após transplante renal |
| **Coração** | Hipertrofia ventricular esquerda predominantemente concêntrica, fibrose miocárdica, insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana, anormalidades das válvulas aórtica e mitral com regurgitação, dilatação aórtica, anormalidades de condução e arritmias. Paciente pode queixar-se de angina, dispneia, palpitações e síncope. É importante ressaltar que a DF é uma causa importante de cardiomiopatia hipertrófica sem causa aparente. |
| **Manifestações Cerebrovasculares** | Ataques isquêmicos transitórios e derrames isquêmicos, assim como aumento de grandes artérias cranianas (dolicoectasia). |

**Fonte**: Adaptado de MAUER *et al.*, 2020a, 2020b; NAGUEH, 2020; NYHAN *et al.*, 2011; ROMBACH *et al.*, 2014.

## II. Forma de variantes atípicas

Cursa como um espectro podendo ter desde uma doença assintomática até uma apresentação clínica com acometimento de um órgão isolado ou sistema (ROMBACH *et al.*, 2014). Essa variabilidade resulta da presença de atividade residual da $\alpha$-GAL-A e nos casos dos pacientes sintomáticos, o início dos sintomas é mais tardio quando comparados com a forma clássica (entre 30 e 70 anos de idade) (MAUER, *et al.*, 2020a). O sistema mais comumente acometimento é o cardíaco, seguido de um acometimento renal. As manifestações do sistema envolvido são as mesmas de como ocorre na forma clássica da DF (MAUER *et al.*, 2020a). Quando variante cardíaca, o quadro possui características de insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (ICFEP), apresentando comumente uma hipertrofia de ventrículo esquerdo inexplicada e taquiarritmia. Pode evoluir para redução de função do miocárdio (NAGUEH, 2020; ODER & NORDBECK & WANNER, 2016). Se variante renal, o mais provável é um paciente com proteinúria sem causa aparente e evolução para doença renal crônica (MAUER *et al.*, 2020b).

## Tratamento

Idealmente o paciente com DF deve ser manejado em um centro multidisciplinar de cuidado, com profissionais familiarizados com a evolução da doença. Tratamentos complementares são cruciais para obtenção de melhores resultados, além de ser recomendado o início da terapia antes da ocorrência das lesões em órgãos e sistemas alvo (FELIS *et al*., 2020).

Atualmente, são aprovadas para o uso clínico duas modalidades terapêuticas: a Terapia de Reposição Enzimática (TRE), utilizada desde 2001, e uma chaperona farmacológica (o Migalastate) introduzida recentemente. Em estudo, existem diversas terapias farmacológicas em análise, como a Terapia Gênica, mais promissora, a Terapia de redução de substrato e a Terapia de mRNA.

### I. Terapia de Reposição Enzimática (TRE)

A TRE com uso da $\alpha$-galactosidase recombinante foi aprovada para uso clínico desde 2001. Existem duas formas da enzima disponíveis: a $\alpha$-agalsidase, oriunda de fibroblastos humanos; e $\beta$-agalsidase, produzida em células de ovários de hamster chinês. A via de administração de ambas as formas é intravenosa, em doses quinzenais de 0,2 mg/kg e 1g/kg de peso corpóreo, respectivamente. Seus efeitos terapêuticos na evolução da doença são muitos similares, tendo suas principais diferenças relacionadas a soroconversão e efeitos colaterais (AZEVEDO *et al*., 2021; FELIS *et al*., 2020; VAN DER VEEN *et al*., 2020).

As algasidases $\alpha$ e $\beta$ demonstraram eficácia através de melhorias nos sintomas causados pela doença, especialmente relacionados à função renal. Estudos apontaram a redução do depósito e concentração de Gb3 no plasma, lisossomos, sistema urinário e nas células epiteliais renais; o retardo do declínio da taxa de filtração glomerular estimada; a redução ou estabilização da hipertrofia do ventrículo esquerdo; a estabilização do sistema vestibular auditivo; e a melhora da sensibilidade dos nervos (AZEVEDO *et al*., 2021).

Ambas as formas são seguras e bem toleradas. Sintomas relacionados à infusão são observados em 5 a 15% dos pacientes, constituindo os principais efeitos adversos desta terapêutica. Por ser administrada em doses mais altas e ter consequente tempo de infusão maior que a $\alpha$, a $\beta$-agalsidase aumenta as chances de o paciente desenvolver reações à infusão. Outro fator que predispõe a reações adversas é a presença de anticorpos através da soroconversão ao contato com a enzima. Um estudo com 571 homens e 251 mulheres tratados com $\beta$-agalsidase relatou que 73% dos homens realizam soroconversão, em comparação com 12% das mulheres (MEHTA, 2015).

Quanto às recomendações para o início da TRE em pacientes com DF, há estudos que apontaram níveis de liso-Gb3 menores em pacientes que receberam a terapia antes dos 25 anos de idade, em comparação com pessoas que iniciaram o tratamento tardiamente. Todavia, ainda não há consenso quanto à idade ideal para o início do tratamento, haja vista que faltam ensaios clínicos suficientes abordando essa questão. Em estudo recente, Kant & Atta (2020) citam uma revisão sistemática que aborda os resultados clínicos da TRE em pacientes pediátricos com DF, demonstrando uma depuração significativa da Gb3, com consequente redução dos sintomas iniciais da doença, lesão em órgãos alvo e melhora na qualidade de vida. Na mesma revisão, doses bissemanais de $\beta$-algasidase 1,0 mg/kg apresentaram depuração significativa da Gb3 em podócitos, em comparação com 0,2 mg/kg de $\alpha$-algasidase (KANT & ATTA, 2020).

Algumas limitações da TRE incluem a penetração tecidual limitada; a impermeabilidade de barreira hematoencefálica para as enzimas; a redução da biodisponibilidade da enzima devido a soroconversão e produção de anticorpos que neutralizam as enzimas, com consequente redução da eficácia do tratamento, e por se tratar de uma terapia vitalícia que requer administração intravenosa a cada 02 semanas, elevando seu custo (AZEVEDO *et al*., 2021). Foram encontradas evidências a respeito de anticorpos IgE e IgG formados em paciente recebendo ambas as variantes *alfa* e *beta* da enzima agalsidase, tratados com corticosteroides e anti-histamínicos, sugerindo a necessidade, em casos extremos (por exemplo, pacientes que evoluírem para choque anafilático), de retirada completa da TRE, porém há necessidade de maior investigação (ODER *et al*., 2016).

## II. Chaperonas Farmacológicas

As chaperonas farmacológicas, incluídas nas terapias não baseadas em enzimas, configuram-se como uma estratégia terapêutica alternativa que busca abranger mecanismos importantes que não são contemplados pela terapia de reposição enzimática. Estes compostos são capazes de se ligar a enzimas defeituosas e as auxiliar no enovelamento, na maturação e no deslocamento para o local de ação (FELIS *et al*., 2020).

Nesse sentido, o Migalastate (1-desoxigalactonojirimicina), um inibidor da enzima em questão, torna-se relevante por ter aumentado a atividade desta na sua forma mutante, quando utilizado em uma concentração menor do que a destinada para inibição, sendo utilizado em alguns países como terapia de primeira linha para pacientes com DF com variantes susceptíveis do gene precursor da $\alpha$-GAL-A (ROZENFELD & NEUMANN, 2011; VAN DER VEEN *et al*., 2020).

Por ser um análogo do resíduo de galactose terminal de Gb3, o migalastate liga-se, de forma seletiva e irreversível, ao sítio ativo de variantes susceptíveis da $\alpha$-GAL-A, com o objetivo de estabilizá-la para que ela não seja degradada pelo sistema de controle de qualidade enzimática presente no retículo endoplasmático. Assim que o trajeto até o lisossomo é efetivado, a enzima é liberada para o meio ácido desta organela, sendo feita a dissociação do migalastate da $\alpha$-GAL-A, já que a fixação entre eles é dependente do pH, mais baixo no interior do lisossomo (FERIOZZI & HUGHES, 2020; RODRÍGUEZ, 2018).

A chaperona farmacológica em questão está indicada para o tratamento a longo prazo em pacientes a partir dos 16 anos que apresentem manifestações clínicas da DF, surtindo efeito apenas nos indivíduos portadores de variantes missense, as quais compõem cerca de 35-50% das variantes da DF. A dose recomendada é de 123 mg administrada oralmente em dias alternados, tempo necessário não só pelo regime farmacocinético, mas também para facilitar a dissociação da droga e amplificar sua atividade (AZEVEDO *et al*., 2021; FELIS *et al*., 2020; FERIOZZI & HUGHES, 2020). Observa-se que em pacientes com variações não susceptíveis (variantes nonsense, inserções, deleções ou rearranjos) o migalastate não parece ser útil, verificado na ausência de eficácia nos depósitos de Gb3 nos capilares intersticiais ou nos níveis plasmáticos de liso-Gb3 (FERIOZZI & HUGHES, 2020; RODRÍGUEZ, 2018; ROZENFELD & NEUMANN, 2011).

Como vantagem de serem moléculas pequenas, as chaperonas farmacológicas possuem grande importância terapêutica, já que podem ser utilizadas como tratamento oral, além de terem boa distribuição nos tecidos corporais (MEHTA, 2015). Fatores como diminuição na necessidade de infusões intravenosas ao longo da vida, ausência de problemas de tolerabilidade relacionados a

anticorpos advindos da TRE por ser uma molécula não imunogênica, manutenção de níveis enzimáticos estáveis, grande distribuição celular e tecidual e capacidade de penetração em tecidos essenciais como o cerebral, devido à possibilidade de passagem pela barreira hematoencefálica, promovem maior grau de interesse sobre o migalastate (AZEVEDO *et al.*, 2021; MEHTA, 2015; RODRÍGUEZ, 2018).

Por outro lado, apesar do migalastate ofertar um tratamento seguro e bem tolerado, dentre os efeitos adversos, relata-se infecção do trato urinário, cefaleia, nasofaringite, náuseas e pirexia. É necessário também que seja melhor investigada a resposta *in vivo* desta chaperona, por meio do monitoramento da atividade da $\alpha$-GAL-A, e de alterações plasmáticas da liso-Gb3, em conjunto com o aprimoramento da avaliação clínica, para que sejam selecionados pacientes com maior probabilidade de se beneficiarem com o uso desta droga (FELIS *et al.*, 2020; VAN DER VEEN *et al.*, 2020). Além disso, esta chaperona farmacológica não é recomendada para pacientes menores de 16 anos ou maiores de 75 anos, gestantes, lactantes ou com acometimento renal grave, por falta de evidência científica de sua segurança e eficácia nestes grupos (AZEVEDO *et al.*, 2021).

O Quadro 9.3 demonstra um comparativo entre as opções terapêuticas já disponíveis para a doença de Fabry.

**Quadro 9.3.** Vantagens e limitações das terapias atuais para Doença de Fabry

| Opção terapêutica | Vantagens | Limitações |
|---|---|---|
| Terapia de Reposição Enzimática | Segurança e eficácia cientificamente comprovadas; melhora da função renal e estabilização da hipertrofia ventricular esquerda; Comercialmente disponível desde 2001. | Penetração tecidual limitada; não cruza a barreira hematoencefálica; não reverte lesões orgânicas já estabelecidas; alto custo; necessita de infusões bissemanais; gera reações à infusão; induz a soroconversão e produção de anticorpos anti-droga, diminuindo a biodisponibilidade da enzima. |
| Migalastate | Administração oral; moléculas pequenas que penetram facilmente os tecidos; consegue cruzar a barreira hematoencefálica; não induz a produção de anticorpos anti-droga, aumentando a biodisponibilidade da enzima; mantém níveis enzimáticos estáveis. | Apenas trata pacientes com variantes susceptíveis do gene GLA; alto custo; não reverte totalmente o quadro clínico e as manifestações da Doença de Fabry; não pode ser usado por pacientes <16 anos, >75 anos, gestantes, lactantes e pessoas com acometimento renal grave. |

## III. Terapia Gênica

Com a ascensão da biologia sintética, diversas pesquisas e estudos estão sendo desenvolvidos na área médica. Nesse campo, a terapia gênica permeia como uma das promissoras abordagens para a DF, visto que os mecanismos patológicos da síndrome estão diretamente relacionados à atividade da enzima $\alpha$-GAL-A, a qual pode ser clinicamente eficaz mesmo em níveis moderadamente baixos, conseguidos através da abordagem gênica (GARIBAY *et al.*, 2013).

Através de um vetor, de origem viral ou não viral, uma versão funcional correspondente do gene GLA pode ser introduzida no organismo para realização da transfecção ou transdução gênica.

Na DF, os lentivírus, retrovírus, adenovírus e vírus adenoassociados são os mais empregados (FERIOZZI & HUGHES, 2020).

*In vivo*, o vetor, editado laboratorialmente para carrear os genes correspondentes, pode ser admitido por via intravenosa ou injetado diretamente em um tecido, onde é absorvido pelas células sistêmicas ou locais, que se tornam capazes de expressar a proteína ausente. Na modalidade *ex vivo*, algumas células-tronco hematopoiéticas do paciente podem ser coletadas, expostas ao vetor e serem, então, devolvidas ao paciente (FELIS *et al.*, 2020). É importante destacar que mesmo com a transfecção ou transdução de poucas células, através de mecanismos de correção cruzada, outras células também podem ser corrigidas (GARIBAY *et al.*, 2013).

A cada ano diversas pesquisas são desenvolvidas com o intuito de aplicar os mecanismos gênicos com a maior eficácia e segurança possível no tratamento da DF. Huang *et al.* (2017) citado por Felis *et al.* (2020) publicaram o estudo mais promissor até o momento, demonstrando que foi possível projetar múltiplos vetores de lentivírus recombinantes capazes de transduzir células hematopoiéticas CD34 positivas de pacientes com DF a expressar a $\alpha$-GAL-A, persistentemente por 1 a 2 anos (FELIS *et al.*, 2020). Além disso, esta pesquisa, assim como outras relacionadas, está registrada no ClinicalTrials.gov e, atualmente, o teste clínico aberto dessa terapia está em fase dois, sendo patrocinado pelo laboratório Avobio (FERIOZZI & HUGHES, 2020).

Outras pesquisas já demonstraram a utilização de vetores virais adenoassociados portadores de GLA humano (rAAV-GLA), através da administração intravenosa periférica de rAAV-GLA. Foi demonstrado que as células hepáticas transduzidas por esses vetores desenvolvem a capacidade de sintetizar $\alpha$-GAL-A normal e, os consequentes, níveis de atividade enzimática aumentados pelo processo estão potencialmente associados a uma redução dos depósitos de Gb3 (FERIOZZI & HUGHES, 2020).

Um dos pontos cruciais a serem respondidos em relação a terapia gênica se refere a indução de resposta imune que pode ser gerada pela produção contínua de enzimas, em contraste com a terapia de reposição enzimática. Ainda são necessários estudos para esclarecer esse questionamento, mas já se sabe que os vetores usados atualmente nas terapias se mostraram indutores de atividade imune contra o capsídeo viral, impossibilitando a administração de mais de um tratamento com um vetor específico. Dessa forma, a terapia gênica ainda se enquadra no campo da perspectiva clínica, sendo necessário, ainda, definir se as abordagens atuais de terapia gênica atingirão ou não números de cópias virais estáveis e atividade de $\alpha$-GAL-A suficiente em comparação com as preparações de reposição enzimática atualmente disponíveis (FELIS *et al.*, 2020).

## Outras terapias em estudo

Considerando as limitações dos tratamentos para a DF atualmente disponíveis, estão em estudo diversas opções terapêuticas com o potencial de atingir melhores efeitos nas manifestações clínicas da DF, com redução das limitações encontradas na TRE e na chaperonas farmacológicas, por exemplo.

Como uma das modalidades terapêuticas mais avançadas em estudo, além da terapia gênica, está uma forma alternativa da TRE que utiliza uma forma da $\alpha$-GAL-A sintetizada a partir de plantas utilizando um sistema PlantCellEx. Com a ascensão do uso de biológicos a base de plantas na biomedicina, esta passa a ser uma promissora proposta de tratamento para a DF, com custo reduzido.

A pegunigalsidase-$\alpha$ (PRX-102) é produzida a partir de células do tabaco, e contém duas subunidades de $\alpha$-GAL-A ligadas a uma cadeia de polietilenoglicol (PEG), que aumenta a sua estabilidade e reduz a depuração da droga (AZEVEDO *et al*, 2021; VAN DER VEEN *et al*, 2020).

A PEG tem esse efeito porque "mascara" a enzima, impedindo que o sistema imune a detecte. Com esta depuração reduzida, a PRX-102 tem uma meia-vida prolongada, de em média 80h segundo estudos, e permanece no plasma por longos períodos, permitindo infusões a cada 4 semanas (FERIOZZI & HUGHES, 2020). Isto representa uma vantagem em relação à TRE tradicional, já que a pegunigalsidase-$\alpha$ envolve menos infusões, e a presença plasmática prolongada também predispõe o desenvolvimento de uma tolerância imunológica devido à exposição estável e constante da enzima ao sistema imune. Nos estudos já realizados, anticorpos anti-drogas ocorreram em 19% dos pacientes, porém com uma resposta transitória que desapareceu após 1 ano, indicando tolerância imunológica (KANT & ATTA, 2020; FERIOZZI & HUGHES, 2020; VAN DER VEEN *et al*., 2020).

Com uma menor taxa de soroconversão, maior meia-vida e maior permanência no plasma, a penetração nos tecidos específicos também foi maior em estudos com ratos, principalmente no tecido renal e cardíaco (FERIOZZI & HUGHES, 2020). Possíveis limitações dessa terapia incluem a incapacidade de penetrar a barreira hematoencefálica e seu efeito incerto no sistema imune pois, por ser derivada de plantas, a proteína apresenta diferentes padrões de glicosilação no organismo, podendo ser um possível fator imunogênico. Dessa forma, mais estudos clínicos são necessários para elucidar estas questões (AZEVEDO *et al*., 2021).

De maneira similar à pegunigalsidase-$\alpha$, outra forma da $\alpha$-GAL-A derivada de plantas está em estudo. A moss-aGal, sintetizada a partir do musgo *Phycomitrella patens* modificado através de engenharia genética para perder seu potencial antigênico, age nos receptores para manose, expressos nas células dendríticas, endoteliais, mesangiais e no músculo liso. Possui uma meia-vida curta (14 minutos), possivelmente por ser absorvido por células endoteliais e macrófagos. Em estudos preliminares, demonstrou uma atividade intracelular prolongada, reduzindo gradativamente os valores de Gb3 e liso-Gb3 por até 28 dias. Ainda não há informações sobre reações imunológicas à moss-aGal (AZEVEDO *et al*., 2020; FERIOZZI & HUGHES, 2020)

Também em fase de testes, outra abordagem terapêutica para a DF é o mRNA encapsulado em nanopartículas lipídicas, técnica em estudo também para tratar a hemofilia B e o HIV. Proteínas mutadas ou ausentes, tal como a $\alpha$-GAL-A na DF, podem ser substituídas por proteínas terapêuticas codificadas por RNA mensageiro (mRNA) administrado por via intravenosa em nanopartículas lipídicas. O mRNA exógeno utiliza as organelas de células do hospedeiro para ser traduzido em aminoácidos, enovelar-se e sofrer glicosilação em moléculas de $\alpha$-GAL-A funcionais secretadas na corrente sanguínea (AZEVEDO *et al*., 2020; KANT & ATTA, 2020).

DeRosa *et al*. (2019) citado por Felis *et al*. (2020) avaliaram o uso do mRNA que codifica $\alpha$-GAL-A humana em modelos animais deficientes da enzima, e descobriram que a farmacocinética da proteína codificada pelo mRNA demonstrou meia-vida prolongada de $\alpha$-GAL-A em tecidos e plasma (FELIS *et al*., 2020). Em testes em primatas não humanos, observou-se redução dos níveis de Gb3 e liso-Gb3 por até 6 semanas, indicando que o tempo entre as infusões poderia ser prolongado (AZEVEDO *et al*., 2020; KANT & ATTA, 2020).

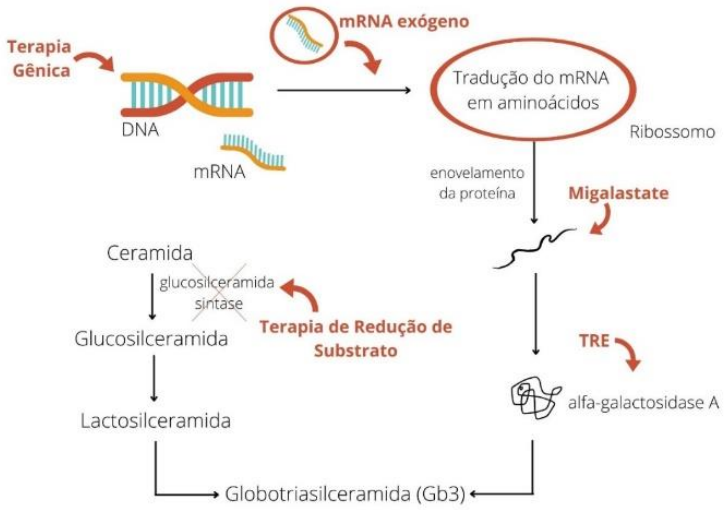
Por fim, a terapia de redução de substrato (TRS) possui um mecanismo de ação diferente das demais opções terapêuticas citadas: ao invés de atuar na atividade enzimática deficiente nos

pacientes com DF, a TRS age inibindo a conversão de ceramidas em Gb3 e impedindo que este se acumule nos lisossomos. Ao inibir a enzima glucosilceramida sintase, que catalisa a biossíntese de glicoesfingolipídeos, a TRS limita a quantidade de Gb3 produzida, impedindo assim o seu acúmulo (AZEVEDO *et al.*, 2021; FERIOZZI & HUGHES, 2020; VAN DER VEEN *et al.*, 2020). Os principais fármacos em estudo são o Lucerastat (N-butildeoxigalactonojirimicina), derivado da galactose e o Venglustat, derivado de ceramidas, iminoaçúcares que, como as chaperonas moleculares, são moléculas pequenas, de administração oral, que não induzem a formação de anticorpos anti-droga e são capazes de penetrar a barreira hematoencefálica (AZEVEDO *et al.*, 2021; VAN DER VEEN *et al.*, 2020).

A TRS pode ser utilizada como monoterapia em pacientes que apresentem atividade enzimática residual; todavia, para portadores da DF clássica, a TRS não é suficiente para reverter o quadro, sendo mais eficaz em associação com a TRE. Estudos demonstraram que a redução de níveis plásmáticos e urinários de Gb3 foi maior em pacientes em uso de Lucerastat associado a TRE, que em pacientes que utilizavam apenas a TRE. O Lucerastat, administrado em doses de 1000 mg duas vezes ao dia, também demonstrou estabilização da função renal e cardíaca dentro de 12 semanas (AZEVEDO *et al*, 2021; FELIS *et al*, 2020; VAN DER VEEN *et al.*, 2020).

Vale ressaltar que esta modalidade terapêutica deve ser administrada com cautela, pois a inibição de glucosilceramida sintase pode afetar a homeostasia celular (AZEVEDO *et al.*, 2021; VAN DER VEEN *et al.*, 2020). Atualmente, o Lucerastat encontra-se em fase 3 de estudos clínicos, enquanto que o Venglustat encontra-se em fase 2 (FELIS *et al.*, 2020; KANT & ATTA, 2020). A TRS ainda necessita de maiores estudos para demonstrar sua eficácia clínica, e aparenta ser uma medicação segura (FERIOZZI & HUGHES, 2020; KANT & ATTA, 2020). Abaixo, a Figura 9.2 ilustra a ação destas medicações na síntese e ativação da enzima $\alpha$-GAL-A e na produção de Gb3.

**Figura 9.2.** Local de ação dos principais fármacos em uso e em estudo para o tratamento da Doença de Fabry




**Legenda:** É demonstrada a ação de cada terapia nas diferentes etapas da síntese da $\alpha$-GAL-A e da depuração de Gb3. A terapia gênica age inserindo uma versão funcional do gene GLA no DNA da célula através de um vetor viral. O mRNA exógeno encapsulado em nanopartículas lipídicas não altera o gene, mas permite que a célula da pessoa com Doença de Fabry traduza o mRNA exógeno em enzimas funcionais. A chaperona molecular Migalastate liga-se à enzima $\alpha$-GAL-A e induz seu correto enovelamento e transporte do ribossomo para o lisossomo, impedindo que a $\alpha$-GAL-A seja degradada pelo retículo endoplasmático e transformando-na em uma enzima funcional. A terapia de reposição enzimática (TRE) consiste na infusão de uma versão recombinante da $\alpha$-GAL-A, estando aprovada a $\alpha$-algasidase e a $\beta$-algasidase, mas também há outras formas da enzima baseadas em plantas em estudo. Por fim, a terapia de redução de substrato atua numa via diferente das demais terapias, inibindo a enzima glucosilceramida sintase, assim interrompendo a via metabólica das ceramidas e impedindo o acúmulo de globotriasilceramida, causadora da fisiopatologia da Doença de Fabry.
**Fonte:** Adaptado de FELIS *et al*., 2020; VAN DER VEEN *et al*., 2020; KANT & ATTA, 2020.

## CONCLUSÃO

Após a análise dos artigos inclusos na revisão integrativa, foi possível observar que existem interessantes opções terapêuticas para tratar a DF, porém as terapias comercialmente disponíveis atualmente ainda apresentam algumas limitações. Dessa forma, o estudo de terapias em potencial é bastante promissor, haja vista que há alternativas terapêuticas com diferentes tecnologias farmacológicas e abordagens que almejam sanar as pendências deixadas pela TRE e pelas Chaperonas Farmacológicas.

Espera-se que, no futuro, pacientes com DF possam ter acesso a tratamentos que os proporcionem melhora da qualidade de vida, redução das manifestações clínicas da doença e prevenção de sequelas orgânicas. O elevado custo destes tratamentos ainda é um fator que dificulta o acesso ao terapia específica, sendo a TRE com drogas baseadas em plantas uma opção interessante para reduzir custos.

Mais estudos são necessários para elucidar a segurança e eficácia clínica das opções terapêuticas emergentes, bem como a aplicabilidade do tratamento com chaperonas farmacológicas de maneira ampla para a os portadores da DF. A TRE figura ainda como a modalidade mais utilizada no Brasil.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AZEVEDO, O. *et al*. Fabry Disease Therapy: State-of-the-Art and Current Challenges. International Journal of Molecular Sciences, v. 22, p. 206, 2021.

DEROSA, F. *et al*. Improved Efficacy in a Fabry Disease Model Using a Systemic mRNA Liver Depot System as Compared to Enzyme Replacement Therapy. Molecular Therapy, v. 27, p. 878, 2019.

FELIS, A. *et al*. Current and Investigational Therapeutics for Fabry Disease. Kidney International Reports, v. 5, p. 407, 2020.

FERIOZZI, S. & HUGHES, D.A. New drugs for the treatment of Anderson-Fabry disease. Journal of Nephrology, v. 34, p. 221, 2020.

GARIBAY, A.P.R. *et al*. Gene Therapy for Fabry Disease: A Review of the Literature. BioDrugs, v. 27, p. 237, 2013.

KANT, S. & ATTA, M.G. Therapeutic advances in Fabry disease: The future awaits. Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 131, p. 1, 2020.

MAUER, M. *et al*. Fabry disease: Clinical features and diagnosis. UpToDate. 2020a.

MAUER, M. *et al*. Fabry disease: Kidney manifestations. UpToDate. 2020b.

MEHTA, A. Fabry disease: a review of current enzyme replacement strategies. Expert Opinion on Orphan Drugs, v. 3, p. 1319, 2015.

NAGUEH, S.F. Fabry disease: Cardiovascular disease. UpToDate. 2020.

NATIONAL FABRY DISEASE FOUNDATION. National Fabry Disease Foundation, 2021. Página Inicial. Disponível em: <fabrydisease.org>. Acesso em: 14 fev. 2021.

NYHAN, W.L. *et al*. Atlas of Inherited Metabolic Diseases. 3.ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2011.

ODER, D. *et al*. Long-Term Treatment with Enzyme Replacement Therapy in Patients with Fabry Disease. Nephron, v. 134, p. 30, 2016.

RODRÍGUEZ, M.L. Tratamiento en la enfermedad de Fabry. Revista Clinica Espanola, v. 218, p. 489, 2018.

ROMBACH, S.M. *et al*. Natural course of Fabry disease and the effectiveness of enzyme replacement therapy: a systematic review and meta-analysis. Journal of Inherited Metabolic Disease, v. 37, p. 341, 2014.

ROZENFELD, P. & NEUMANN, P.M. Treatment of Fabry Disease: Current and Emerging Strategies. Current Pharmaceutical Biotechnology, v. 12, p. 916, 2011.

SANCHEZ-NIÑO, M.D. *et al*. Globotriaosylshingosine actions on human glomerular podocytes: implications for Fabry nephropathy. Nephrology Dialysis Transplantation, v. 26, p. 1797, 2011.

VAN DER VEEN, S.J. *et al*. Developments in the treatment of Fabry disease. Journal of Inherited Metabolic Disease, v. 43, p. 908, 2020.

YASUDA, M. *et al*. AAV2/6 gene therapy in a murine model of Fabry Disease results in supraphysiological enzyme activity and effective substrate reduction. Molecular Therapy: Methods & Clinical Development, v. 18, p. 607, 2020.

# CAPÍTULO 10

## NANOTECNOLOGIA APLICADA À TERAPÊUTICA DO CANCRO DE MAMA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

*Palavras-chave: Nanotecnologia; Câncer de Mama; Tratamento*

BRUNO ABILIO DA SILVA MACHADO[1]
LUDYMILLA DE LIMA SILVA[2]
FLÁVIA SANTOS PIO[3]
WESLEY ROMÁRIO DIAS MARTINS[4]
BÁRBARA LEITE DA SILVA[5]
GLÁUCIA LORENA SIQUEIRA DA SILVA[6]
DANIELLE DOS SANTOS ARAÚJO[7]
SAMILLY LORÂNA FARIAS DE SOUSA[8]
LAYANNE CAVALCANTE DE MOURA[9]
DANIELA MARTA DA SILVA[10]
REBECA NUNES MARTINS DE OLIVEIRA MACHADO[11]
JOELMA MARIA DOS SANTOS DA SILVA APOLINÁRIO[12]
MARIA CLARA OSÓRIO MENESES CARVALHO[13]
VIVIANE SILVA DE MOURA[13]
YULLE MORAIS GOMES[13]
BEATRIZ CARDOSO MELO[14]
MARIANA PEREIRA BARBOSA SILVA[15]

1. Graduado em Radiologia pelo Centro Universitário Mauricio de Nassau Teresina-UNINASSAU. Pós-graduando em Docência no Ensino Superior pela Faculdade Elesbão Veloso-FAEVE. MBA em Liderança, Inovação e Gestão-FAVENI e Pós-Graduando em Saúde Coletiva-FAVENI.
2. Discente em Biomedicina pela Faculdade Evangélica de Ceres- FECER.
3. Discente em Enfermagem pela Centro Universitário Fametro- CEUNI-FAMETRO.
4. Bacharel em Enfermagem pela Universidade Estadual do Piauí - UESPI. Pós-graduando em Gestão e Auditoria em Serviços da Saúde pela Faculdade Venda Nova do Imigrante - FAVENI.
5. Discente em Fisioterapia pela Universidade Estadual do Piauí - UESPI.
6. Discente em Odontologia pelo Centro Universitário Santo Agostinho-UNIFSA.
7. Graduada em Fisioterapia pelo Centro Universitário do Piauí- UNIFAPI.
8. Graduada em Nutrição pela Universidade Potiguar - UNP.
9. Graduada em Medicina pela Faculdade Integral Diferencial - FACID.
10. Graduada em Nutrição pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM.
11. Discente em Medicina pela Universidade Federal do Piauí - UFPI.
12. Discente em Farmácia pela Uninassau, Campina Grande.
13. Discente em Medicina pela Centro Universitário-Unifacid.
14. Graduanda de Medicina pelo Centro Universitário Uninovafapi.
15. Discente em Enfermagem pela Universidade Estadual do Piauí-UESPI.

## INTRODUÇÃO

De acordo com dados do INCA (Instituto Nacional de Câncer), o câncer de mama é uma doença altamente heterogênea e, por isso, detém a capacidade de evoluir de diferentes formas, uma vez que algumas crescem de maneira rápida e outras têm o desenvolvimento mais lento (INCA, 2019). É caracterizado pela multiplicação rápida de células anormais que crescem além dos seus limites habituais e que podem, através da circulação sanguínea ou linfática, invadir partes adjacentes do corpo e se espalharem para outros órgãos (SILVA, 2016). Essas alterações decorrem de modificações na função de genes que regulam a proliferação, a diferenciação e a morte celular (INCA, 2019).

Conforme Marcone (2015), os nanocarreadores podem ser usados para melhorar a dispersão de luz para técnicas de diagnóstico como a Ressonância Magnética (RM) e Tomografia Computadorizada (TC). Deste modo, as estratégias nanotecnológicas podem tornar possível a visualização de marcadores moleculares que identificam estágios e tipos de câncer, permitindo que os médicos vejam moléculas e células não detectadas por técnicas de imagem convencionais (WONG *et al.*, 2007).

Um dos alvos dos novos tratamentos que utilizam a nanotecnologia é o tratamento do câncer, que não é uma doença única, mas um conjunto de doenças que tem em comum o crescimento descontrolado da célula tumoral (AYMAN *et al.*, 2017). Essas alterações celulares ocorrem devido a modificações na função dos genes que regulam a proliferação, a diferenciação e a morte celular (BUSHATSKY, 2016). Ao passo que essa célula não morre, tende a sofrer a mutação formando uma nova célula que o corpo não reconhece, desenvolvendo assim uma massa celular conhecida como tumor ou câncer (LOPES *et al*., 2018).

Os benefícios da nanotecnologia no tratamento do câncer de mama, seria como montar uma molécula de forma desejada para o carregamento de fármacos na terapêutica do câncer, utilizando átomos como peças fundamentais, ou seja, nanoestruturas para carregar fármacos que combatem o câncer, ou também para ser empregadas como agentes de diagnóstico dessa patologia (COSTA, 2017).

Diante isso, essa revisão bibliográfica tem como objetivo conhecer as aplicações da nanotecnologia no tratamento da neoplasia mamária.

## MÉTODO

Trata-se de uma revisão de bibliográfica em qual foram selecionados artigos através das plataformas de busca virtuais: Scielo e BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). As buscas desses artigos foram realizadas no período de novembro a dezembro de 2020, utilizando os descritores em saúde: “Nanotecnologia na saúde”, “Câncer de Mama” e “Tratamento de Câncer”. Além disso, foi usado o operador logístico booleano “AND” entre os descritores para a estratégia de busca nas bases de dados. Foram utilizados como critérios de inclusão os textos que tratavam de maneira clara e concisa o tema e/ou objetivo abordado, publicados em 2010 a 2020, com acesso livre, disponível na íntegra nos idiomas em português e inglês. Foram excluídos os artigos cujo título e resumo não correspondiam ao objetivo do presente estudo. Após a aplicabilidade dos critérios citados acima,

considerando apenas artigos relacionados com foco na nanotecnologia na saúde e tratamento de neoplasia mamaria.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a busca nas bases de dados e excluídos artigos que não pertenciam ao período selecionado, foram selecionados 880 artigos. Após a leitura dos títulos foram separados 220 artigos. Após a leitura do resumo, foram selecionados 45 estudos. Esses 45 foram lidos na íntegra e, 10 artigos foram incluídos para a discussão acerca do tema proposto.

As neoplasias mamárias constituem um grupo de doenças vasto e heterogêneo, caracterizado pelo crescimento anormal e pela disseminação para os demais tecidos do organismo (MARCONE, 2015). Essas alterações decorrem de modificações na função de genes que regulam a proliferação, a diferenciação e a morte celular (SILVA, 2016). No processo de carcinogênese (processo de formação de câncer), uma célula normal sofre a ação de agentes iniciadores (mutagênico) e de agentes promotores (estimulantes de proliferação celular), os quais causam desarranjos genéticos, que por sua vez levam a autonomia de crescimento dessa população celular e ao surgimento de uma alta instabilidade genética (WONG *et al.*, 2007; VIEIRA & GAMARRA, 2016; DIMER, 2019).

As aplicações da nanotecnologia no tratamento do câncer de mama (CM), possibilitam a obtenção de diagnósticos mais rápidos, precisos e com menor custo, ao mesmo tempo que tornam os procedimentos oncológicos menos invasivos, tornando-os mais seguros e eficientes, provendo ao paciente uma melhor qualidade de vida, bem como maiores possibilidades de cura (DIMER *et al.,* 2019).

Para o tratamento CM destacam-se dois tipos de nanomateriais: o lipossoma e a nanopartícula polimérica (DIMER *et al.,* 2019). Dentre estas, as poliméricas são que apresentam maiores estudos para o carreamento de fármacos. Isso ocorre pelo fato de apresentarem biocompatibilidade e biodegradabilidade, e não serem tóxicas e nem imunogênicas (WONG *et al.*, 2007; VIEIRA & GAMARRA, 2016; DIMER *et al.*, 2019).

De acordo com Vieira & Gamarra (2016) as nanopartículas no tratamento do câncer de mama (CM) possibilitam controlar e melhorar uma propriedade de maior interesse, direcionando um fármaco até as células tumorais, evitando a ação desses em células saudáveis (DIMER *et al.,* 2019).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que os tratamentos tradicionais demonstram uma falta de seletividade e a sua farmacocinética não é a melhor, o que faz com que os agentes terapêuticos reajam com os tecidos adjacentes antes de chegarem ao alvo. Estas lacunas tornam os tratamentos tradicionais bastante tóxicos e pouco eficientes.

Diante disso, as nanopartículas associadas na terapêutica do câncer de mama, consegue-se criar um tratamento com a menor toxicidade possível para o paciente e ao mesmo tempo ser eficaz de modo a eliminarem o tumor por completo e evitar as recidivas da neoplasia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AYMAN, S. *et al*. A review on the efficacy and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer. Biomedicine and Pharmacotherapy, v. 94, p. 1209, 2017.

BUSHATSKY, M. Câncer de mama: ações de prevenção na atenção primária a saúde. Revista de Enfermagem- UFPE Online, v. 8, p. 29, 2016.

COSTA, A.M. Estratégias nanotecnológicas para diagnóstico e tratamento do câncer. Revista Saúde e Meio Ambiente, v. 5, p. 1, 2017.

DIMER F.A. *et al*. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. Química Nova, v. 36, p. 1520, 2019.

INCA. Tipos de câncer. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva., v. 2, p. 1, 2019.

LOPES *et al*. Impacto do câncer de mama e qualidade de vida de mulheres sobreviventes. Revista Brasileira De Enfermagem, Brasília, v. 71, p. 3090, 2018.

MARCONE, G.P.S. Nanotecnologia e nanociência: aspectos gerais, aplicações e perspectivas no contexto do Brasil. Perspectivas da Ciência e Tecnologia, v. 7, p. 13, 2015.

SILVA, C.A.F.M. Nanotecnologia em drug delivery systems e a sua aplicação em terapêuticas anti-cancerígenas. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade De Coimbra, Coimbra. 112 f.

VIEIRA, D.B. & GAMARRA, L.F. Avanços na utilização de nanocarregadores no tratamento e no diagnóstico de câncer. Einstein, v. 1, p. 99, 2016.

WONG, H.L. *et al.* Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev, v. 59, p. 491, 2007.

# CAPÍTULO 11

# PLANTAS MEDICINAIS POTENCIALMENTE UTILIZADAS NO TRATAMENTO DE ÚLCERAS GÁSTRICAS

*Palavras-chave: Plantas Medicinais; Úlcera Gástrica; Úlcera Péptica*

**ISABELLA STELLE MIYASAKI[1]**
**JOÃO LUIZ COELHO RIBAS[2]**

1. Biomédica, mestranda do curso de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Positivo, Curitiba-PR.
2. Farmacêutico e Biomédico, orientador no programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Positivo, Curitiba-PR.

## INTRODUÇÃO

A úlcera é uma doença comum em todo o mundo e é considerada uma escavação ou defeito local devido à perda de tecido necrótico inflamado da superfície de um tecido ou órgão (KUMAR *et al.*, 2010). Tem comum ocorrência em estômago, intestino esôfago, mucosa da boca e entre outros órgãos (AWAAD *et al.*, 2013).

A úlcera gástrica, ou também conhecida como úlcera péptica, é definida como uma perda da parede gástrica que ocorre devido a um desequilíbrio das células epiteliais e faz com que os efeitos protetores do estômago diminuam, propiciando que fatores agressivos promovam uma lesão (KAVITT *et al.*, 2018). Dentre esses fatores agressivos, temos como principais causadores de úlcera péptica a presença da bactéria *H. pylori* e utilização crônica de Antinflamatórios Não Esteroidais (AINES) (CARRETERO, 2016).

A *H. pylori* foi descrita como uma bactéria gram-negativa que tem a capacidade de colonizar o meio ácido e consequentemente a mucosa gástrica. Uma infecção gerada por ela no estômago ocorre principalmente em adultos e em cerca de 50% da população, essa infecção pode gerar desde uma úlcera até um adenocarcinoma gástrico, sendo considerada a primeira bactéria carcinogênica (MAJUMDAR *et al.*, 2010).

A colonização por essa bactéria ocorre no mundo todo, principalmente em pessoas com classe socioeconômica mais baixa (THUNG *et al.*, 2015). Além disso, ela é considerada como uma das bactérias patógenas mais prevalentes e que pode gerar lesões gastrointestinais, desde uma úlcera até um câncer gástrico (GISBERT, 2011).

Para realizar o tratamento da infecção por *H. pylori* são receitados antibióticos como amoxicilina, claritromicina e metronidazol e consequentemente, devido à grande utilização desta classe de medicamentos, as bactérias podem desenvolver resistência a esses antibióticos (ABADI *et al.*, 2018). Atualmente, a resistência já é relatada, dificultando a forma de tratamento (THUNG *et al.*, 2015).

Os AINES são medicamentos utilizados no tratamento de inflamações, febre e dores e consequentemente muito utilizados pela população (BATLOUNI, 2010). Os mais comuns têm como ação inibir as prostaglandinas sintases, também conhecidas como ciclo-oxigenases (COX). Alguns fármacos são inibidores seletivos da COX – 1, outros são inibidores seletivos da COX – 2 e aqueles que inibem tanto a COX – 1, quanto a COX – 2 (BRUNTON *et al.*, 2012).

A COX – 1 é considerada como a fonte dominante dos prostanoides para realizar funções como a hemostasia e a citoproteção epitelial gástrica. Já a COX – 2, é considerada a fonte mais importante de formação de prostanoides em inflamações. Portanto, a inibição de COX – 1 é a principal responsável pelos eventos gástricos, pois diminui a citoproteção das células epiteliais gástricas e consequentemente ficam mais susceptíveis a lesões e formação de úlceras (BRUNTON *et al.*, 2012).

Atualmente, devido à grande utilização de AINES pela população, principalmente de forma crônica para minimizar sintomas como dor, febre e inflamação que são causados por diversas doenças, gerou um aumento da ocorrência de doenças gástricas, desde uma gastrite até mesmo a úlceras gástricas (BATLOUNI, 2010).

Segundo Awaad *et al*. (2013), os produtos naturais como plantas medicinais, podem apresentar atividades anti-ulcerativas por meio de diversos mecanismos que podem ser tanto profiláticos, quanto terapêuticos e em alguns casos podem apresentar ambos os mecanismos. Normalmente os que apresentam mecanismos profiláticos, possuem ações antioxidantes e anti-inflamatórios. Já os que apresentam mecanismos terapêuticos, possuem ações antissecretórios e cicatrizantes.

Atualmente a área da saúde demanda o consumo de equipamentos, imunoderivados e medicamentos que consequentemente necessitam de mais inovações e produtos mais baratos e acessíveis como os fitoterápicos (FREIRE *et al.*, 2014). Portanto, este artigo tem como objetivo discutir a utilização, o efeito e a eficácia das plantas medicinais no tratamento de úlceras gástricas.

## MÉTODO

Para a realização deste trabalho foram pesquisadas as palavras-chave "plantas medicinais", "ulcera gástrica" "tratamento" e seus equivalentes na língua inglesa nas bases de dados *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Plataforma de literatura acadêmica da editora Elsevier (ScienceDirect) e *US National Libery of Medicine National Institutes of Health* (PubMed).

Os critérios de inclusão foram artigos disponíveis nos idiomas português e inglês nas bases de dados citadas anteriormente e publicados entre os anos de 2010 e 2020. Foram utilizados como critério de exclusão os editoriais, comentários de outros artigos, cartas ao editor, artigos publicados antes do ano de 2010, artigos de revisão e artigos duplicados ou que não fossem relacionados a úlceras ou tratamento de úlceras com plantas medicinais.

Foram encontrados 109 trabalhos. No entanto, após a leitura e verificação dos estudos, utilizando os critérios de exclusão, 77 trabalhos foram excluídos. No final da pesquisa, a amostra foi composta de 32 artigos que se enquadram nos objetivos deste estudo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas medicinais são utilizadas há muitos anos para tratar e diminuir os sintomas de doenças e ainda são utilizadas em diversas comunidades como uso terapêutico e além disso estão sendo cada vez mais estudadas como fonte de novas substâncias ativas e utilizadas para a produção de fitoterápicos (DUTRA *et al.*, 2016; LEITÃO *et al.*, 2014). Estudos com produtos naturais, principalmente com plantas medicinais vem sendo cada vez mais realizados com o objetivo de pesquisar novos compostos que possuam potencial farmacológico (BENTO *et al.*, 2018; PINHEIRO *et al.*, 2020).

A úlcera gástrica é considerada a doença gastrointestinal mais predominante na população, é uma perda da parede gástrica gerada pelo desequilíbrio das células epiteliais, promovendo uma diminuição dos efeitos protetores. Consequentemente, fatores agressivos como a utilização crônica de AINES e a presença da bactéria *H. pylori*, podem gerar uma úlcera gástrica (CARRETERO, 2016; KAVITT *et al.*, 2018).

A bactéria *H. pylori* é encontrada comumente em estômagos de humanos ou até mesmo de primatas e que pode persistir por muitos anos. A colonização por essa bactéria ocorre no mundo

todo, principalmente em pessoas com classe socioeconômica mais baixa. Além disso, ela é considerada como uma das bactérias patógenas mais prevalentes e que pode gerar lesões gastrointestinais, desde uma úlcera até um câncer gástrico (GISBERT, 2011; THUNG, *et al.*, 2015).

Para realizar o tratamento da infecção por *H. pylori* são receitados antibióticos como amoxicilina e claritromicina. Atualmente, essa forma de tratamento não é extremamente eficaz, pois já existem muitos relatos de resistência bacteriana (THUNG, *et al.*, 2015; ABADI *et al.*, 2018).

Além disso, medicamentos como os AINES, que são utilizados frequentemente pela população como automedicação de diversos sintomas como febre e dores que ocorrem em diversas doenças, são prejudiciais, pois geram inibição de COX e consequentemente diminuem a proteção gástrica, promovendo maior susceptibilidade no desenvolvimento de lesões gástricas (BRUNTON *et al.*, 2012).

A pesquisa de plantas medicinais para a produção de fitoterápicos não tem somente como objetivo definir estes compostos e substâncias, mas também visa alertar que para que estes compostos continuem sendo extraídos e descobertos. Além disso os fitoterápicos podem ser uma opção para tratar diversas doenças gerando um menor índice de efeitos colaterais, mesmo se utilizado por um longo período, além de possuir uma maior tolerabilidade (DUTRA *et al.*, 2016; FREIRE *et al.*, 2014).

Segundo AWAAD *et al.* (2013), os produtos naturais como plantas medicinais, podem apresentar atividades anti-ulcerativas por meio de diversos mecanismos que podem ser profiláticos, terapêuticos e em alguns casos apresentam ambos os mecanismos. Por este motivo é de extrema importância que estudos sejam realizados para a detecção de novos métodos e compostos para tratamento (LEMOS *et al.*, 2015).

A planta *Ephedra pachyclada*, popularmente utilizada no Irã contra desordens gastrointestinais foi estudada por Pirbalouti *et al*. (2013), utilizando seu extrato hidroalcóolico e apresentou resultados significantes para sua eficácia na cicatrização de úlceras experimentalmente induzidas em ratos.

Saberi *et al.* (2016), apresentam um estudo realizado com extrato metanoico de *Melissa officinalis*, demonstrando seu efeito de proteção gástrica contra úlceras experimentais em ratos, porém não determinam qual o exato mecanismo que gera esse efeito. Concluem que é possível que o efeito se dê pelo aumento de defesas antioxidantes enzimáticas e pela inibição de peroxidação lipídica.

Nos estudos de Torres *et al*. (2018), a planta *Euterpe edulis* apresentou efeitos mais efetivos de proteção contra a hiperemia da mucosa do que um medicamento de uso contínuo que é rotineiramente indicado para o tratamento de úlceras gástricas. Dessa forma, é possível que essa planta se comporte como o medicamento padrão já utilizado para o tratamento de úlceras pépticas em seres humanos, mostrando que possui um potencial terapêutico significativo.

Já a planta *Annona muricata* demonstrou efeito anti-úlcerativo significativo por úlceras gástricas causadas por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina, mediado por prostaglandinas endógenas (BENTO *et al.*, 2018).

Além de plantas popularmente conhecidas por apresentarem possível efeito anti-úlcerativo, também são estudadas plantas popularmente utilizadas para cicatrização de feridas, como a *Celosia*

*trigyna*, que apresentou eficácia no manejo de úlceras gástricas e seus resultados foram comparáveis ao omeprazol (OFUSORI *et al.*, 2019).

Os extratos da *Byrsonima intermedia* utilizados em porção acetato etílico e aquoso apresentaram efeitos anti-úlcerativos distintos e significantes para o tratamento de úlceras gástricas, porém a dose de cada porção deve ser utilizada com cautela (SANTOS *et al.*, 2019).

Um tratamento de 14 dias com o extrato aquoso de *Althaea officinalis* ou de *Solanum* nigrum podem ser efetivos segundo Zaghlool *et al.* (2019) para úlceras gástricas. Ambas possuem ação de supressão de citocinas pró-inflamatórias, inibição da liberação de histamina e efeito antioxidante.

Já o extrato de *Hymenaea stigonocarpa* possui efeito de proteção gástrica pela prevenção da depleção de GSH e pela inibição da atividade da mieloperoxidase na mucosa duodenal e gástrica. Estes efeitos podem ser atribuídos ao efeito antioxidante devido à presença de taninos e flavonoides presentes na casca e nos frutos da planta. Além disso seu fruto também foi estudado e demonstrou um poderoso efeito cicatrizante, podendo ser considerado uma importante fonte alimentar para o tratamento de úlceras pépticas (ORSI *et al.*, 2012).

O estudo realizado por Eswaran *et al.* (2010), demonstrou que o extrato de folhas de *Cinnamomum tamala*, apresentou efeitos de proteção da mucosa gástrica tanto de úlceras causadas por agentes químicos, como os AINES, quanto as úlceras causadas por estresse. Além disso, essa planta promoveu uma inibição da secreção de ácido gástrico.

Silva *et al.* (2016), investigou o efeito anti-úlcerativo da planta *Memora nodosa*, popularmente conhecida e utilizada no cerrado brasileiro para tratamento de úlceras externas. O extrato etanólico da *M. nodosa* apresentou uma resposta positiva em úlceras induzidas principalmente por AINES. Essa atividade de proteção gástrica pode estar relacionada ao aumento da secreção de muco na cavidade gástrica.

Algumas plantas que são popularmente indicadas para doenças gastrointestinais foram estudadas com o intuito de avaliar se tinham potencial anti-úlcerativo e como resultado apresentaram atividades anti-inflamatórias, citoprotetoras e que podem ter ações benéficas para superar a patogênese de certas desordens causadas pela *H. pylori* (ZAIDI *et al.*, 2012).

Foi possível observar também resultados positivos no estudo realizado por Yang *et al.* (2011), que analisou o efeito antibacteriano da *Cinnamomum cassia* extraída em diversos métodos. Como resultado, mostrou que a planta causa lise e erradicação das bactérias *H. pylori* por degradação da membrana celular.

Há estudos que utilizaram plantas de famílias distintas e que demonstraram efeitos anti-úlcerativos semelhantes. Freitas *et al.* (2011), obteve como resultado um efeito anti-úlcerativo devido a indução do aumento de secreção de muco utilizando extrato etanólico do caule de *Zanthoxylum rhoifolium*. O estudo de Lemos *et al.* (2015), demonstrou o mesmo efeito pelo aumento de secreção utilizando o extrato de *Copaifera langsdorffii*.

O estudo de Oliveira *et al.* (2018), demonstrou que os polissacarídeos extraídos da infusão da planta *Sedum dendroideum* apresentaram resultados positivos contra úlcera gástrica pela manutenção de mecanismos de defesa gástrica como os níveis de GSH e de muco na cavidade gástrica.

O extrato aquoso das folhas de *Terminalia catappa* demonstrou uma atividade importante contra *H. pylori* e efeito preventivo e curativo em ulceras induzidas, tanto agudas como crônicas.

Os mecanismos de proteção gástrica nesse caso são relacionados ao estímulo de muco e prostaglandinas endógenas (SILVA *et al.*, 2015). Já Mabeku *et al.* (2017), obteve como resultado de seu estudo um efeito anti-ulcerativo com ação citoprotetora utilizando extrato metanólico de *Aframomum pruinosum*.

Além de efeitos como aumento da secreção de muco, é possível que o efeito de proteção gástrica seja devido a outros mecanismos como ação de prevenção da geração de cascatas prejudiciais de radicais livres e à liberação de radicais oxidantes. Esse efeito é encontrado no estudo de Rajakrishnan *et al.* (2020), que utilizou o extrato de *Aconitum heterophyllum*.

No Quadro 11.1, é possível observar um resumo das principais drogas vegetais publicadas e inclusas neste trabalho correlacionando a sua atividade biológica e seu mecanismo de ação em úlceras gástricas induzidas em ratos. Observa-se que as plantas medicinais com conhecimento popular de efeito benéfico contra desordens gastrointestinais foram estudadas para analisar e comprovar seus efeitos. Alguns estudos realizaram uma análise mais detalhada, permitindo identificar os compostos ativos e seu meio de atuação.

Diversos dos estudos inclusos neste trabalho, possuem efeito gastroprotetor e é possível observar que esse efeito é gerado por diversos mecanismos de ação como a depleção de GSH, inibição a atividade da mieloperoxidase na mucosa gástrica, inibição da secreção do ácido gástrico, estímulo da liberação de muco gástrico, manutenção dos níveis de GSH e entre outros mecanismos.

Em alguns casos, as plantas demonstraram um efeito de prevenção de úlceras gástricas, ou seja, evitaram a formação de lesões na mucosa gástrica. Essa ação pode ser gerada pelos mecanismos de liberação de óxido nítrico, efeito antioxidante e anti-inflamatório.

Além disso, a maioria dos estudos analisados utilizam extratos aquosos, porém não é possível observar nenhuma relação direta de atividade e mecanismo de ação pelo tipo de extração realizado. Em diversos casos, observamos efeitos semelhantes que ocorrem utilizando diferentes extrações diferentes.

**Quadro 11.1.** Mecanismos de ação dos compostos vegetais utilizados para o tratamento de úlceras gástricas em ratos

| DROGA VEGETAL | ATIVIDADE | MECANISMO DE AÇÃO | REFERÊNCIA |
|---|---|---|---|
| Extrato hidroalcoólico de *Ephedra pachyclada.* | Acelera a cicatrização de úlceras. | Presença de moléculas eliminadoras de radicais livres. | PIRBALOUTI *et al.*, 2013. |
| Compostos bioativos extraídos da *Celosia trigyna.* | Diminui o grau de ulceração | Intensifica os principais metabólitos secundários (luteína, feofitina e esteróis). | OFUSORI *et al.*, 2019. |
| Extrato aquoso das folhas de *Terminalia catappa* | Efeito preventivo e curativo | Estímulo da produção de muco e prostaglandinas endógenas. | SILVA *et al.*, 2015. |
| Extrato etanólico de *Cinnamomum cassia.* | Erradicação das bactérias *H. pylori.* | Gera degradação da membrana celular das bactérias *H. pylori.* | YANG *et al.*, 2011. |
| Extrato hidroalcoólico de *Annona muricata* (graviola) | Gastroproteção | Estímulo de prostaglandinas gástricas endógenas | BENTO *et al.*, 2018. |
| Extrato etanólico de raízes de *Memora nodosa.* | Gastroproteção | Aumenta a produção de muco gástrico. | SILVA *et al.*, 2016. |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Extratos metanólicos de *Melissa officinalis* | Gastroproteção | Não analisado | SABERI *et al.*, 2016. |
| Extrato metanólico de *Hymenaea stignocarpa.* | Gastroproteção | Promove a depleção de GSH e inibe a atividade da mieloperoxidase na mucosa gástrica. | ORSI *et al.*, 2012. |
| Extrato etanólico de *Cinnamomum tamala.* | Gastroproteção | Inibição da secreção de ácido gástrico | ESWARAN *et al.*, 2010. |
| Extrato aquoso de *Sedum dendroideum.* | Gastroproteção | Promove a manutenção dos níveis de GSH e muco na cavidade gástrica. | OLIVEIRA *et al.*, 2018. |
| Extrato metanólico de *Aframomum pruinosum.* | Gastroproteção | Ação citoprotetora. | MABEKU *et al.*, 2017. |
| Extrato hidroalcoólico de *Aconitum heterophyllum.* | Gastroproteção | Previne cascatas prejudiciais de radicais livres e liberação de radicais oxidantes. | RAJAKRISHNAN *et al.*, 2020. |
| Extrato aquoso de *Euterpe edules* (juçara) | Prevenção de úlceras gástricas | Não analisado | TORRES *et al.*, 2018. |
| Extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) | Prevenção de úlceras gástricas | Não analisado | TORRES *et al.*, 2018. |
| Extrato etanólico de *Zanthoxylum rhoifolium.* | Prevenção de úlceras gástricas | Gera liberação de óxido nítrico | FREITAS *et al.*, 2011. |
| Extrato etílico de *Byrsonima intermedia* | Prevenção de úlceras gástricas | Atividade antiinflamatória no tecido gástrico e duodenal. | SANTOS *et al.*, 2019. |
| Extrato aquoso de *Byrsonima intermedia* | Prevenção de úlceras gástricas | Efeito antioxidante | SANTOS *et al.*, 2019. |
| Extrato aquoso de *Althaea officinalis.* | Prevenção de úlceras gástricas | Supressão de citocinas pró-inflamatórias, inibe a liberação de histamina e o efeito antioxidante. | ZAGHLOOL *et al.*, 2019. |
| Extrato aquoso de *Solanum nigrum.* | Prevenção de úlceras gástricas | Supressão de citocinas pró-inflamatórias, inibe a liberação de histamina e o efeito antioxidante. | ZAGHLOOL *et al.*, 2019. |
| Extrato hidroalcoólico de *Copaifera langsdorffii.* | Prevenção de úlceras gástricas | Gera liberação de óxido nítrico | LEMOS *et al.*, 2015. |

## CONCLUSÃO

É possível observar que plantas medicinais conhecidas popularmente por possuírem possíveis efeitos contra desordens gastrointestinais são estudadas para comprovar seus efeitos, assim como identificar seus compostos e o meio de atuação. Para estes estudos são utilizados extratos das plantas, como etanólico, metanólico e hidroalcóolico ou até mesmo polissacarídeos extraídos.

Essa revisão permite concluir que as plantas medicinais possuem efeitos significantes contra úlceras gástricas geradas por diversos fatores, como AINES, estresse, indução por álcool absoluto e até mesmo por *H. pylori*. Portanto, é importante que estudos continuem sendo realizados, possibilitando a detecção de novos compostos para a produção de fitoterápicos anti-ulcerativos.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ABADI, A.T.B. *et al*. *Helicobacter pylori* therapy and clinical perspective. Journal of Global Antimicrobial Resistance, v. 14, p. 111, 2018.

AWAAD, A.S. *et al*. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. Journal of Saudi Chemical Society, v.17, p.101, 2013.

BATLOUNI, M. Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cerebrovasculares e Renais. Sociedade Brasileira de Cardiologia, v. 94, p. 556, 2010.

BENTO, E.B. *et al*. Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves os *Annona muricata* Linnaeus in mice, v. 25, p. 609, 2018.

BRUNTON, L.L. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman. 12°ed. Porto Alegre: AMGH Ltda. 2012.

CARRETERO, C. Úlcera péptica. Revista de la educación superior de Medicina., v. 12 p. 111, 2016.

DUTRA, R.C. *et al*. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug Discovery, challenges and perspectives. Pharmacological research, v. 112, p.4, 2016.

ESWARAN, M.B. *et al*. Gastroprotective activity of *Cinnamomum tamala* leaves on experimental gastric ulcers in rats. Journal of Ethnopharmacology, v. 128, p. 537, 2010.

FREIRE, C.T. *et al*. Biotecnologia em saúde humana no Brasil: produção científica e pesquisa e desenvolvimento. Novos Estudos - CEBRAP, v. 98, p. 69, 2014.

FREITAS, F.F.B.P. *et al*. Gastroprotective activity of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. in animal models, v. 137, p. 700, 2011.

GISBERT, J.P. Enfermedades relacionadas con *Helicobacter pylori*: dispepsia, úlcera y cáncer gástrico. Gastroenterología y hepatología, v. 34, p. 16, 2011.

KAVITT, R.T. *et al*. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer Disease. The American Journal of Medicine. v. 132, p. 447, 2019.

KUMAR, V. *et al*. Bases Patológicas das Doenças. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2010.

LEITÃO, F. *et al*. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: An overview on their botanical diversity and toxicological potential. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 24, p. 225, 2014.

LEMOS, M. *et al*. *Copaifera langsdorffii*: evaluation of potential gastroprotective of extract and isolated compounds obtained from leaves, v. 25, p. 238, 2015.

MABEKU, L.B.K. *et al*. Anti-Helicobacter pylori and antiulcerogenic activity of *Aframomum pruinosum* seeds on indomethacin-induced gastric ulcer in rats, v. 55, p. 929, 2017.

MAJUMDAR, D. *et al*. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. Medicine, v. 39, p. 154, 2010.

OFUSORI, A.E. *et al*. Antiulcerogenic effects of *Celosia trigyna* plant extracts on ethanol induced gastric ulcer in adult Wistar rats, v. 10, p. 1, 2019.

OLIVEIRA, A.F. *et al*. Gastroprotective activity of a pectic polysaccharide fraction obtained from infusion of *Sedum dendroideum* leaves, v. 41, p. 7, 2018.

ORSI, P.R. *et al*. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models, v. 143, p. 81, 2012.

PINHEIRO, M.A. *et al*. Gastroprotective effect of alpha-pinene and its correlation with antiulcerogenic activity of essential oils obtained from Hyptis species, v. 11, p. 123, 2020.

PIRBALOUTI, A.G. *et al*. Healing effect of hydro-alcoholic extract of *Ephedra pachyclada* Boiss. In experimental gastric ulcer in rat, v. 70, p. 1003, 2013.

RAJAKRISHNAN, R. *et al*. Therapeutic efficacy of the root tubers of *Aconitum heterophyllum* and its substitute *Cyperus rotundus* in the amelioration of pylorus ligation induced ulcerogenic and oxidative damage in rats, v. 27, p. 1124, 2020.

SABERI, A. *et al*. The Effects of Methanolic Extract of *Melissa officinalis* on experimental gastric ulcers in rats, v. 18, p. 1, 2016.

SANTOS, R.C. *et al*. *Byrsonima intermedia* A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and antiinflammatory activities, v. 111, p. 1112, 2019.

SILVA, D.M. *et al.* The gastroprotective effect of *Memora nodosa* roots against experimental gastric ulcer in mice, v. 88, p. 1819, 2016.

SILVA, L.P. *et al. Terminalia catappa* L.: A medicinal plant from the Caribbean pharmacopeia with anti-Helicobacter pylori and antiulceraction in experimental rodent models, v. 159, p. 285, 2015.

THUNG, I. *et al.* Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, v. 43, p. 514, 2015.

TORRES, O.J.M. *et al*. Atividade de *Orbignya phalerata* e Euterpe edules na prevenção e tratamento da úlcera péptica em ratos, v. 31, p. 1, 2018.

YANG, C. *et al.* Antimicrobial activity of various parts of *Cinamomum cassia* extracted with different extractions methods. Journal of Food Biochemestry, v. 36, p. 1, 2011.

ZAGHLOOL, S.S. *et al.* Gastro-Protective and Antioxidant Potential of *Althaea offcinalis* and *Solanum nigrum* on Pyloric Ligation/Indomethacin-Induced Ulceration in Rats, v. 512, p. 1, 2019

ZAIDI, S.F. *et al.* Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in *Helicobacter pylori* -infected gastric epithelial cells. Journal of Ethnopharmacology, v. 141, p. 403, 2012.

# CAPÍTULO 12

## BIOATIVIDADES ATRIBUÍDAS AO LÁTEX EXTRAÍDO DA PLANTA *Euphorbia tirucalli* L

*Palavras-chave: Compostos Bioativos Vegetais; Euphorbia; Látex*

NIERLLY VALESSA DA SILVA ALVES[1]
CAMILA CRISTINA DA SILVA MIRANDA[2]
LETÍCIA LOPES DE ARAÚJO SOUSA[2]
AMANDA OLIVEIRA BRITO[2]
ESTER CARVALHO PAIVA[2]
HENRIQUE HIDELBRANDO MENDES SILVA[2]
JOSIEL SOUSA FERREIRA[2]
RENAN JOSÉ SOUSA GONÇALVES[2]
MATHEUS HENRIQUE PEREIRA ALVES[2]
LAYANE AIALA DE SOUSA LOPES[3]

1. Discente de Farmácia - Centro Universitário Dom Bosco, São Luís/MA.
2. Discente de Farmácia - Centro Universitário UniFacid, Teresina/PI.
3. Discente de Medicina - Faculdade Metropolitana São Carlos, Rio de Janeiro/RJ.

## INTRODUÇÃO

Observa-se que a utilização empírica de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática ancestral, baseada, primordialmente, nas trocas de conhecimento de diferentes culturas. Nesse contexto, deve-se atentar para o conhecimento popular acerca de plantas medicinais como possível potencial de algumas espécies para a produção de novos fármacos (SILVA *et al*., 2007).

Dentro dessa perspectiva, a *Euphorbia tirucalli,* pertencente da família Euphorbiaceae*,* é comumente encontrada em regiões mais quentes. No Brasil, é popularmente conhecida como avelós, labirinto, árvore de São Sebastião, cega-olho, dedo do diabo, figueira do diabo, entre outros, é uma planta suculenta, originária da África e de ampla ocorrência nos países tropicais (WAKZUK *et al*., 2012).

O látex da *E. tirucalli* é utilizado na medicina popular desde pelo menos 400 a.C., devido às suas propriedades corrosivas, principalmente à sua atividade contra verrugas (BATISTA *et al*., 2014). No entanto, diversos estudos mostram que o látex proveniente das várias partes da planta é considerado tóxico e, quando ingerido, pode causar vômitos, diarreias e hemorragias por irritação da mucosa gástrica (BARROSO *et al*., 2017).

A espécie vegetal apresenta princípios ativos que são responsáveis por algumas atividades biológicas, como: anti-tumoral câncer de mama, de pulmão, cervical, de colo, de esôfago e de boca), antimutagênica, antibacteriana, irritante, laxativa, antisséptica, desinfetante, anti-inflamatória. Além disso, na composição fitoquímica do látex pode-se encontrar: esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos, cumarinas e alcaloides (FERNANDO *et al*., 2017; WAKZUK *et al*., 2012). Diante disso, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão de literatura acerca das bioatividades atribuídas ao látex da planta *Euphorbia tirucalli* L.

## MÉTODO

Trata-se de uma revisão da literatura de natureza qualitativa, métodos esses essenciais para a interpretação aliada a opiniões do pesquisador sobre a abordagem escolhida (PEREIRA *et al*., 2018). Para isso, realizou-se o levantamento de artigos nas plataformas Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e *Science Direct*. Os termos utilizados foram pesquisados em Descritores em Ciência da Saúde (Decs) da BVS, consistindo em: “Avelós”, “*Euphorbia*”, “Látex” “Bioativos vegetais” em português e inglês.

Adotou-se como critérios de inclusão: artigos publicados nos últimos cinco anos (2015-2020) e estudos de cunho experimental com o látex da espécie. Foram excluídas investigações incompletas e réplica entre as plataformas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados 25 artigos e apenas 12 fizeram parte da amostra final da pesquisa. Após a leitura dos artigos, organizou-se os dados em um quadro sinóptico contendo autor, ano, organismo teste e principais resultados apresentados no Quadro 12.1. Os estudos dos autores: Arruda (2015),

Ibrahim *et al*. (2018) e Palharrine *et al*. (2017) tiveram mais de um organismo teste, apresentando resultados variados.

**Quadro 12.1.** Características e principais resultados dos estudos interpretados

| Autor (ano) | Organismo-teste | Resultados |
|---|---|---|
| **Araújo *et al.* (2015)** | Ratos com peritonite induzida | Estimulou maior formação de aderências intestinais e evitou o óbito de todos animais com peritonite até o período avaliado. |
| **Arruda (2015)** | • Bactérias Gram positivas e negativas e fungos de importância clínica (inoculação)<br>• Células de carcinoma uterino (in vitro) | • Não houve inibição de crescimento de microrganismos.<br>• Redução da proximidade e total desadesão das células |
| **Barroso *et al.* (2017)** | Hamsters com carcinogênese induzida na língua e mucosa | Reduziu tamanho das lesões e houve ação na resposta imunológica |
| **Bessa *et al.* (2015)** | Membranas corioalantóicas de ovos de galinha fertilizados | Aumentou a formação de rede vascular |
| **Castro *et al.* (2018)** | Streptococcus agalactiae (inoculação) | Não houve inibição de crescimento |
| **Colasso *et al.* (2019)** | Larvas infectadas por Staphylococcus aureus | Eficácia como agente anti-infeccioso |
| **De Sousa *et al.* (2019)** | Macrófagos e células cancerígenas de adenocarcinoma gástrico (in vitro) | Atividade imunomoduladora, diminuindo citocinas pró-inflamatórias |
| **Franco-Salla *et al.* (2016)** | Linhagem celular de carcinoma dermoide da laringe (in vitro). | Mostrou diminuição do tamanho celular e modificação em genes responsáveis pela resposta inflamatória |
| **Ibrahim *et al.* (2018)** | • Ratos vacinados e não vacinados contra tétano toxoide.<br>• Bactérias de importância clinica Gram positivas e negativas (inoculação). | • Houve aumento da produção de citocinas e anticorpos, estimulando tanto a resposta imune adaptativa e inata.<br>• Alta inibição contra gram-negativas e baixa a moderada contra gram-positivas. |
| **Martins *et al.* (2020)** | Ratos Wistar machos portadores e não-portadores de tumor (isolamento celular). | Diminuição da célula tumoral e atividade sugestiva de imunomodulação |
| **Oliveira *et al.* (2014)** | Cryptococcus neoformans | Mostrou atividade antifúngica contra a cepa testada |
| **Palharrine *et al.* (2017)** | • In vivo por transplante modelo de células EAC em camundongos.<br>• Staphylococcus aureus e Escherichia coli (discos de filtro de papel).<br>• Toxoplasma gondii (in vitro). | • Inibiu o carcinoma ascítico de Ehrlich in vivo, apresentando propriedades antiproliferativas.<br>• Maior inibição na Gram-negativa.<br>• Inibição da replicação do parasita |

Como observado no Quadro 12.1, grande parte dos trabalhos analisados estudaram a ação do látex frente a inibição de crescimento de tumor, onde todos os incluídos na revisão mostraram resultados satisfatórios. Arruda *et al*. (2015), Barroso *et al*. (2017), De Sousa *et al*. (2019) e Franco-

Salla *et al*. (2016), Martins *et al*. (2020) observaram que ocorreu diminuição dos tamanhos e desadesão das células tumorais. Já Palharini *et al*. (2017) observou que houve inibição do carcinoma ascítico de Ehrlich *in vivo* e também apresentou propriedades antiproliferativas.

Além de atividades relacionas ao câncer, tais pesquisas também observaram a capacidade do látex como imunomodulador. Cabe citar ações como: estímulo de geness responsáveis pela resposta inflamatória, de macrófagos e estimulo da resposta imunológica inata e adaptativa. Ibrahim *et al*. (2018) relatou em seu estudo com ratos vacinados e não vacinados contra tétano, que ocorreu aumento significativo dos anticorpos, citocinas e da resposta imune inata e adaptativa.

Nos primeiros estudos relacionados aos metabólitos Fürstenberger e Hecker (1986), relataram efeitos negativos do consumo do Avelóz em função da presença de um éster diterpenoide, uma vez que sua estrutura é altamente insaturada. Assim, sugeriram a possibilidade de o látex do Avelóz ter atividade carcinogênica justamente por causa de sua estrutura. Os flavonoides presentes na espécie vegetal, por sua vez, possuem várias ações terapêuticas, dentre elas a ação anti-inflamatória e antioxidante, promovendo efeito quimioprotetor (SILVA *et al*., 2007).

Em segundo plano, Araújo *et al*. (2015) mostrou a atividade anti-inflamatória em ratos com peritonite induzida e pode observar também aumento da sobrevida dos animais. Já Bessa *et al*. (2015) mostrou a propriedade angiogênica do látex ao aplicá-lo em membranas corioalantóicas de ovos de galinha fertilizados.

A atividade pró-angiogênica e anti-inflamatória do látex também tem relação com a sua toxicidade, embora diluído em ambos estudos, levou à migração de neutrófilos e macrófagos no local da inflamação (VARGAS *et al*., 2007). Desse modo, tem-se as células inflamatórias como importantes ativadores de neoangiogênese através da produção de citocinas, interleucinas, endotélio vascular, fator de crescimento e fator ativador de plaquetas. Esses fatores são específicos de células que têm papéis importantes na ativação e propagação da resposta inflamatória, que eventualmente levam ao crescimento de capilares pré-existentes e a neoangiogênese (ZIJLSTRA *et al*., 2006).

Arruda *et al*. (2015), Carvalho-Castro *et al*. (2018), Ibrahim *et al*. (2018), Palharini *et al*. (2017), analisaram os extratos do látex frente a cepas de importância clínica gram-positivas e negativas. Nos dois primeiros, não houve inibição de crescimento. Por outro lado, os demais apresentaram inibição de média a alta quando em bactérias gram-negativas e baixa a nenhuma ação quando em gram-positivas. Oliveira *et al*. (2014) testou a atividade antifúngica da planta frente a cepa *Cryptococcus neoformans* demonstrando bons resultados. Outrossim, Colasso *et al*. (2019) demonstrou a atividade anti-infecciosa do látex em Larvas infectadas por *Staphylococcus aureus*.

São encontrados no látex da *E. tirucalli* o ácido cítrico, o ácido málico e o ácido elágico, que tem ações antibacterianas. Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal e são os metabólitos secundários mais abundantes encontradas em plantas. O seu papel principal é sua ação como antibacteriano. Os flavonoides demonstraram uma ampla gama de efeitos bioquímicos e farmacológicos, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórios e antifúngicos (ROCHA & DANTA, 2009)

Estudos apresentaram uma melhor atividade antimicrobiana do extrato metanólico de avelóz quando comparado com o extrato aquoso, demonstrando a importância da escolha do método de extração de uma droga vegetal, o que está relacionado aos estudos que negativaram (PAREKH, 2005). Por fim, Palharini *et al*. (2017) analisou também a atividade antiparasitária frente ao

*Toxoplasma gondii* (*in vitro*), onde obteve inibição da replicação do parasita na sua forma taquizoítica.

## CONCLUSÃO

Diante do exposto, foi possível observar que as bioatividades do látex da *Euphorbia tirucalli* presentes na literatura são, em grande parte, relacionadas ao sistema imunológico. Tão ação, está diretamente ligada à sua ação em células tumorais, anti-inflamatória e neoangiogênico. Além disso, houve relatos também de inibição de crescimentos de microrganismos - como fungos, bactérias e parasitas. Destarte, ainda são necessários estudos complementares para elucidar possíveis mecanismos de ação atribuídos a tais atividades biológicas.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ARAÚJO, L.A *et al*. Efeitos do tratamento tópico com o látex da *Euphorbia tirucalli* na sobrevida e nas aderências intestinais de ratos com peritonite experimental. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva, v. 28, p. 243, 2015.

ARRUDA, M.F.C. *et al*. Atividade antimicrobiana e toxicidade do látex de *Euphorbia tirucalli* l. (aveloz). Revista Cubana De Plantas Medicinales, v. 20, p. 492, 2015.

BARROSO, P.R. *et al*. Effect of crude latex from *Euphorbia tirucalli* on DMBA induced carcinogenesis. Journal Of Histology & Histopathology, v. 4, p. , 2017.

BATISTA, E.K.F. *et al*. Avaliação do efeito de formulações com o látex da *Euphorbia tirucalli* na terapêutica tópica de feridas cutâneas: aspectos clínicos e histopatológicos. Medicina Veterinária, v. 8, p. 1, 2014.

BESSA, G.B. *et al*. Angiogenic activity of latex from *Euphorbia tirucalli* linnaeus 1753 (plantae, euphorbiaceae). Brazilian Jounal of Biology, v. 75, p. 752, 2015.

CASTRO, G.A. *et al*. Avaliação da eficiência antibacteriana de extrato de lentinula edodes e da solução aquosa do látex de E*uphorbia tirucalli* frente à bactéria *Streptococcus agalactiae:* estudos preliminares. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 16, p. 1, 2018

COLASSO, A.H.M. *et al*. The latex of *Euphorbia tirucalli* inhibits staphyloxanthin production and protects *Tenebrio molitor* larvae against *Staphylococcus aureus* infection. Natural Product Research, v. 34, p. 3536, 2019.

DE SOUZA, L.S. *et al*. Analytical methods to access the chemical composition of an Euphorbia tirucalli anticancer latex from traditional Brazilian medicine. Journal of Ethnopharmacology, v. 237, p. 255, 2019.

FERNANDO, F.C.B. *et al*. Estudo fitoquimico de *Euphorbia tirucalli* l. (avelós), atividade antimicrobiana e ensaios toxicológicos preliminares in vitro. Revista Cubana de Plantas Medicinales, v. 22, p. 1028, 2017.

FRANCO-SALLA, G.B. *et al*. *Euphorbia tirucalli* modulates gene expression in larynx squamous cell carcinoma. Complementary and Alternative Medicine, v. 16, p. 1, 2016.

FÜRSTENBERGER, G. & HECKER, E. On the active principles of the euphorbiaceae, xii. highly unsaturated irritant diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* originating from madagascar. Journal of Natural Products, v. 49, p. 386, 1986.

IBRAHIM, E.H. *et al*. Th1/ th2 chemokines/cytokines profile in rats treated with tetanus toxoid and *Euphorbia tirucalli*. Saui Journal of Biological Sciences, v. 26, p. 1716, 2019.

MARTINS, C.G. *et al*. Consumption of latex from *Euphorbia tirucalli* l. promotes a reduction of tumor growth and cachexia, and immunomodulation in walker 256 tumor-bearing rats, Journal of Ethnopharmacology, v. 12, p. 255, 2020.

OLIVEIRA, L.F.S. *et al*. Antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* strains and genotoxicity assessment in human leukocyte cells of *Euphorbia tirucalli* l. Brazilian Journal of Microbiology, v. 45, p. 1349, 2014.

PALHARINI, J.G *et al*. Eutirucallin: a lectin with antitumor and antimicrobial properties. Frontiers In Cellular and Infection Microbiology, v. 7, p. 1, 2017.

PAREKH, J. *et al*. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. Turkie Journal of Biology, v. 29, p. 3, 2005

PEREIRA, A.S. *et al*. Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. santa maria. v. 1, n. 1, p. 67,. 2018.

ROCHA, F.A.G. & DANTA, L.Í.S. Atividade antimicrobiana in vitro do látex do aveloz (*Euphorbia tirucalli* l.), pinhão bravo (*Jatropha mollissima* l.) e pinhão roxo (*Jatropha gossypiifolia l.*). SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS. HOLOS, v. 4, p. 3, 2010.

RODRIGUES, M.L. Produção e caracterização de micropartículas de poliésteres contendo látex da *Euphorbia tirucalli*. Dissertação (Mestrado programa de pós-graduação em ciências e tecnologias em saúde, da faculdade de ciências/ campus ceilândia da universidade de Brasília unb, 2017.

SILVA, A.C.P. *et al*. Toxicological screening of *Euphorbia tirucalli* l.: developmental toxicity studies in rats. Journal of Ethnopharmacology, v. 110, p. 154, 2007.

SOUZA, L.S. *et al*. Analytical methods to access the chemical composition of a *Euphorbia tirucalli* anticancer latex from traditional brazilian medicine. Journal of Ethnopharmacology, v. 237, p. 255, 2019.

VARGAS, A *et al*. The chick embryo and its chorioallantoic membrane (cam) for the in vivo evaluation of drug delivery systems. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 59, p. 1162, 2007.

WACZUK, E.P. *et al*. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos, toxicológicos e farmacológicos da *Euphorbia tirucalli* l.: dos riscos às possibilidades. Acta Ambiental Catarinense, v. 9, p. 35, 2012

ZIJLSTRA, A. *et al*. Proangiogenic role of neutrophillike inflammatory heterophils during neovascularization induced by growth factors and human tumor cells. Blood, v. 107, p. 317, 2006.

# CAPÍTULO 13

## ASPECTOS FITOTERÁPICOS DA *Echinacea Purpurea (L) Moench* NO SISTEMA IMUNOLÓGICO CORRELACIONADOS À INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR

*Palavras-chave: Echinacea purpurea; Fitoterapia; Infecção Respiratória; Sistema Imunológico*

**JOELMA MARIA DOS SANTOS DA SILVA APOLINÁRIO[1]**

1. Discente em Farmácia, Centro Universitário Maurício de Nassau - Uninassau Campina Grande/PB.

## INTRODUÇÃO

A *Echinacea purpurea* mais conhecida popularmente como equinácea desde muito tempo apresenta em seu histórico de utilidades e aplicações diversos componentes etnofarmacobotânicos, uma planta de grande contexto farmacológico considerada pelos povos nativos americanos, como "anti-infecciosa", pois era indicada para patologias de origem viral e bacteriana, desde septicemias medianas, furunculoses, abcessos, carbunculoses e úlceras (BARRET, 2003; HUDSON, 2010). Esta planta da família das Echinaceas cujo extrato tem propriedades antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, imunoestimulante e antioxidante.

O género Echinacea pertence à família das Asteracae ou Compositae, um grupo de plantas pratenses, silvestres e perenes, nativas da América do Norte, cujas principais características são as raízes aprumadas, cilíndricas, estriadas longitudinalmente, que desprendem odor aromático e sabor adocicado provocando um discreto adormecimento na língua (GRUENWALD *et al*., 2000).

Estas plantas apresentam altura aproximada de 100 cm, folhas ásperas, lanceoladas, de cor verde intenso e escapo com inflorescência solitária em capítulo, com sensivelmente 20 flores liguladas na periferia e tubulosas ao centro, formado um disco cónico, que aparenta um "ouriço-do-mar", em grego "echinos", do qual deriva o nome botânico Echinacea (Figura 13.1) (GRUENWALD *et al*., 2000).

*Echinacea purpurea* (L.) *Moench* é a planta medicinal mais cultivada dentro dessa espécie, que tem sido utilizada principalmente em quimioprevenção e quimioterapia para doenças infecciosas dos sistemas respiratórios superior e inferior e doenças do trato urinário (BARNES *et al*., 2014). Esta espécie tem sido popularmente utilizada para o tratamento da dor de dente, dor intestinal, picada de cobra, doenças de pele, convulsões, artrite crônica e câncer. Embora o isolamento e elucidação estrutural de seus principais compostos têm sido investigados pelos pesquisadores, não há nenhuma certeza sobre seu mecanismo de ação exato.

**Figura 13.1.** Echinacea purpúrea (L.) Moench

**Fonte:** http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1174497-2.

De acordo com relatos da literatura, todas as espécies medicinais de Echinacea, incluindo *E. purpurea, E. angustifolia e E. pallida* são bastante seguras. Apesar da ausência de eventos adversos graves relacionados com a planta não provarem conclusivamente segurança, é uma indicação de que

os eventos toxicológicos agudos significativos são raros (ARDJOMAND-WOELKART & BAUER, 2015). Além disso, STANISAVLJEVI *et al.* (2009) afirmam que não há efeitos tóxicos conhecidos de *Echinacea purpurea*, em ratos ou humanos, mesmo administrada em alta dose.

O objetivo deste estudo foi descrever de forma clara e sucinta a utilização da *Echinacea purpurea* no sistema imunológico, bem como enfatizar a importância do acompanhamento farmacoterapêutico no que diz respeito as infecções recorrentes em pacientes acometidas por imunodeficiências secundárias e processos alérgicos em geral.

A expansão da fitoterapia pode ser atribuída a diversos fatores tais como: os efeitos adversos de fármacos sintéticos, a preferência dos consumidores por tratamentos "naturais", a validação científica das propriedades farmacológicas de espécies vegetais, o desenvolvimento de novos métodos analíticos colocados à disposição do controle de qualidade, o desenvolvimento de novas formas de preparações e administrações de produtos fitoterápicos, um melhor conhecimento químico, farmacológico e clínico das drogas vegetais e seus derivados, além, também, do menor custo se comparado com os fármacos sintéticos (BRAZ FILHO, 2010).

## MÉTODO

O presente trabalho configurou-se com um estudo de caso do tipo comparativo e abordagem qualitativa através da revisão sistemática da literatura que possibilitou a construção de referencial teórico sobre assuntos que estão relacionados ao tema em questão, utilizando dados de artigos científicos das plataformas digitais PubMed (*National Library of Medicine*) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo clínico realizado com 120 pacientes com infecção aguda do trato respiratório registrou a redução da duração da doença e melhora significativa dos sintomas entre os pacientes tratados com suco estabilizado de *Echinacea purpúrea* do que entre aqueles que foram tratados com placebo (HOHEISEL *et al.*, 1997).

Em outro estudo realizado com 59 pacientes com infecção aguda do trato respiratório demonstrou-se redução das queixas relativas a um índice de 12 sintomas em 64% dos pacientes tratados com *Echinacea purpurea* e 29% entre aqueles que foram tratados com placebo (BRINKEBORN *et al.*, 1999).

O extrato de *Echinacea purpurea* atua como imunomodulador por vários mecanismos, confirmados por numerosos estudos científicos: ativação da fagocitose, estímulo dos fibroblastos e aumento da mobilidade dos leucócitos. Foram também relatados inibição da atividade da hialuronidase, estimulação do córtex adrenal onde são produzidos os glicocorticoides (como a corticosterona e a hidrocortisona), estimulação da produção de properdina (proteínas séricas que neutraliza bactérias e vírus) e estimulação da produção de interferon.

A atividade imunomoduladora do extrato aquoso e alcoólico de *Echinacea purpurea* parece depender de um efeito conjunto de vários componentes, como alcamidas, polissacarídeos e

derivados do ácido cafeico, principalmente ácido chicórico. A *Echinacea purpurea é* descrita como um agente antioxidante, com uma atividade similar ao ácido ascórbico, eficiente na eliminação de radicais livres produzidos por irradiação, com um efeito captador de radicais, reduzindo a citotoxicidade causada pelos peróxidos lipídicos frutos da sua oxidação (ZHAI *et al*., 2007; DOGAN *et al*., 2014).

Em se tratando da atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química, responsáveis pela neutralização de radicais livres, que ao agir tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, formam intermediários relativamente estáveis, devido à presença de anéis fenólicos e radicais hidroxilo, em posição orto, originam uma possível ressonância entre as estruturas levando a um aumento da estabilidade do radical antioxidante formado após captar os radicais livres (THYGESEN *et al*., 2007; TSAI *et al*., 2012b).

## Fitoterapia

No decorrer desses últimos anos, o crescente interesse na avaliação das propriedades farmacológicas dos produtos fitoterápicos tem tido um aumento muito significativo, onde inclui-se os produtos à base de *Echinacea purpurea* (equinácea). Os efeitos imunomoduladores desta planta, comprovados, tanto *in vitro*, como *in vivo*, têm sido o principal foco de estudos e pesquisas, embora também apresente outras ações documentadas, resultantes deste efeito principal, tais como antifúngica, antibacteriana, antiviral, antioxidante, anti-inflamatória e até anticancerígena (HUDSON, 2012).

## Imunomodulação

Em se tratando da imunomodulação, a mesma pode ser exercida mediante a potencialização ou supressão de elementos do sistema imunológico (FISCHER *et al*., 2008). A *Echinacea purpurea* tem sido bastante utilizada pelo seu potencial imunomodulador, onde é possível usá-la como uma alternativa para a prevenção e tratamento de algumas doenças. No entanto, apesar de terem sido isolados diversos compostos ativos da planta, estudos apontam que a mesma ainda é considerada bem complexa de se identificar seus compostos químicos, não permitindo identificar um só composto que seja responsável por esta ação, acreditando-se que todos atuem em sinergia (HUDSON, 2012).

Uma das formas de imunomodulação desta planta ocorre através da estimulação de células "*natural killer*" (NK), que são componentes do sistema complemento e macrófagos, onde os mesmos desempenham um papel fundamental na defesa do organismo, através da fagocitose, mediando os processos inflamatórios e secreção de uma grande variedade de substâncias bioquimicamente distintas, dentre elas enzimas, citocinas pro e anti-inflamatórias, onde podemos citar o fator de necrose tumoral $\alpha$ (TNF-$\alpha$), e algumas substâncias como o óxido nítrico (NO) e espécies reativas do oxigénio (ROS), o que aumenta a capacidade para diminuir tumores e eliminar bactérias e fungos, em condições in vitro (RININGER *et al*., 2000; KAPAI *et al*., 2011; ZAGUMENNIKOV *et al*., 2012; Fonseca *et al*., 2014).

## Ação Bacteriana

Estudos realizado por Sharma *et al*. (2010), teve o objetivo de confirmar a hipótese de que a EP pode inativar algumas bactérias do trato respiratório, onde estas são responsáveis por sintomas mais comuns de infeções do trato respiratório superior como dor de garganta, tosse e inflamação. Dessa forma concluiu-se que a EP inativou as seguintes bactérias: *Streptococcus pyogenes* (associada a dor de garganta e infeções pulmonares mais graves), *Haemophilus influenzae* (responsável por otites, bronquites e pneumonias) e *Legionella pneumophila* (responsável por pneumonias) e inverteu completamente a suas respostas pró-inflamatórias celulares (SHARMA *et al*., 2010). Alguns extratos de EP demonstraram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados exceto contra *Aspergillus niger* (THYGESEN *et al*., 2007).

## Ação Antiviral

É sabido que o vírus Influenza correspondente ao tipo A, é responsável por mortalidade e mobilidade significativa em escala à nível mundial (Hudson, 2012). Existem emergências relacionadas à identificação de estirpes resistentes à terapia medicamentosa nomeadamente, onde inibidores da neuraminidase, como o oseltamivir (Tamiflu®) e zanamivir (Relenza®) onde acarreta um imenso desafio no que diz respeito à saúde pública. Nos dias de hoje, o controle antiviral do mesmo é conseguido com prevenção dada por vacinação, realizada anualmente, pois todos os anos surge uma nova estirpe do vírus (HUDSON, 2012). Melhorar a compreensão da resposta imunológica ao vírus e identificação dos agentes que alteram esta resposta, constituem os objetivos da investigação científica nesta área (TSAI *et al*., 2012a).

Diante disso as partes aéreas e as raízes, como os extratos aquosos e etanólicos da *Echinacea purpurea*, apresentam atividade antiviral bastante significante contra o vírus Influenza A e Herpes simplex, onde mostrou ser menos eficaz contra vírus intracelulares, pois a própria célula funciona como barreira. Desse modo, atua sobre as partículas virais que se distribuem pelos fluidos extracelulares, alterando o percurso da infeção por modulação das citocinas e não por atuação diretamente sobre o vírus (HUDSON, 2012; TSAI *et al*., 2012a; TSAI *et al*., 2012b).

De acordo com Pleschka *et al*. (2009), a EP em concentrações recomendadas para administração oral, apresenta um grande potencial na interrupção da propagação das diferentes estirpes do vírus influenza, incluindo as estirpes sazonais, as estirpes aviarias altamente patogénicas, bem como, a estirpe pandémica de origem suína.

## Compostos Fitoquímicos

Os estudos químico-farmacológicos com a planta levaram ao estabelecimento científico de suas propriedades como imunoestimulante, anti-inflamatória, protetor do colágeno, antimicrobiana e antiviral, o que justifica o seu uso. Possui como princípios ativos alcamidas, glicoproteínas, ácido cafeico, echinosídeos, polissacarídeos, óleo essencial, ácidos graxos, proteínas, taninos, vitaminas A, C e E (LORENZI & DE ABREU MATOS, 2008) e flavonoides (KURKIN *et al*., 2011). Os componentes do óleo essencial incluem borneol, bornilacetato, germacreno, cariofileno epocido, D-cariofileno e ácido palmítico.

A *Echinacea purpurea* apresenta na sua constituição fenilpropanoides derivados do ácido cafeico, ácido chicórico, ácido caftárico e ácido clorogénico (TSAI *et al.*, 2012b; LEE, 2010; THYGESEN *et al.*, 2007); e derivados dos flavonoides como a nicotiflorina (campferol-3-O-rutósido) e rutina, estando já descritos outros dois, a quercetina e o kaempferol e os seus glicósidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; KURKIN *et al.*, 2011). O ácido chicórico constitui o componente fenólico maioritário das raízes de EP (AGATONOVIC-KUSTRIN *et al.*, 2012) e demonstrou apresentar potentes propriedades imunoestimulantes e antioxidantes, para além de efeitos inibidores na secreção de citocinas pró inflamatórias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; THYGESEN *et al.*, 2007; HOU *et al.*, 2010)

## CONCLUSÃO

Os vegetais representam as maiores fontes de substâncias ativas que podem ser usadas na terapêutica, devido à grande diversidade estrutural de metabólitos produzidos (BRANDÃO *et al*, 2010). A atividade biológica das plantas medicinais é atribuída aos seus metabólitos secundários, os quais têm sido sumariamente definidos como compostos pouco abundantes, com uma frequência inferior a 1% do carbono total, ou pelo fato de sua estocagem ocorrer em órgãos ou células específicas (FUMAGALI *et al.*, 2008). Essas moléculas contribuem para queas plantas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas tendo um papel importante na adaptação das mesmas aos seus ambientes aumentando a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, atuando na proteção contra os patógenos, contra outras plantas,e na interação com agentes polinizadores.

A equinácea é uma planta medicinal, também conhecida como Flor-de-cone, Púrpura ou Rudbéquia, muito utilizada como remédio caseiro no tratamento de gripes e resfriados, aliviando a coriza e a tosse, principalmente por causa de sua propriedade anti-inflamatória e antialérgica. O nome científico desta planta é *Echinacea spp* e as espécies mais conhecidas são *Echinacea purpurea* e *Echinacea angustifolia*, as quais têm um formato de flor rosa e são vendidas de várias formas como a raiz, as folhas secas e até em cápsulas, sendo que pode ser encontrada para comprar em farmácias de manipulação, lojas de produtos naturais, feiras livres e em alguns supermercados, sob a forma de sachês.

Com o presente estudo foi possível constatar a grande importância da *Echinacea purpurea* no que diz respeito as infecções relacionadas ao trato respiratório, A equinacea é um dos medicamentos fitoterápicos mais vendidos no mundo todo. O interesse moderno por esta planta deve-se às suas propriedades imunomoduladoras, particularmente na prevenção e tratamento das infecções das vias respiratórias superiores (IVAS). Essas propriedades já foram confirmadas por alguns ensaios clínicos de boa qualidade (BARNES *et al.*, 2005; SHAH *et al.*, 2007). A atividade imunoestimulante da equinácea é dada pelas aminas lipofílicas (alquilaminas) e pelos derivados do ácido cafeico polares (por exemplo, o ácido chicórico). Esses compostos estimulam a fagocitose dos macrófagos e aumentam a mobilidade dos leucócitos. Os arabinogalactanos estimulam a produção de TNF, IL-1 e interferon *beta* 2 (ação virustática).

A atividade anti-inflamatória e analgésica se dá pela ação das alquilaminas. Além disto, a equinácea possui atividades bacteriostáticas e fungostáticas. Vários vírus são inibidos na sua replicação pela ação da equinácea: influenza (PLESCHKA *et al*., 2009), herpes.

As principais espécies de Echinacea tradicionalmente usadas com finalidade medicinal são a *E. purpurea*, a *E. pallida* e a *E. angustifolia*. Estas espécies são usadas para o tratamento de infecções, e hoje os produtos derivados desta planta estão entre os fitoterápicos mais vendidos mundialmente (BARNES *et al*., 2005). Podem ser usadas indistintamente como medicamento, apesar de haver pequenas diferenças em sua constituição química. No Brasil, a espécie mais encontrada é a *E. purpurea*.

É imprescindível relatar que doses elevadas podem causar náuseas, vertigens, irritação da faringe, hepatite, asma e sialorreia, desse modo a cautela quanto ao uso da mesma deve ser bem definida, portanto, é recomendado procurar um atendimento especializado afim de indicar o tratamento mais adequado com respeito ao usa da equinácea.

O extrato de *E. purpurea* atua como imunomodulador por vários mecanismos, confirmados por numerosos estudos científicos: ativação da fagocitose, estímulo dos fibroblastos e aumento da mobilidade dos leucócitos (BAUER & WAGNER, 1991; BISSET & WICHTL'S, 1994; BRUNETON, 1995). Foram também relatadas inibição da atividade da hialuronidase, estimulação do córtex adrenal onde são produzidos os glicocorticoides (como a corticosterona e a hidrocortisona), estimulação da produção de properdina (proteína sérica que neutraliza bactérias e vírus) e estimulação da produção de interferon (HAAS *et al.*, 1991).

A atividade imunomoduladora do extrato aquoso e alcoólico de *E. purpurea* parece depender de um efeito conjunto de vários componentes, como alcamidas, polissacarídeos e derivados do ácido cafeico, principalmente ácido chicórico (WHO, 1998).

Devido à possível ativação de agressões autoimunes e outras respostas imunes hiper-reativas, o medicamento não deve ser administrado em pacientes com esclerose múltipla, colagenose, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), pacientes fazendo uso de medicamentos imunossupressores, tuberculose e outras desordens autoimunes (WHO, 1998; BLUMENTHAL, 1998).

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AGATONOVIC-KUSTRIN, S. *et al*. "Quantification of Phenylpropanoids in Commercial Echinacea Products Using TLC with Video Densitometry as Detection Technique and ANN for Data Modelling." Phytochemical Analysis, v. 24, p. 1099, 2012.

ARDJOMAND-WOELKART, K. & BAUER, R. Review and Assessment of Medicinal Safety Data of Orally Used Echinacea Preparations. Planta Medica, v. 82, p. 17, 2016.

BARNES, J. *et al*. "Echinacea species (Echinacea angustifolia (DC.) Hell., Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., Echinacea purpurea (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties." Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 57, p. 929, 2005.

BARNES, J. *et al.* "Echinacea species (Echinacea angustifolia (DC.) Hell., Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., Echinacea purpurea (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties." Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 57, p. 929, 2005.

BARNES, Joanne *et al*. Echinacea species (Echinacea angustifolia (DC.) Hell., Echinacea pallida (Nutt.) Nutt., Echinacea purpurea (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology. v. 57, p. 929, 2005.

BARNES, P.M. *et al*. "Complementary and alternative medicine use among adults and children: United States, 2007." National Health Statistics Reports, v. 12, p. 1, 2008.

BARRETT, B. "Medicinal properties of Echinacea: a critical review." Phytomedicine, v. 10, p. 66, 2003.

BAUER, R. & WAGNER, H. *Echinacea* species as potencial immunostimulatory drugs. In: WAGNER H, FARNSWORTH NR, eds. *Economic and medicinal plants research*. London, Academic Press, v. 5, p. 253, 1991.

BAUER, R. "Standardisierung von Echinacea purpurea-Presssaft auf Cichoriensäure und Alkamide." Zeitschrift fur Phytotherapie v. 18, p. 270, 1997.

BISSET, N.G. & WICHTL'S, M. Herbal drugs & pharmaceuticals, Boca Raton, FL CRC Press, 1994.

BLUMENTHAL, M. The complete German Comission E monographs – therapeutic guide to herbal medicines. Boston, MA, EUA: American Botanical Council. 1998. 685 p.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um paísemergente. Química Nova, v. 33, p. 229, 2010.

BRINKEBORN R, *et al*. Echinaforce® and other Echinaceae fresh plant preparations in the treatment of the common cold. A randomized, placebo controlled, double-blind clinical trial Phytomedicine, v. 6, p. 1, 1999.

BRUNETON, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris, Lavoisier Publishing, 1995.

CHICCA, A. *et al.* (2009). "Synergistic immunomopharmacological effects of N-alkylamides in Echinacea purpurea herbal extracts." International Immunopharmacology, v. 9, p. 850, 2009.

DALBY-BROWN, L. *et al*. "Synergistic antioxidative effects of alkamides, caffeic acid derivatives, and polysaccharide fractions from Echinacea purpurea on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins." Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, p. 9413, 2005.

FISCHER, G. *et al*. "Imunomodulação pela própolis." Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, p. 247, 2008.

FONSECA, F. N. *et al.* (2014)."Echinacea purpurea (L.) Moench modulates human T-cell cytokine response." International Immnunopharmacology, v. 19, p. 94, 2014.

FUMAGALI, E. *et al.* Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros Tabernaemontana e Aspidosperma. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.18, p. 627, 2008.

GRUENWALD, J. *et al.* (2000). "PDR (Physicians' Desk Reference)' for Herbal Medicines: The information standard for complementary medicines, 2ª edição." Thomas Medical Economics Montvale, v. 858, p. 261, 2000.

HAAS HA, MANNHEIM, BI. Wissenschaftsverlag, 1991: 134-5.

HAN, L. *et al*. "The Analysis of Genetic Diversity of Introduced Echinacea purpurea Moench Based on ISSR and SRAP." Journal of Sichuan Agricultural University, v. 4, p. 439, 2012.

HOHEISEL, O. *et al*. Echinaguard treatment shortens the course of the common cold: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 9, p. 261, 1997.

HUDSON, J.B. "Applications of the Phytomedicine Echinacea purpurea (Purple Coneflower) in Infectious Diseases." Journal of Biomedicine and Biotechnology: p. 1, 2012

HUDSON, J.B. "The multiple actions of the phytomedicine Echinacea in the treatment of colds and flu." Journal of Medicinal Plants Research, v. 4, p. 2746, 2010.

JAWAD, M. *et al*. "Safety and Efficacy Profile of Echinacea purpurea to Prevent Common Cold Episodes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial." Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, p. 1, 2012.

KURKIN, V.A. *et al*. "Flavonoids from Echinacea purpurea." Russian Journal of Bioorganic Chemistry, v. 37, p. 905, 2011.

LORENZI, H. & SOUZA, H.M. Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001. 558 p.

PLESCHKA, S. (2009). "Anti-viral properties and mode of action of standardized Echinacea purpurea extract against highly pathogenic avian Influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (SOIV)." Virology Journal, v. 6, p. 197, 2009.

RININGER J. A. *et al.* "Immunopharmacological activity of Echinacea preparations following simulated digestion on murine macrophages and human peripheral blood mononuclear cells." Journal of Leukocyte Biology, v. 68, p. 503, 2000.

RÖDER, E. *et al*. "Pyrrolizidine in Echinacea angustifolia DC und Echinacea purpurea Moench-Isoleuring und Analytik." Deutsche Apotheker-Zeitung, v. 124, p. 2316, 1984.

SAUNDERS, P.R. *et al*. "Echinacea purpurea L. in children: safety, tolerability, compliance, and clinical effectiveness in upper respiratory tract infections." Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, v. 85, p. 1195, 2007.

SHARMA S.M. *et al*. "Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized Echinacea extract (Echinaforce®): Dual actions against respiratory bacteria." Phytomedicine, v. 17, p. 563, 2010.

STANISAVLJEVI, I. *et al*. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Echinacea (Echinacea purpurea L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. Chinese Journal of Chemical Engineering. v. 17, p. 478, 2009.

THYGESEN, L. *et al*. "Antioxidant activity of cichoric acid and alkamides from Echinacea purpurea, alone and in combination." Food Chemistry, v. 101, p. 74, 2007.

TSAI, Y.L. *et al*. "Cytotoxic effects of Echinacea purpurea flower extracts and cichoric acid on human colon cancer cells through induction of apoptosis." Journal of Ethnopharmacology, v. 143, p. 914, 2012b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO monographs of selected medicinal plants*. Geneva, 1998.

ZAGUMENNIKO, V.B. *et al*. "Studies of total ash and moisture in fresh Echinacea purpurea herb" Pharmaceutical Chemistry Journal v. 46, p. 603, 2013.

# CAPÍTULO 14

## AVALIAÇÃO DO EFEITO POTENCIALIZADOR DO EXTRATO DA SEMENTE *Persea americana Mill* QUANDO ASSOCIADO A UMA INTERVENÇÃO NÃO MEDICAMENTOSA

*Palavras-chave: Persea Americana Mill; Dislipidemia; Exercício Físico*

KÁTIA MAGALY PIRES RICARTE[1]
ANTÔNIO CARLOS ROMÃO BORGES[2]
CLÁUDIA QUINTINO ROCHA[3]
WERMERSON ASSUNÇÃO BARROSO[4]
MARILENE OLIVEIRA DA ROCHA BORGES[2]
RACHEL MELO RIBEIRO[2]
MATHEUS BRANDÃO CAMPOS[1]
ALDILENE DA SILVA LIMA[3]
KARLA TALLITA ASEVEDO LOPES[5]
KARLA MARIA CONCEIÇÃO DA SILVA[5]
DANIEL VICTOR DE JESUS OLIVEIRA[5]

1. Doutor(a) em Biotecnologia da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, São Luís - MA.
2. Doutor(a) do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, São Luís - MA.
3. Doutora do Departamento de Química e Produtos Naturais da Universidade Federal do Maranhão - UFMA, São Luís - MA.
4. Doutor do Departamento de Farmácia da Universidade CEUMA de Imperatriz - MA.
5. Discente do curso de Farmácia - UFMA, São Luís - MA.

## INTRODUÇÃO

Muitos produtos alternativos são estudados na tentativa de tornar os tratamentos cada vez mais potentes ao organismo e com ofertas de custos mais acessíveis para o consumidor final. Nesta perspectiva, o fruto *Persea americana Mill* (PA), popularmente conhecido como abacate, tem sido alvo dos interesses biotecnológicos, uma vez pesquisado e compreendido os seus benefícios. A produção desse fruto tem ocorrido em grande escala no mundo e no Brasil, os maiores produtores são: São Paulo com 47,5%, seguido de Minas Gerais 19,0% e Paraná com 12,5% (ALMEIDA & SAMPAIO, 2013).

Muitos países fazem uso deste fruto na sua forma bruta, inclusive da semente, tanto por confiar nas propriedades existentes quanto na absorção desses benefícios oferecidos ao organismo. Entretanto, na semente também são encontradas substâncias, como os taninos, que ao serem ingeridos em grandes quantidades podem provocar efeitos colaterais como prisão de ventre e outros, por isso, aumentam os estudos que visam o fortalecimento das propriedades benéficas e a diminuição das maléficas. As indústrias farmacêuticas e de cosméticos já investem nas características físicas e químicas encontradas na polpa do fruto PA (CREDIDO, 2010). Antes mesmo dos interesses industriais ocorrerem, o uso deste fruto como alternativa medicinal já era praticado, especialmente, por ser um produto natural que oferece benefícios à saúde e melhoras para a qualidade de vida.

Pesquisas científicas realizadas com o abacate têm feito grandes descobertas que beneficiam a saúde do coração. No entanto, ainda há uma resistência no consumo desse fruto por crianças em vários lugares do mundo como é o caso das crianças que residem no México (LIRA-GARCÍA *et al.*, 2012). Pressupõe-se, que no Brasil não deve ser muito diferente e investir em pesquisas nessa área pode contribuir para a popularização do fruto.

Manter o aumento da expectativa de vida tem sido um desafio para a saúde pública, porque simultaneamente, estão aumentando as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT). As doenças cardiovasculares e seus fatores de riscos ocasionados pelas constantes alterações metabólicas, hiperlipidemia, hiperglicemia, hipertensão, bem como o sobrepeso e a obesidade integram esse conjunto que constituem o alvo de preocupações e foco de estratégias preventivas e/ou curativas (DEATON *et al.*, 2011). Dentre as causas das doenças cardiovasculares estão a relação entre o sedentarismo e a alimentação inadequada, que tem sido essencial para elevar o peso corporal ao mesmo tempo que provocam alterações metabólicas, incluindo, alterações negativas nas concentrações plasmáticas como as do colesterol, lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), lipoproteínas de baixa densidade (LDH-C) e triglicerídeos. Em contrapartida, o consumo regular do abacate desenvolve efeitos cardioprotetores, podendo controlar ou mesmo reverter as dislipidemias (GONZAGA *et al.*, 2013; TABESHPOUR, 2017).

Métodos que beneficiam à saúde do coração tem se destacado nos diferentes meios que visam intervir no controle das dislipidemias. Na busca, por potencializar o que já existe no mercado e visando alcançar indivíduos com diferentes faixas etárias, especialmente, aqueles cuja saúde foi fragilizada por constantes modificações nos hábitos do cotidiano, que este estudo objetivou refletir sobre o possível efeito potencializador do extrato do endocarpo com a semente PA *(ESP)* ao

interagir, paralelamente, com um tratamento não medicamentoso, o exercício físico para fins terapêuticos.

## MÉTODO

Este estudo realizou uma análise e integrou conteúdos que permitiram estabelecer observações em torno da potência dos efeitos adquiridos por meio da interação de um tratamento feito com produto natural e exercício físico. Contemplando conhecimento desde o conceito do fruto, abacate, até a compreensão que a influência do movimento pode provocar no seu efeito pós (consumo) extrato, endocarpo com a semente de abacate.

Esta construção se baseou em pesquisas recentes e publicações selecionadas nas plataformas Web of Science e Google Acadêmico para fundamentação, uma vez que, não foi identificado nos bancos acadêmicos outra pesquisa que utilizou o mesmo extrato e para o mesmo fim (controle dislipidêmicos).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Encontram-se na literatura muitas informações científicas relacionados ao fruto abacate, principalmente, sobre a polpa. Sobre a semente, são poucos. Sobre o endocarpo, o interesse científico foi iniciado pela caracterização química de suas substâncias, como foi relatado no artigo que conseguiu identificar, até o momento, 82 substâncias no endocarpo e na semente, utilizando a moderna técnica de extração verde (FIGUEROA *et al.*, 2018).

Nas investigações de caráter *in vivo*, executadas utilizando um extrato que associou o endocarpo a sua semente (RICARTE *et al.*, 2021), chamou a atenção por inserir em sua metodologia uma medida de tratamento não farmacológica, o exercício físico como fator diferencial para controlar alterações metabólicas em ação conjunta com o extrato. Sendo assim, foi traçado uma linha teórica evolutiva que começou pela base, definindo o fruto, perpassando pelas alterações metabólicas e finalizando com os resultados que levantaram a curiosidade sobre a influência que o exercício físico exerceu durante um tratamento de hipercolesterolemia, usando um tipo de extrato que foi investigado pela primeira vez em teste *in vivo*. A leitura a seguir, intencionou despertar no leitor reflexões a respeito dos resultados reproduzidos pelo estudo, aqui analisado.

### *Persea Americana Mill* (PA): Origem e expansão

"O abacate foi inserido no gênero *Persea* e considerado nativo do Brasil" (SOUZA & LORENZI, 2005). Entretanto, PA (Abacate) é um fruto cuja origem ocorreu na América Central e que pertence à família Lauraceae, considerada uma das famílias mais primitivas que estão inseridas na divisão Magnoliophyta e classificada tecnicamente como carnudas, cheias de polpas (mesocarpo) circundadas por uma única semente (LEONEL & SAMPAIO, 2008).

A semente do abacate possui um tamanho médio de 5cm, com formato ovoide, cor castanha e protegida por um tegumento, também cientificamente chamado de endocarpo papiráceo, delgado, um envoltório coriáceo e que recobrem os cotilédones quando se refere ao fruto do abacateiro

(OLVEIRA *et al.*, 2010). Neste estudo, será utilizado o termo científico endocarpo para se referir ao tegumento que reveste a semente, ricas em nutrientes não essenciais, metabólitos secundários promissores à saúde, antioxidantes, lipossolúveis e alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) (COMERFORD *et al.*, 2016).

Os ácidos graxos presentes no abacate facilitam a absorção de nutrientes solúveis em gorduras em quantidades superiores a outras frutas e vegetais com baixo teor de gordura ou mesmo sem gorduras. As vantagens do abacate estão, também, na relação das proporções de nutrientes encontradas em cada porção de frutas, ou seja, uma pequena porção de abacate concentra mais nutrientes do que uma pequena porção de outras frutas, dados observados na Tabela 14.1 (UNLU *et al.*, 2005; KOPEC *et al.*, 2014).

**Tabela 14.1.** Comparação de uma porção (30 g) de abacate, segundo uma Lei da Educação e Rotulagem Nutricional (NLEA), *versus* (intervalo: 126–242 g) dos frutos mais populares de complementação nutricional durante a transição alimentar em bebês

| Porções – gramas (NLEA) | Maçãs (242g) | Abacates (30g) | Bananas (126g) | Uvas (126g) | Pêssegos (147g) | Pêras (166g) | Morangos (147g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| >150mg de potássio/porção | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| >25µg ácido fólico/porção | | ✓ | ✓ | | | | ✓ |
| >0,50mg $\alpha$-tocoferol/porção | | ✓ | | | ✓ | | |
| >80 µg de luteína + zeaxantina/porção | | ✓ | | ✓ | ✓ | | |
| >40 IU vitamina A/porção | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| >6 µg vitamina K/porção | | ✓ | | ✓ | | ✓ | |
| >2,5g MUFA/porção | | ✓ | | | | | |
| >2g fibras/porção | ✓ | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | ✓ |

**Legenda:** Relatório básico: 09003, maçãs, cruas, com casca; 09038, abacate, cru, Califórnia; 09040; bananas, cruas, 09131, uvas, tipo americano (pele antiderrapante), cruas; 09236, pêssegos, amarelos, crus; 09252, peras, cruas; 09316, morangos crus. **Fonte:** Adaptado do Serviço de Pesquisa Agrícola USDA, Banco de Dados Nacional de Nutrientes para Liberação de Referência Padrão 27.

Diante das constantes descobertas relacionadas as propriedades deste fruto, sua comercialização vem crescendo, ganhando adeptos e espaço na indústria alimentícia, de beleza e farmacêutica em todo o mundo, incluindo, o Brasil. O presidente da Abacates do Brasil, associação brasileira, sem fins lucrativos, de comercialização de abacates que agrega 70% dos produtores, relatou que a participação na maior feira de frutas da Europa, em Madri, Espanha, favoreceu ainda mais para expandir o processo de negociação externa dos frutos cultivados no país, que já ocupa, atualmente, o terceiro lugar mundial na produção da fruta (OCTÁVIO, 2020).

Este mesmo autor descreveu que para a CEAGESP (companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo) o Brasil também ocupa o décimo segundo lugar em consumo com a produção chegando a quase 200.000 toneladas. O IBGE (2016) apontou um consumo percapta de apenas 1 kg por ano, enquanto no México e nos Estados Unidos o consumo fica entre 8 e 5 kg, respectivamente, com destaque para as produções de subprodutos, azeite e o óleo funcional.

Há um cenário promissor para quem deseja investigar o fruto cientificamente no Brasil, pois existem condições fortalecendo a ascensão. As publicações das comprovações de suas riquezas

naturais, as que compõem sua composição química e os efeitos provenientes delas, modifica a visão atual direcionada a este fruto no país e a engrandece perante o mundo.

## Alterações metabólicas

Níveis de triglicerídeos aumentados e HDL-C diminuídos colocam a saúde em risco por elevar consideravelmente as chances de desenvolver doenças cardiovasculares. Segundo a OMS (2014) são as principais responsáveis pelo índice de mortalidade, representando 30% das mortes globais.

Embora, as mortes por doenças cardiovasculares tenham um índice alto, elas podem ser prevenidas em 50 a 70%, melhorando a atenção com o autocuidado. Atribuindo no cotidiano atividades relacionadas ao equilíbrio alimentar com dietas balanceadas e mudanças no estilo de vida, controlando o sobrepeso e a obesidade, evitando alimentações hipercalóricas e fazendo exercício físico (SANTANA *et al*., 2016).

Vale salientar, que o consumo demasiado de carboidratos (CH), especialmente, os de rápida absorção, provocam alterações no balanço energético entre a oferta de lipídeos e os demais nutrientes, em consequência, a hipercolesterolemia se instala no organismo, sem mencionar que o consumo exagerado de CH refinado tem relação direta com o equilíbrio do peso corporal, sobrepeso e obesidade (I DCGSC, 2013). Mas, o desenvolvimento da hipercolesterolemia pode ocorrer independente do aumento de peso. A interferência dos fatores ambientais no metabolismo e na saúde em geral é forte. Porém, há casos em que as concentrações de colesterol como os triglicerídeos podem permanecer elevados devido às alterações genéticas, mesmo mantendo uma rotina saudável, conhecida por hipertrigliceridemia hereditária (SANTANA *et al.*, 2016).

Quando o consumo calórico está maior que o gasto energético, resultará em reserva que será acondicionada em tecido adiposo, provocando aumento do peso corporal e nas desordens lipídicas provenientes do sobrepeso e da obesidade.

Os triglicerídeos são gorduras essenciais para o corpo, produto da condensação do glicerol e ácidos graxos, denominado de triacilgliceróis. São importantes fontes de energia e possuem em sua composição química carbono, hidrogênio e oxigênio. Os malefícios e os benefícios para o corpo vão depender do tipo e da quantidade de gordura existente no organismo, há os monoinsaturados - MUFA (contém uma ligação dupla de carbono) e os poli-insaturados - PUFA (com mais de uma ligação dupla de carbono), ainda há gorduras saturadas (SFA) e as trans. As gorduras presentes, principalmente, em vegetais, são líquidas em temperaturas ambientes e elevam o bom colesterol HDL-C (lipoproteínas de alta densidade), podendo ser encontradas em azeite de oliva, castanha-do-pará, amêndoas, linhaça, abacate entre outras.

As saturadas são encontradas, principalmente, nas gorduras de origem animal e ficam em estado mais sólido quando a temperatura é ambiente. Elevam o colesterol ruim LDL-C (lipoproteínas de baixa densidade) e estão em maiores quantidades em carnes vermelhas e brancas (aves), leite integral e derivados. Já, as gorduras trans são oriundas da hidrogenação, processo químico nos quais, óleos vegetais líquidos são transformados em ácidos graxos trans que passam a estado sólidos como margarinas, biscoitos, batatas-fritas, sorvetes. Esta, por sua vez, trabalha duplamente, para aumentar o colesterol ruim e reduzir o bom (VASCONCELOS, 2018).

Nos últimos anos, discute-se sobre as funções do HDL-C, o "bom colesterol". De fato, quando seus valores estão acima dos 40mg/dL desempenham ações essenciais para controlar o LDL-C, "colesterol ruim", além de exercer um papel como anti-inflamatório, vasorelaxante, protetores do endotélio, dentre outros (BADIMON & SANTOS-GALLEGO, 2015). Dessa forma, se entende a importância de conhecer cada tipo de colesterol e atribuir para si uma parcela de responsabilidade quando estes são alterados por fatores ambientais.

## Relação da *Persea Americana Mill* com a dislipidemia

Com o intuito de reduzir os riscos cardiovasculares é preciso estabelecer nas tarefas diárias o autocontrole, no que condiz, aos fatores ambientais como dieta e prática regular de exercício físico. No primeiro caso, recomenda-se uma dieta alimentar saudável de 5% a 6% do SFA para reduzir o LDL-C e, consequentemente, os riscos de doenças cardiovasculares. Simultaneamente, faz-se necessário ingerir MUFA e PUFA, pois fornecem muitos micronutrientes e bioativos que geram benefícios cardioprotetores a médio e longo prazo (WANG *et al.*, 2015).

Os autores acima fazem a abordagem sobre os compostos da PA, abacate, e afirmam que são enriquecidos com MUFA, vitaminas, fibras, minerais, polifenóis e fitoesteróis, abraçando fortemente a hipótese de que são benéficas no controle dos riscos cardiovasculares, especialmente, quando conseguem equilibrar as concentrações plasmáticas dislipidêmicas.

A Tabela 14.2, adaptada pela autora deste estudo, enaltece a quantidade de nutrientes identificados no fruto abacate comparada à dieta média, baixa e com alto teor de gordura, levando em consideração o consumo alimentar dos norte-americanos.

**Tabela 14.2.** Perfil nutricional dos norte-americanos

| | IDAM | DPG | DGM | AV |
|---|---|---|---|---|
| | **Nutrientes*** | | | |
| Gordura total† | 34 | 24 | 34 | 34 |
| SFA† | 13 | 7 | 6 | 6 |
| MUFA† | 12 | 11 | 17 | 17 |
| PUFA† | 7 | 6 | 9 | 9 |
| Carboidratos† | 51 | 59 | 49 | 49 |
| Proteínas† | 16 | 16 a 17 | 16 a 17 | 16 a 17 |
| Fibras# | 17 | 25 | 26 | 35 |
| Colesterol§ | 336 | <200 | <200 | <200 |
| **Grupos alimentares** | | | | |
| Frutas (copo) | 0.9 | 2.3 | 2.4 | 3.3 |
| Vegetais (copo) | 0.8 | 1.4 | 1.7 | 1.7 |
| Grãos | 7.2 | 7.6 | 5.5 | 5.3 |
| Grãos integrais | 0.5 | 4.8 | 2.6 | 2.6 |
| Carne | 2.1 | 1.6 | 1.6 | 1.6 |
| Aves e ovos | 2.0 | 2.8 | 2.8 | 2.8 |
| Legumes, soja, nozes e amendoim, manteiga | 1.2 | 1.4 | 1.4 | 1.4 |
| Lacticínios com baixo teor de gordura (copo) | 1.2 | 2.3 | 2.3 | 2.0 |
| Gorduras e óleos | 0.6 | 0.83 | 0.83 | 0.53 |

**Legenda:** IDAM - Indicador da dieta americana média; DPG - Dieta com pouca gordura; DGM - Dieta com gordura moderada; AV - Dieta com abacate; SFA - ácidos graxos saturados; MUFA - ácidos graxos monoinsaturados; PUFA - ácidos graxos poli-insaturados; *Baseado em 2100 kcal/dia; † % Total de calorias; # Gramas/dia; § mg/dia. **Fonte:** Adaptado de WANG *et al.*, 2015.

Estudos mostram a relação benéfica do consumo do abacate e do extrato da sua semente no controle das dislipidemias, o que fundamentam a hipótese debatida nesse modelo de investigação.

## Medidas não farmacológicas e farmacológicas utilizadas para controlar as dislipidemias

A diretriz brasileira de diabetes 2019-2020, estabelecem medidas não farmacológicas para o tratamento patológico, entre as modificações necessárias estão mudanças no estilo de vida, cuidados com alimentação e a prática regular de exercício físico. Os estudos mais importantes do mundo ocidental, *Diabetes Prevention Program* (DPP) e o *Finnish Diabetes Prevention Study* (DPS) citado Pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2020), relataram que a mudança no estilo de vida reduz a incidência de DM2 em 58% em 3 anos, 43% ao longo de 7 anos, 34% ao longo de 10 anos e de 27% após 15 anos, valorizando como recomendações dieta e atividade física prescrita.

Seguindo a SDB (2020), sobre a dieta e o programa de atividade física, são recomendáveis para a dieta, uma "perda média de 7% para o peso inicial e de 0,5 a 1,0kg/mês. Considerando um déficit entre 500 e 1.000 calorias/dia, em relação ao total necessário para manter-se no peso, e retirada preferencial das gorduras saturadas". São feitas observações para o consumo de alimentos mais saudáveis e mais industrializados, fortalecendo a associação de menor e maior risco para desenvolver doenças relacionadas ao coração.

Em paralelo a dieta, tem-se destacado as recomendações para a prática regular de exercício físico, aeróbica moderada, alcançada através da caminhada rápida, por 150min/semana fracionada em pelo menos três sessões. Sendo, cada sessão obtendo uma duração superior a 10min e inferior ou igual a 75min (SDB, 2020). Para a OMS (2020), os adultos devem fazer no mínimo 150 a 300min/semana de atividade física moderada a vigorosa e para crianças e adolescentes, as recomendações são de, pelo menos, 60min por dia. Favorecendo, para o tratamento das doenças cardíacas, que podem ocorrer através do controle dos fatores de riscos e por meio de mudanças significativas no estilo de vida, práticas de exercícios físicos e novos hábitos alimentares (VALMORBIDA *et al.*, 2013).

Entre os fármacos mais utilizados para controlar colesterol em humanos estão as Estatinas, pois são "inibidores potentes da biossíntese de colesterol no fígado por bloquear a conversão em mevalonato", transcrito por Almeida e Ozaki, 2014. Os testes clínicos conferiram reduções significativas nas concentrações de colesterol sanguíneo, na incidência de infarto do miocárdio e na mortalidade.

Desde 1994, as Estatinas transpareceram em seus estudos laboratoriais efeitos antioxidantes ao averiguarem melhoras na disfunção endotelial desproporcional à redução lipídica e, em 1997, ocorreu a ratificação após verificar reversão rápida da hipercolesterolemia (ALMEIDA & OZAKI, 2014). Em busca de drogas mais potentes e menos danosas, estes autores apresentaram a Pitavastatina ou Itavastatina ou Nivastatina, a mais nova droga comercializada no mercado com fins terapêuticos da hipercolesterolemia, prometendo, principalmente, reduzir as manifestações tóxicas.

No entanto, a Eurofarma laboratórios S.A. disponibilizou uma bula profissional de saúde da Pitavastatina (2015) e Rosuvastatina (2020) cujas pesquisas comparativas entre as diferentes Estatinas revelaram o poder destes medicamentos no controle da hipercolesterolemia e demais

disfunções relacionadas a processos inflamatórios ou aos riscos cardiovasculares, chamando atenção para a Rosuvastatina, que entre as Estatinas, atualmente, permanece como a mais vendida.

Na comparação entre a Rosuvastatina e Pitavastatina, percebeu-se que a segunda reduziu os níveis de toxicidade, enquanto a primeira continuou reduzindo de forma mais rápida as concentrações de colesteróis. Portanto, observou-se que a Rosuvastatina foi utilizada pelo estudo em análise, talvez por, demonstrar reduções mais efetivas no controle da hipercolesterolemia.

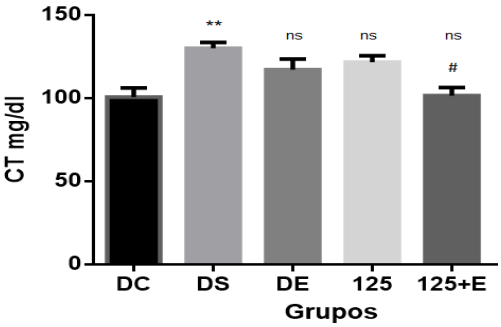
### Exercício físico pode funcionar como potencializador do efeito adquirido pelo extrato do endocarpo com a semente *Persea Americana Mill* (PA)

Ricarte *et al*. (2021) revelaram resultados interessantes sobre como a interação entre medidas não farmacológicas e produtos naturais podem provocar efeitos mais positivos quando a intenção é controlar as dislipidemias. O estudo foi executado com camundongos Swiss, onde os animais receberam dose única da solução oral (ESP) e a investigação seguiu com a metodologia fixada em 5 grupos, sendo que um dos grupos foi submetido a práticas regulares de exercícios físicos. Foram n = 8 animais/grupo, a dosagem foi pré-determinada pelo teste MTT, respeitando a relação volume/peso: 0,1 mL/10 g e administrados 1 vez ao dia, por 5 semanas consecutivas entre os grupos. Segue a distribuição: 1) DC – grupo controle da dieta padrão; 2) DS – grupo controle negativo (sem tratamento); 3) DE – grupo controle positivo (estatina); 4) DH 125 – grupo dieta hiperlipídica tratado com 125 mg/kg de extrato do endocarpo e semente PA; e, 5) DH 125 + EF – grupo dieta hiperlipídica tratado com 125 mg/kg de extrato do endocarpo e semente PA associado ao exercício físico*;*

O exercício físico foi executado 5 vezes por semana, 30 min depois da administração do extrato, em esteira específica para camundongos (BONTHER: Equipamento para ensino e pesquisa). O plano de treinamento levou em consideração a adaptação dos animais por 1 semana, o aquecimento, o ápice e a volta à calma (retorno gradual à condição de repouso) durante as demais 4 semanas. Sendo o aquecimento, o ápice do treino e a volta à calma respeitados em cada dia de treinamento (5 min de aquecimento com velocidade de 12 m/seg, 20 min de ápice com velocidade entre 18 a 23 m/seg e 5min de volta à calma entre 18 e 12 m/seg). Ao final do tratamento, os animais foram submetidos a um jejum de 12 h, em seguida foram anestesiados e eutanasiados. Dessa forma, os parâmetros bioquímicos foram analisados, CT, TG, HDL-C e LDL-C (Bioclin Diagnóstica).

O Gráfico 14.1 trouxe a concentração de colesterol total (CT) após o tratamento com o ESP, deixando transparecer as distinções entre os grupos cuja diferença foi identificada entre o DC (100,6 mg/kg) e o DS (130 mg/kg), $p<0,001$, são 29% a mais em relação ao controle positivo. Nos grupos induzido com dieta hiperlipídica e tratado com o ESP, a dose de 125 mg/kg (121,6 mg/kg) ficou semelhante ao DE (117,1 mg/kg), ambos foram reduzidos em 10 e 7%, respectivamente, e a de 125 mg/kg associado ao exercício físico (101,6 mg/kg), foi de 22% quando comparado ao DS ($p < 0,05$).

**Gráfico 14.1.** Concentração plasmática de colesterol total (CT) em camundongos *Swiss* após o tratamento com ESP

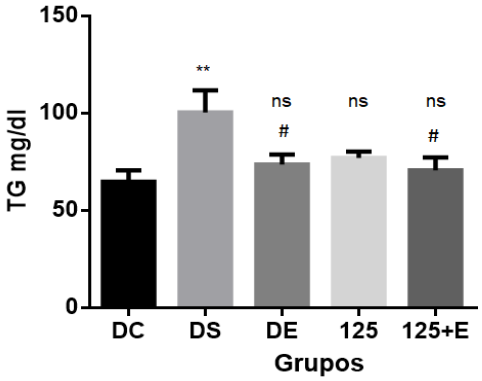



**Legenda:** Para análise da variância entre os grupos fez uso do teste *One-way* (ANOVA) (p<0,0021), seguido do pós-teste Newman-Keuls, onde **p<0,001, ns – não significativo ao comparar com os grupos DC (Controle), #p<0,05 quando comparado ao DS (Grupo sem tratamento). Todos os dados foram avaliados pelo programa GraphPadPrism 6.0.

As concentrações de lipídeos, distingue-se pelos seus tipos detectados, entre eles: triglicerídeos (TG), HDL-C e LDL-C.

Quando se propõe analisar os TG encontrados por este estudo, compreende-se que a diferença estatística foi presente entre o DS (100,4 mg/kg) e o DC (64,85 mg/kg), p < 0,001, ficando seus níveis 55% superiores ao DC. Constatando também a diferença entre os grupos DE (73,7 mg/kg) e 125 mg/kg com exercício físico (70,7 mg/kg), p < 0,05, comparando ao DS, mas não tendo diferença estatística entre os demais grupos. Então, a diminuição dos TG foi maior nos grupos 125 com o exercício físico (30%) e no grupo tratado com a Rosuvastatina (27%) em relação ao DS. Pode-se afirmar que, ambos tiveram resultados semelhantes (Gráfico 14.2).

**Gráfico 14.2.** TG em camundongos *Swiss* após o tratamento com ESP



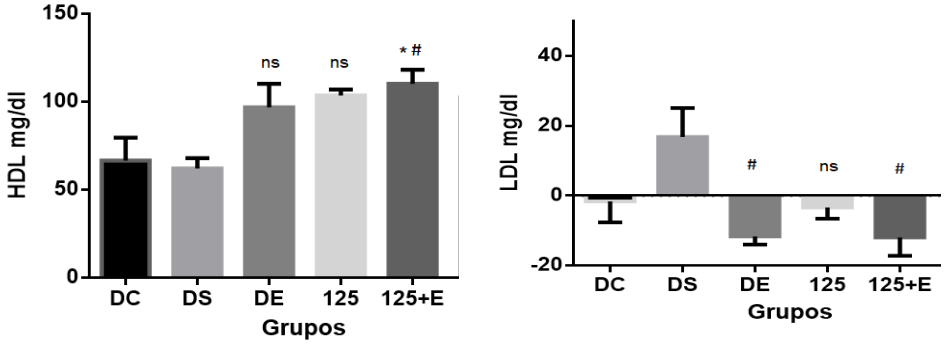

**Legenda:** Para análise da variância entre os grupos fez uso do teste *One-way* (ANOVA) (p<0,0101), seguido do pós-teste Newman-Keuls cujo **p<0,001, ns – não significativo, foram levados em consideração ao comparar com os grupos DC (Controle), #p<0,05 ao comparar com o DS (Grupo sem tratamento). Todos os dados foram avaliados pelo programa GraphPadPrism 6.0.

O Gráfico 14.3 aponta que houve diferença entre o valor apresentado pelo grupo tratado com a dose de 125 mg/kg e exercício físico (110,2 mg/kg), p < 0,05 e os grupos DC (66,57 mg/kg) e DS (62 mg/kg), 7% foi a diferença identificada entre os últimos. Considerando a avaliação dos níveis de HDL-C nos animais pesquisados, não teve diferença estatística entre os grupos tratados com o ESP e o grupo tratado com Rosuvastatina (96,8 mg/kg). Os dados revelaram nesta análise, que os grupos tratados com o ESP obtiveram o HDL elevado, 78% no grupo que praticou exercício físico em comparação ao DS e 13% a mais em relação ao DE.

Avaliando os valores de LDL-C, notou-se que a diferença estatística surgiu no grupo cuja dose foi a de 125 mg/kg associado ao exercício físico (-12 mg/dL) e no grupo DE (-11,66 mg/dL). Isto comparado ao DS (16,75 mg/dL), ou seja, as reduções foram relevantes 72 e 69%,

respectivamente. Logo, o grupo tratado com o ESP e que fez exercício físico obteve os melhores resultados, tão eficientes quanto o medicamento comercializado no mercado.

**Gráfico 14.3.** Níveis de HDL e LDL em camundongos *Swiss* após o tratamento com ESP




**Legenda:** A análise da variância entre os grupos foi feita com o uso do teste *One-way* (ANOVA) ($p<0,0073$ e $p<0,0219$, respectivamente), seguido do pós-teste Newman-Keuls. Onde, *$p<0,05$, ns – não significativo ao comparar com os grupos DC (Controle) e DS (Grupo sem tratamento), #$p<0,05$ comparando ao DS (Grupo sem tratamento) na avaliação de HDL. Na avaliação do LDL, *$p<0,05$ e ns – não significativo quando comparado ao DS (Grupo sem tratamento). Todos os dados foram avaliados pelo programa GraphPadPrism 6.0.

Os resultados mostraram, que os camundongos submetidos ao tratamento com produto natural, extrato, e que interagiu com medidas não farmacológicas, exercício físico, obtiveram efeitos mais esperados no controle das dislipidemias em comparação ao grupo controle negativo (aquele que não recebeu tratamento, mas foi induzido as alterações metabólicas por dieta hiperlipídica) e ao fármaco testado por esta pesquisa. Fortalecendo, a necessidade de incluir as práticas de exercícios físicos no cotidiano e, naturalmente, criou-se um ambiente reflexivo para prosseguir com os debates que embasam os benefícios gerados para a saúde do coração.

## CONCLUSÃO

Portanto, inserir a prática regular de exercícios físicos na vida diária, faz com que o indivíduo tenha benefícios grandiosos para a saúde cardíaca. E, quando há a necessidade de intervir com um extrato cuja finalidade é tratar as dislipidemias, esta prática de exercícios físicos, realizada simultaneamente ao tratamento, parece desempenhar um importante papel potencializador no controle dislipidêmico. Embora, seja um resultado promissor, são essenciais a realização de mais estudos que o compilem.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALMEIDA, E.A. & OZ AKI, M.R. O efeito da Pitavastatina na Reatividade Vascular em Coelhos Hipercolesterolemêmicos. Arquivo Brasileiro Cardiologia. v. 103, p 4, 2014.

ALMEIDA, G.V.B. & SAMPAIO, A.C. O Abacate no mundo, no Brasil e na CEAGESP. Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2013. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/noticia/28119/O ABACATE NO MUNDO, NO BRASIL E NA CEAGESP>. Acessado em: 23. jul. 2014.

BADIMON, J.J. *et al.* HDL dusfuncion. Journal of the american college of cardiology**.** v. 1, p. 13, 2015.

COMERFORD, K.B. e*t al*. The role of avocado in complementary and transitional feeding. Nutrients. v. 8, p. 316, 2016.

CREDIDO, E.V. Estudo do efeito do abacate nos lípideos sanguíneos em humanos. [tese]. São Paulo: Universidade estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia e Alimentos, 2010.

DCGSC. Diretrizes sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arquivo Brasileiro de Cardiologia; 2013.

DEATON, C. *et al* The global burden of cardiovascular disease. Journal of Cardiovascular Nursing. v. 10, p. 5, 2011.

EUROFARMA. Pitavastatina Cálcica. Eurofarma laboratório S.A. Revisado e atualizado em 2017. Disponível em https://cdn.eurofarma.com.br/wp-content/uploads/2020/05/doc01_Bula_paciente_pitavastatina_c%C3%A1lcica_mai_2019.pdf Acesso em: 25 dez. 2020.

EUROFARMA. Rosuvastatina Cálcica. Eurofarma laboratório S.A. Revisado e atualizado em 2020. Disponível em: https://cdn.eurofarma.com.br/wp-content/uploads/2020/09/01_rosuvastatina_c%C3%A1lcica_-Bula_Paciente.pdf Acesso em: 10 jan. 2021.

FIGUEROA, J.G. *et al*. Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTO-MS. Food Research International. v. 105, p. 752, 2018.

GONZAGA, A.F.L. *et al* Nível de atividade física e prevalência de fatores de risco cardiovasculares de participantes de projeto de extensão interdisciplinar. Colloquium Vitae. v. 5, p. 119, 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Síntese de indicadores sociais-uma análise das condições de vida da população brasileira, 2016.

KOPEC, R.E. *et al.* Avocado Consumption Enhances Human Postprandial Provitamin a Absorption and Conversion from a Novel High-*Beta*-arotene Tomato Sauce and from Carrots. Journal Nutrition. v. 144, p. 1158, 2014.

LEONEL, S. S. & Aloísio C. Abacate: Aspectos técnicos da produção. São Paulo: UNESP, Cultura Acadêmica Editora, 2008. Disponível em: https://issuu.com/livros-online.org/docs/abacate_aspectos_tecnicos. Acesso em: 10 dez, 2020.

LIRA-GARCÍA, C. de; *et al*. Preferences of healthy and unhealthy foods among 3 to 4 year old children in Mexico. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*;* v. 21, p. 57, 2012.

OCTÁVIO, J. Produtores de Abacate querem conquistar o mundo. Revista Rural. São Paulo, jan. n. 6, 2020. Disponível em: https://www.revistarural.com.br/2020/01/06/produtores-brasileiros-de-abacate-querem-conquistar-o-mundo/ Acesso em: 11 fev. 2020.

OLVEIRA, I. *et al* Caracterização morfológica do fruto, da semente e desenvolvimento pós-seminal do abacateiro. Comunicata Sciential. v. 1, p 69, 2010.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Cardiovacular Diseases (CVDs). Fact Sheet nº 317; Retrieved, 2014. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html. Acesso em: 26 nov. 2020.

OMS, Organização Mundial da Saúde. OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. OMS lança novas diretrizes sobre atividade física e comportamento sedentário. Disponível em: https://www.paho.org/pt/noticias/26-11-2020-oms-lanca-novas-diretrizes-sobre-atividade-fisica-e-comportamento-sedentário. Acesso em: 26 nov. 2020.

Ricarte, K.M.P. Avaliação do extrato da semente do fruto *Persea Americana Mill* na síndrome metabólica [tese]. São Luís: Universidade federal do Maranhão, 2021

SANTANA, L.F. *et al*. Coconut oil increases HDL-c and decreases triglycerides in wistar rats. Acta Scientiarum. Health Sciences, v. 38, p. 185, 2016.

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes. Editora científica Clannad, 2019-2020.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H. Botânica Sistêmica: Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado na APG II. Nove Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2005.

TABESHPOUR, J. *et al*. Effect of avocado (*Persea Americana*) on Metabolic Síndrome: A comprehensive Systematic Review. Revista Phytotherapy, v. 31, p. 819, 2017.

UNLU, N.Z. *et al* Carotenoid Absorption from Salad and Salsa by Humans Is Enhanced by the Addition of Avocado or Avocado Oil. Journal Nutrition. v. 135, p. 431; 2005.

VALMORBIDA, L.A.; *et al* Benefícios da modificação do estilo de vida na síndrome metabólica. Revista Fisioterapia em Movimento. v. 26, p. 835, 2013.

VASCONCELOS, Y. O que são gorduras saturadas, insaturadas e gorduras trans? Revista Super Interessante. 2018. Disponível em: https://super.abril.com.br/mundo-estranho/o-que-sao-gorduras-saturadas-insaturadas-e-gordura-trans/ Acesso em: 12 fev. 2020.

WANG, L. *et al* Effect of a moderate fat diet with and without avocados on lipoproteoin particle number, size and subclasses in overweight and obese adults: a randomized, controlled trial. Journal American Heart Association. v. 4, e001355, 2015.

# CAPÍTULO 15

## RELAÇÕES DE ESTRUTURA E ATIVIDADE ANTI-*Trypanosoma cruzi* PARA DERIVADOS DE B-LAPACHONA E NOR-B-LAPACHONA: UMA REVISÃO

*Palavras-chave: Relação Estrutura-Atividade; Química Farmacêutica; Doença de Chagas*

**LEONARDO GOMES CAVALIERI DE MORAES[1]**

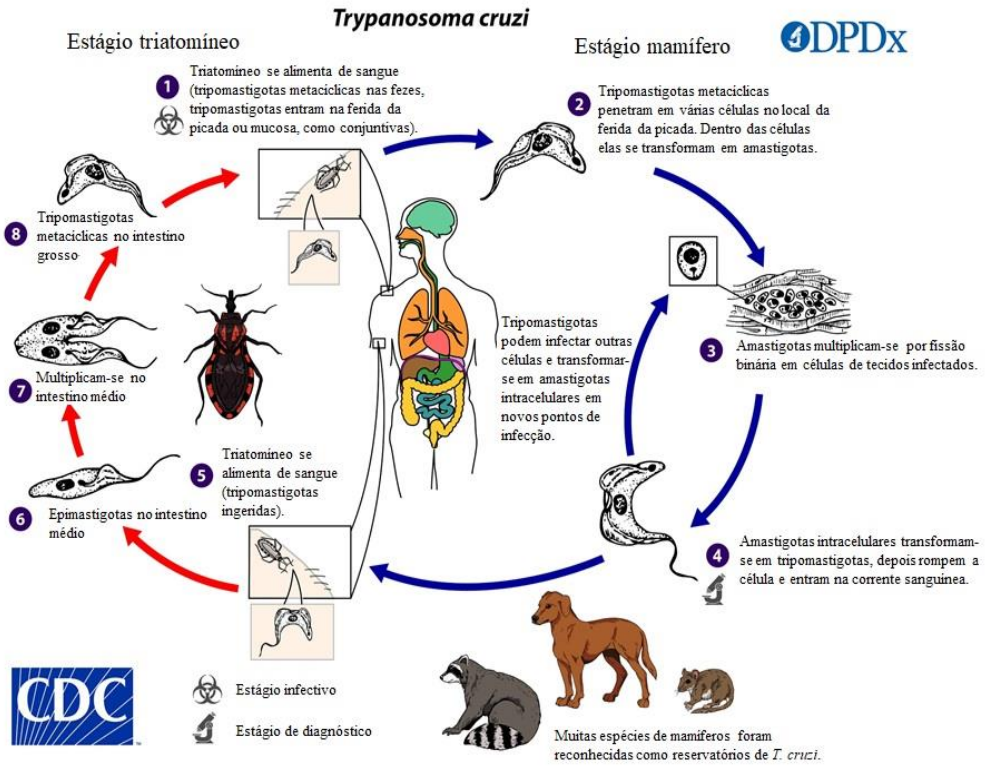
1. Discente de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ.

## INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma infecção provocada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, a qual pode lesar o coração e órgãos do sistema digestivo, como esôfago e intestino grosso (SOBRINHO *et al*., 2007), e considerada pela OMS, como uma doença negligenciada (SOUZA, 2010; BRASIL, 2010). Nesse âmbito, a doença de Chagas é um alarmante problema de saúde pública na América Latina devido a sua mortalidade e morbidade associado a pobreza, infectando aproximadamente 5,7 milhões de indivíduos (RASSI JUNIOR & MARIN-NETO, 2010; CONTEH *et al.*, 2010; WHO, 2015).

O vetor para o protozoário é o inseto triatomíneo. Ao encontrar um vertebrado, o triatomíneo suga o seu sangue e tem um estímulo para defecar (KOHL & BASTIN, 2005). O material fecal apresenta tripomastigota metacíclica, a qual penetra na pele por uma porta de entrada, como a picada, por exemplo. Ao adentrar na mucosa, a tripomastigota é capaz de invadir diferentes tipos celulares (TAN & ANDREWS, 2002). Dentro da célula hospedeira, as tripomastigotas transformam-se em amastigotas, multiplicam-se e se transformam em tripomastigota sanguínea, rompendo a célula hospedeira (LEY *et al*., 1988). As tripomastigotas invadem outras células e o ciclo se repete. O triatomíneo pica a pessoa infectada e contrai a tripomastigota sanguínea. Esta transforma-se em epimastigota e se multiplica no intestino do inseto. As epimastigotas, então, transformam-se em tripomastigotas metacíclicas, reiniciando o ciclo do parasita, Figura 15.1 (KOLLIEN & SCHAUB, 2000; NEVES *et al*., 2016; TYLER & ENGMAN, 2001).

**Figura 15.1.** Ciclo do *Trypanosoma cruzi*



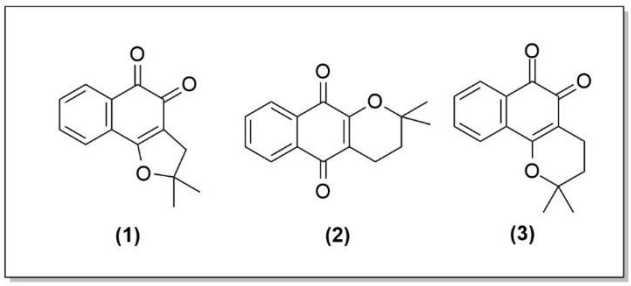

**Fonte:** CDC, 2021.

No Brasil, um dos agentes terapêutico disponíveis é o benznidazol, porém é pouco eficaz e provoca diversos efeitos colaterais como hipersensibilidade, dermatite com erupções cutâneas, edema generalizado, febre, linfadenopatia, dores articulares e musculares. Outra substância que também é utilizada é o nifurtimox, mas, assim como o benznidazol, apresenta muitos efeitos colaterais e efeito limitado (COURA *et al*., 2011; SOEIRO, 2009). Este quadro torna urgente a necessidade de um novo agente terapêutico contra a doença.

Na literatura é encontrado que substâncias da classe das naftoquinonas apresentam promissora atividade tripanocida (SILVA *et al*., 2003). Essas substâncias são caracterizadas por apresentar um anel aromático fundido a um quinonoídico. O anel quinonoídico é composto por dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado com um anel de seis carbonos contendo pelo menos duas ligações duplas entre átomos de carbono (SIMÕES *et al*., 2017). As naftoquinonas são produzidas como metabólitos secundários em diversas plantas, principalmente nas famílias Bignoniaceae, Ebenaceae, Plumbaginaceae e Verbenaceae (SILVA *et al*., 2012). As naftoquinonas também podem ser classificadas quanto ao heterociclo acoplado à mesma apresentando-se como furanonaftoquinonas, exemplificadas pela nor-$\beta$-lapachona, e piranonaftoquinonas, sendo exemplificadas pela $\alpha$-lapachona e $\beta$ lapachona (Figura 15.2) (SILVA *et al*., 2012).

A $\beta$-lapachona e a nor-$\beta$-lapachona são naftoquinonas com reconhecida atividade tripanocida na literatura (MOURA *et al*., 2001; SILVA JUNIOR *et al*., 2008). Acredita-se que o principal mecanismo de ação dessas moléculas é a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que levam a morte celular (VILLAMIL *et al.*, 2004).

**Figura 15.2.** Estrutura de furanonaftoquinonas e piranonaftoquinonas com atividade tripanocida




**Legenda:** (1) nor-$\beta$-lapachona; (2) $\alpha$-lapachona;(3) $\beta$-lapachona.

As naftoquinonas são moléculas ricamente reativas, podendo sofrer modificações no anel aromático, nas carbonilas do anel quinonoídico e no anel heterociclo associado. É natural que modificações nessas regiões possam afetar a atividade tripanocida dessas substâncias. Nesse contexto, esse trabalho tem por objetivo analisar o que a literatura tem a dizer sobre a relação de estrutura e atividade tripanocida para moléculas derivadas de $\beta$-lapachona e nor-$\beta$-lapachona nos últimos 10 anos.

## MÉTODO

Esta revisão foi elaborada de acordo com a metodologia adaptada de Souza *et al.* (2010). Foi realizada uma busca nas bases de periódicos SciFinder, PubMed/MEDLINE, Scopus e Web of Science usando os descritores "*beta*-lapachone" ou "nor-*beta*-lapachone" e "Chagas disease".

Foram selecionados todos os artigos publicados em inglês, português e espanhol entre janeiro de 2010 e novembro de 2020.

Após a retirada das duplicatas, a triagem de título e resumo de todos os trabalhos foi executada. Os artigos foram excluídos por não realizarem a síntese de derivados da *β*-lapachona ou nor-*β*-lapachona, ou não fazerem qualquer tipo de menção a relação entre a estrutura desses derivados e sua atividade tripanocida. Também foram retirados aqueles artigos que não avaliaram a atividade desses derivados contra *Trypanosoma cruzi*. Os artigos selecionados foram, então, lidos integralmente.

Assim, foram extraídas dos textos as seguintes informações: ano do estudo, número de análogos sintetizados, região da molécula modificada, modificação realizada e forma do *T. cruzi* em que foi realizado o teste biológico. O programa Microsoft Excel foi utilizado para organização dos dados extraídos dos artigos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao inserir os descritores nas bases de periódicos foram obtidos 18 artigos na base PubMed/MEDLINE, 29 em Scopus, 35 em SciFinder e 37 em Web of Science. Após a retirada de duplicatas e filtro por critérios foram selecionados 16 artigos para compor essa revisão, que estão listados na Tabela 15.1.

**Tabela 15.1.** Artigos encontrados para a revisão

| Referência | Local da modificação | Modificação realizada | Forma biológica do *T. cruzi* |
|---|---|---|---|
| MENNA-BARRETO *et al.*, 2010 | Carbonilas | Substituição das carbonilas por iminas formando um anel imidazólico | Epimastigota |
| SILVA JÚNIOR *et al.*, 2010 | Anel heterocíclico | *β*-lapachona: hibridização na posição com anel 1,2,3-triazólico; nor-*β*-lapachona: substituição no anel heterocíclico por uma fenilamina ou éter | Tripomastigota |
| BOURGUIGNON *et al.*, 2011 | Anel heterocíclico | Comparação entre anel heterocíclico pirânico e furânico | Epimastigota |
| FERREIRA *et al.*, 2011 | Anel heterocíclico | Substituição nas alquilas do anel heterocíclico ou condensação do anel heterocíclico em um sistema bicíclico | Tripomastigota |
| SILVA JÚNIOR *et al.*, 2012 | Anel heterocíclico | Hibridização na com anel 1,2,3-triazólico | Tripomastigota |
| DIOGO *et al.*, 2013 | Anel heterocíclico | Hibridização na com anel 1,2,3-triazólico | Tripomastigota |
| ROCHA *et al.*, 2014 | Anel aromático e anel heterocíclico | Introdução de hidroxila no anel aromático | Tripomastigota |
| CARDOSO *et al.*, 2015 | Anel heterocíclico | Substituição no anel heterocíclico por um feniltiol | Tripomastigota |
| JARDIM *et al.*, 2015 | Anel heterocíclico | *β*-lapachona: substituição no anel heterocíclico por um feniltiol ou fenilselênio; nor-*β*-lapachona: hibridização na posição com anel 1,2,3-triazólico | Tripomastigota |
| NAUJORKS *et al.*, 2015 | Anel heterocíclico | Elongamento da alquila do anel heterocíclico | Tripomastigota e amastigota |

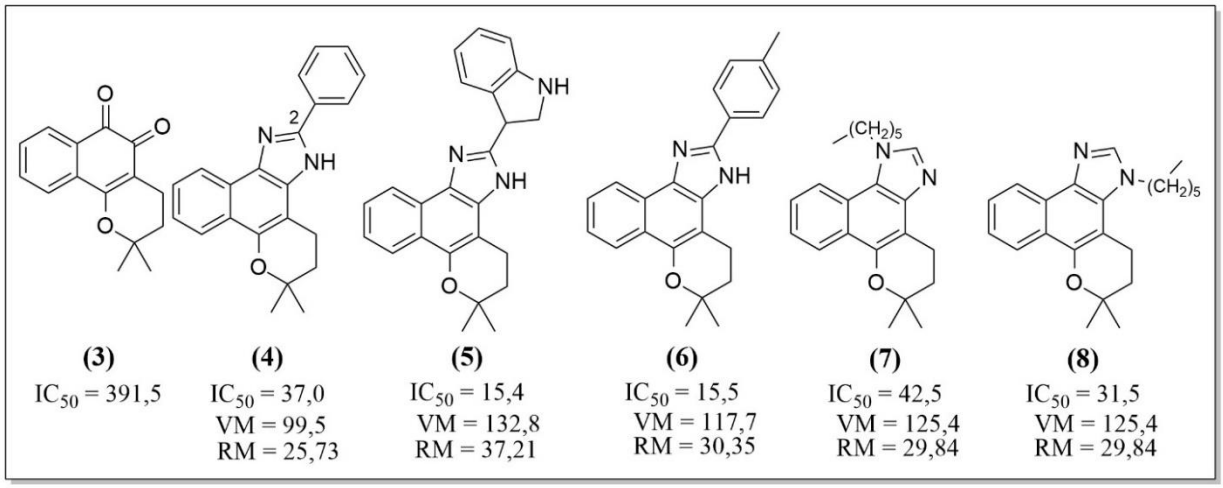
| | | | |
|---|---|---|---|
| BAHIA *et al.*, 2016 | Anel heterocíclico | *β*-lapachona: hibridização com anel 1,2,3-triazólico; *nor-β*-lapachona: hibridização com anel 1,2,3-triazólico; substituição da cadeia alquílica do anel heterocíclico | Tripomastigota |
| BRUNORO *et al.*, 2016 | Carbonilas | Substituição das cabonilas por iminas formando um anel imidazólico | Tripomastigota |
| SILVA *et al.*, 2017 | Carbonilas | Substituição das carbonilas por iminas formando um anel imidazólico | Tripomastigota |
| SOUZA *et al.*, 2017 | Carbonilas e anel heterocíclico | Substituição das carbonilas por iminas formando um anel imidazólico | Amastigota |
| BOMBAÇA *et al.*, 2019 | Carbonilas | Substituição das carbonilas por iminas formando um anel imidazólico | Epimastigota e tripomastigota |
| CASCABULHO *et al.*, 2020 | Carbonilas | Substituição das carbonilas por iminas formando um anel imidazólico | Tripomastigota |

Poucos estudos, no escopo desta pesquisa, foram realizados com o estágio epimastigota do *T. cruzi*. No estudo feito por Bourguignon *et al*. (2011), foi comparado o efeito tripanocida da *β*-lapachona (3), *α*-lapachona (2) e nor-*β*-lapachona (1). Nesse trabalho, comparando-se a atividade entre 1, 2 e 3, a *β*-lapachona apresentou atividade tripanocida significativamente maior.

Em trabalho anterior, Moura *et al*. (2004) demonstraram um aumento da atividade tripanocida no estágio tripomastigota de *β*-lapachonas ao fundir o anel quinonoídico com um anel imidazólico, com destaque para os derivados que possuíam substituintes fenila (4), indol (5) e *p*-metilfenila (6) (Figura 3) ligados ao anel imidazólico. Esse é um dado curioso, visto que as carbonilas são necessárias para formação do íon semiquinona e, consequentemente, geração de EROs (MONKS & JONES, 2002). No trabalho de Silva *et al*. (2017), realizado com tripomastigotas, quando há um anel aromático ligado ao anel imidazólico, a presença de um substituinte no anel aromático tende a diminuir a atividade, principalmente com moléculas mais polares.

Também foi identificado uma relação entre aumento da atividade e presença de substituintes doadores de elétrons para esses derivados. Essa informação levou a síntese de derivados naftoimidazólicos sem substituintes em C-2, porém com cadeias alifáticas em N-1 ou N-3. Nesses derivados, apesar de no geral não apresentarem atividade tripanocida melhor que 4, 5 e 6, a melhor atividade é encontrada para cadeia de seis carbonos e há uma piora com o aumento da cadeia a partir de sete. As melhores atividades para os derivados que apresentam cadeia de seis carbonos (7 e 8) podem estar associadas a algum efeito estérico, visto que seu volume molecular e refratividade molecular são semelhantes ao das substâncias 4, 5 e 6 (Figura 15.3). Esse dado mostra que pode haver alguma importância dessa faixa de volume molecular para a atividade tripanocida de derivados naftoimidazólicos da *β*-lapachona (SILVA *et al*., 2017).

**Figura 15.3.** Derivados naftoimidazólicos e sua atividade tripanocida frente a tripomastigotas




**Legenda:** $IC_{50}$ de 24 h (µM); VM: volume molecular em Å; RM: refratividade molecular em $cm^3$/mol. **Fonte:** MOURA *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2017.

Brunoro *et al.* (2014) avaliaram o perfil modulatório das substâncias 4, 5 e 6 em tripomastigotas, enquanto Menna-Barreto *et al.*, (2010) avaliaram o perfil de expressão proteica da forma epimastigota ao ser tratada com esses três derivados naftoimidazólicos. No trabalho de Brunoro, foi mostrado que as chaperonas foram as proteínas mais intensamente moduladas.

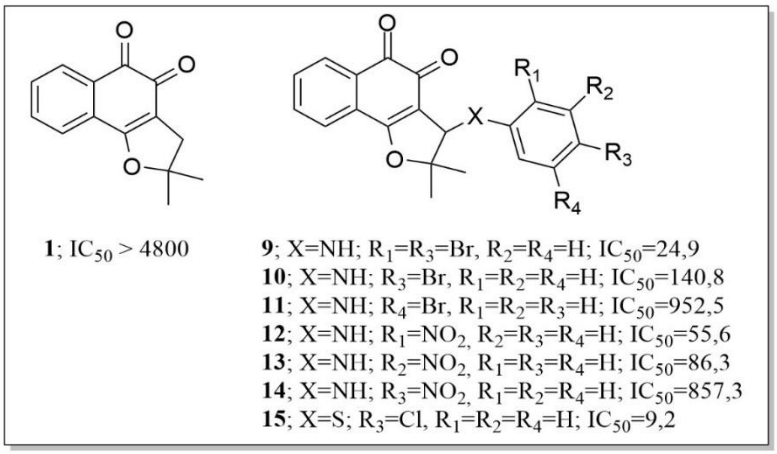
Nas epimastigotas, tubulinas foram as proteínas mais reguladas negativamente após tratamento (MENNA-BARRETO *et al.*, 2010). Nesse trabalho, o tratamento de epimastigotas com os derivados naftoimidazólicos gerou a modulação de diversas proteínas no parasita como o aumento na expressão de proteínas com função antioxidante, tripanotiona sintetase, bloqueio de mitose e a desregulação no metabolismo e síntese de proteínas. Essa modulação da expressão das proteínas também se apresentou de forma particular para cada um dos três derivados de naftoquinonas, sugerindo diferenças em seus mecanismos de ação. Em seguida, Bombaça *et al.* (2019) demonstraram que o efeito tripanocida dos derivados naftoimidazólicos foi prevenido com a incubação prévia das epimastigotas com *α*-tocoferol e urato, além de prevenir também a produção de EROs. Entretanto, o potencial redutor desses derivados é muito negativo em comparação com a *β*-lapachona, tornando a formação direta de EROs algo improvável. A análise do efeito modulatório encontrado indica um mecanismo de ação muito mais complexo para essas moléculas (4, 5 e 6), envolvendo síntese proteica, metabolismo energético e outras vias de sinalização e transdução de sinais.

Recentemente, esses três derivados foram avaliados em testes *in vivo* por Cascabulho *et al.*, (2020), onde verificou-se que as substâncias diminuíram a parasitemia, porém não afetaram a taxa de mortalidade. O derivado 6 demonstrou a maior diminuição da parasitemia, como também a maior toxicidade. O derivado 4 não apresentou diminuição significativa da parasitemia, porém o seu tratamento levou a ótima recuperação da cardiomiopatia causada pela doença. Este fato poderia ser explicado pela alta lipofilicidade de 4 (CASCABULHO *et al.*, 2020).

A modificação do anel heterocíclico de *β*-lapachonas e nor-*β*-lapachonas foi a que apresentou o maior número de derivados sintetizados no desígnio da presente revisão. Derivados de

nor-$\beta$-lapachona acoplados a arilaminas no anel de tetraidrofurano apresentaram melhor atividade em relação a sua estrutura base (SILVA *et al*., 2010). Nessas substâncias, a variação da posição dos substituintes halogênios do anel aromático se mostrou importante para a atividade tripanocida, sendo melhor na posição *meta* (9) em relação à *para* (10) (SILVA JUNIOR. *et al*., 2008), e ainda melhor em derivados dialogenados (11) (SILVA *et al*., 2010). O mesmo padrão também foi encontrado para o substituinte nitro, com melhora da atividade na ordem *para* (12), *meta* (13) e *orto* (14) (SILVA JUNIOR. *et al*., 2008). Esses dados levam a crer que a posição *orto* é mais favorável para a atividade tripanocida nesses derivados. Uma comparação entre atividade tripanocida de derivados de nor-$\beta$-lapachonas com substituintes feniltióis e substituintes fenilaminas realizada por Cardoso *et al*. (2015) demonstrou que a presença de um feniltiol na posição 3 aumenta muito a atividade em relação a 3-fenilaminas, como mostrado pelo derivado 15 (Figura 15.4). Somado a isso, nota-se uma pior atividade com substituintes doadores de elétrons no anel aromático do feniltiol.

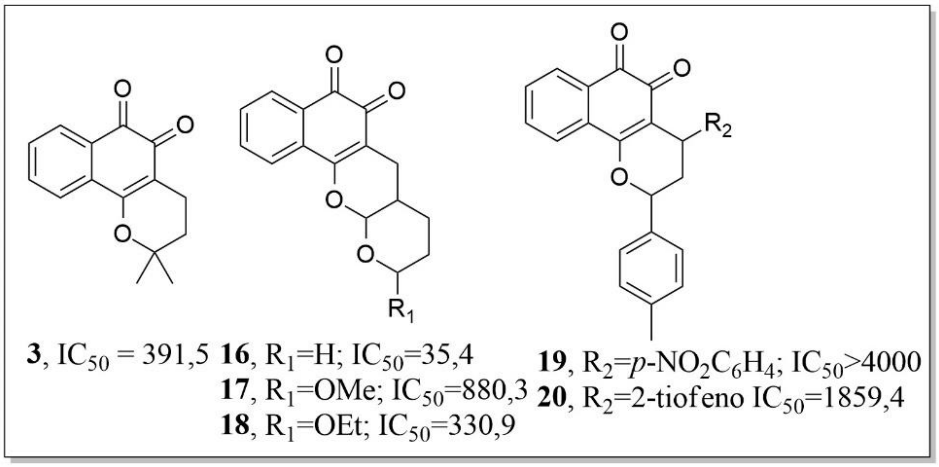
**Figura 15.4.** Estrutura e atividade tripanocida de derivados fenilaminas e feniltiol em tripomastigotas




**Legenda:** $IC_{50}$ de 24 h (µM). **Fonte:** SILVA *et al*., 2010.

Ferreira *et al.* (2011) estudaram a modificação das substituintes metilas do anel pirânico de $\beta$-lapachonas. Entre esses compostos, a fusão do anel pirânico com outro anel pirânico aumentou a atividade (16), porém a inserção de substituintes metóxi (17) e etóxido (18) na posição C-2 desse segundo anel diminui consideravelmente o potencial tripanocida. A análise das atividades tripanocida dos derivados expôs uma diminuição significativa da atividade com o aumento do volume do substituinte, como é visto para os derivados 19 e 20 (Figura 15.5).

**Figura 15.5.** Estrutura e atividade tripanocida de derivados de 3 em tripomastigotas




**Legenda:** $IC_{50}$ de 24 h (µM). **Fonte:** FERREIRA *et al.*, 2011.

A inserção de grupos retiradores de elétrons amplia o potencial redox das moléculas com derivados de *β*-lapachona e nor-*β*-lapachona substituídos no anel pirânico com grupos 1,2,3-triazolfenis (SILVA JUNIOR. *et al.*, 2010; SILVA JUNIOR. *et al.*, 2012; DIOGO *et al.*, 2013; JARDIM *et al.*, 2015). A inserção desses grupos tendeu a provocar uma melhora da atividade tripanocida quando comparada a substância base, como é visto nos derivados 21 e 22. Em quase todos os estudos, para derivados de nor-*β*-lapachona, a hibridização com 1,2,3-triazol ocorreu no carbono C-3 do anel heterocíclico, exceto no estudo de Jardim, que ocorreu em C-2. Com a comparação entre os estudos não aparenta haver diferença nas posições para a atividade tripanocida.

A funcionalização das carbonilas desses derivados com anel hidrazina mostrou retirar a atividade tripanocida dessas substâncias (DIOGO *et al.*, 2013). Os derivados contendo substituintes 1,2,3-triazólicos ligados a aminonaftoquinonas (23) apresentam melhor atividade que os derivados grupos 1,2,3-triazolfenis. Essa melhor atividade pode estar associada a um maior número de núcleos com potencial para gerar EROs (DIOGO *et al.*, 2013) (Figura 15.6).

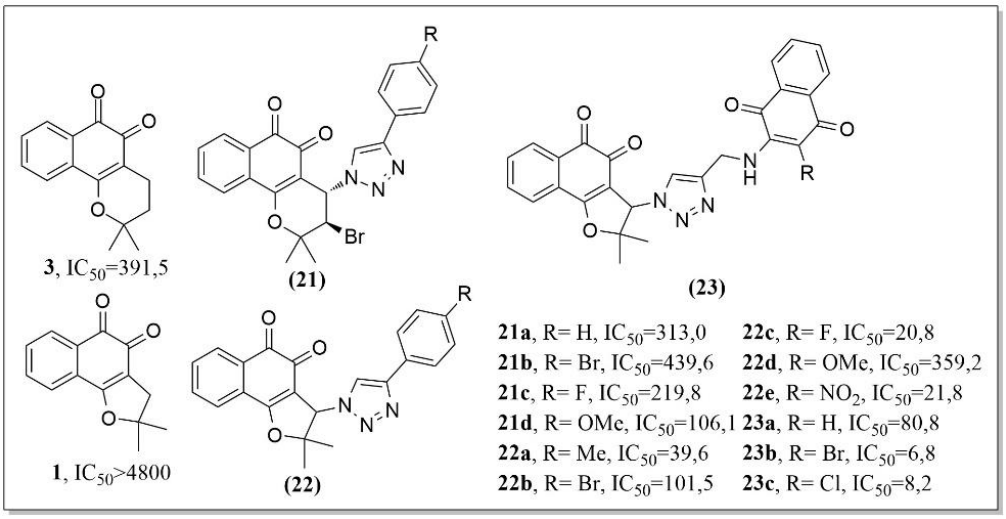
Posteriormente, Bahia *et al.* (2016) desenvolveram outros derivados 1,2,3-triazólicos da nor-*β*-lapachonas, porém sem atividade tripanocida. Os autores justificam que a ausência de atividade pode ser atribuída a hidrofilicidade das substâncias, o que dificultaria sua penetração no parasita. Além disso, a maioria dos derivados inativos apresentavam 1,2,3-triazóis substituídos nas posições 1 e 5, diferente de Jardim *et al.*(2015), que a sintetizou 1,2,3-triazóis 1,4 dissubstituídos.

Mesmo as chalconas sendo um grupo de substâncias com importante efeito tripanocida, derivados híbridos de chalconas e nor-*β*-lapachonas falharam em apresentar atividade significativa (JARDIM *et al.*, 2015). Nesse estudo, derivados de *β*-lapachonas contendo fenilselênio foram avaliados quanto a suas propriedades eletroquímicas, não sendo encontrada uma relação entre essas propriedades e sua atividade tripanocida.

Apenas os estudos de Naujorks e Souza realizaram análise da atividade tripanocida em formas amastigotas. Souza *et al.* (2017) sintetizaram substâncias derivadas da *β*-lapachona e *nor-β*-lapachona com um anel pirazina fundido ao anel quinonoídico. Já Naujorks *et al.* (2015) estudaram como cadeias alifáticas de tamanhos diferentes ligadas ao anel heterociclo influenciavam na

atividade de nor-$\beta$-lapachonas e $\beta$-lapachonas. Foi verificado que derivados de nor-$\beta$-lapachonas contendo cadeias de 6 e 8 carbonos apresentavam melhor atividade que o derivado contendo metila e a nor-$\beta$-lapachona base. Entretanto, devido ao número limitado de derivados, não foi possível detectar uma real correlação entre o tamanho da cadeia e a atividade tripanocida. Interessante notar que, para ambos os trabalhos, os derivados de nor-$\beta$-lapachona apresentaram melhor atividade que os de $\beta$-lapachonas, ao contrário do encontrado geralmente para outros estágios de *T. cruzi* em outros estudos.

**Figura 15.6.** Estrutura e atividade tripanocida de derivados contendo substituintes 1,2,3-triazol em tripomastigotas




**Legenda:** $IC_{50}$ de 24 h (µM). **Fonte:** SILVA JÚNIOR *et al.*, 2010, 2012; DIOGO *et al.*, 2013.

Apenas o estudo de Rocha *et al.* (2014) verificou a relação de modificações no anel aromático e a atividade tripanocida. Neste trabalho demonstraram que a introdução de uma hidroxila no anel aromático é capaz de modular sua atividade biológica no estágio tripomastigota. Além disso, novamente foi reforçado a atividade tripanocida superior de derivados *orto*-naftoquinonas em relação a derivados *para*-naftoquinonas. Derivados *orto* apresentaram maiores valores de HOMO, sugerindo que este pode ser um parâmetro importante para a avaliação da atividade tripanocida. Ademais, assim como no trabalho de Ferreira *et al.* (2011), os derivados mais volumosos apresentaram baixa atividade, enquanto os derivados com melhor atividade tinham volume molecular entre 315-320 Å.

## CONCLUSÃO

Os artigos apresentados e discutidos nessa revisão revelaram o que foi desenvolvido na literatura sobre as relações de estrutura e atividade para derivados de nor-$\beta$-lapachona e $\beta$-lapachona nos últimos dez anos. A maior parte dos estudos focou em modificações do anel heterocíclico associado às naftoquinonas, principalmente com hibridização com 1,2,3-triazóis. Nesse âmbito, nota-se a importância desse núcleo para a atividade tripanocida nesses derivados naftoquinônicos.

Entretanto, pouco ainda se sabe sobre a atuação de substituintes no anel aromático na modulação da atividade anti-T. cruzi, visto a escassez de estudos com esse tipo de modificação na literatura.

No geral, derivados de $\beta$-lapachona apresentaram melhor atividade que seus congêneres de nor-$\beta$-lapachona, com exceção daqueles testados para forma amastigota. Com relação a mudanças nas estruturas dos substituintes, a maior parte dos autores encontrou que a inserção de estruturas contendo regiões retiradoras de elétrons tendem a ter uma atividade biológica superior.

É evidente que ainda são necessárias muitas informações para total compreensão de como a estrutura dessas moléculas influenciam na sua atividade tripanocida.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


BAHIA, S.B.B.B. *et al*. Molecular hybridization as a powerful tool towards multitarget quinoidal systems: synthesis, trypanocidal and antitumor activities of naphthoquinone-based 5-iodo-1,4-disubstituted-, 1,4- and 1,5-disubstituted-1,2,3-triazoles. Medicinal Chemistry Communications, v. 7, p. 1555, 2016.

BOMBAÇA, A.C.S. *et al*. Mitochondrial disfunction and ros production are essential for antitrypanosoma cruzi activity of *β*-lapachone-derived naphthoimidazoles. Free Radical Biology and Medicine, v. 130, p. 408, 2019.

BOURGUIGNON, S.C. *et al*. Trypanosoma cruzi: insights into naphthoquinone effects on growth and proteinase activity. Experimental Parasitology, Amsterdam, v. 127, p. 160, 2011.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças negligenciadas: estratégias do ministério da saúde. Revista de Saúde Pública, v. 44, p. 200, 2010.

BRUNORO, G.V.F. *et al*. Differential gel electrophoresis (dige) evaluation of naphthoimidazoles mode of action: a study in trypanosoma cruzi bloodstream trypomastigotes. PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 10, p. 1, 2016.

CARDOSO, M.F.C. *et al*. Synthesis and anti-trypanosoma cruzi activity of new 3-phenylthio-nor-b-lapachone derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 23, p. 4763, 2015.

CASCABULHO, C.M *et al*. Antiparasitic and anti-inflammatory activities of ß-lapachone-derived naphthoimidazoles in experimental acute trypanosoma cruzi infection. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 115, p. 1, 2020.

CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Disponível em: https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html. Acesso em: 11 jan. 2021.

CONTEH, L. *et al*. Socioeconomic aspects of neglected tropical diseases. The Lancet, v. 375, p. 239, 2010.

COURA, J.R. & BORGES-PEREIRA, J. Chronic phase of chagas disease: why should it be treated? a comprehensive review. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 106, p. 641, 2011.

DIOGO, E.B.T. *et al*. Synthesis and anti-trypanosoma cruzi activity of naphthoquinone-containing triazoles: electrochemical studies on the effects of the quinoidal moiety. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 21, p. 6337, 2013.

FERREIRA, S.B. *et al*. Synthesis and anti-trypanosoma cruzi activity of b-lapachone analogues. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 46, p. 3071, 2011.

JARDIM, G.A.M. *et al*. On the investigation of hybrid quinones: synthesis, electrochemical studies and evaluation of trypanocidal activity. Royal Society of Chemistry, v. 5, p. 78047, 2015.

KOHL, L. & BASTIN, P. The flagellum of trypanosomes. International Review Of Cytology, v. 244, p. 227, 2005.

KOLLIEN, A.H. & SCHAUB, G.A. The development of trypanosoma cruzi in triatominae. Parasitology Today, v. 16, p. 361, 2000.

LEY, V. *et al*. Amastigotes of trypanosoma cruzi sustain na infective cycle in mammalian cells. Journal of Experimental Medicine, v. 168, p. 649, 1988.

MENNA-BARRETO, R.F.S. *et al*. A proteomic analysis of the mechanism of action of naphthoimidazoles in trypanosoma cruzi epimastigotes in vitro. Journal of Proteomics, v. 73, p. 2306, 2010.

MONKS, T.J. & JONES, D.C. The metabolism and toxicity of quinones, quinonimines, quinone methides, and quinone-thioethers. Current Drug Metabolism, v. 3, p. 425, 2002.

MOURA, K.C.G. *et al*. Studies on the trypanocidal activity of semi-synthetic pyran[b-4,3]naphtho[1,2-d]imidazoles from b-lapachone. European Journal Of Medicinal Chemistry, v. 39, p. 639, 2004.

MOURA, K.C.G. *et al*. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from tabebuia and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. Journal of The Brazilian Chemical Society, v. 12, p. 325, 2001.

NAUJORKS, A.A.S. *et al*. Novel naphthoquinone derivatives and evaluation of trypanocidal and leishmanicidal activities. Organic and Biomolecular Chemistry, v. 13, p. 428, 2014.

NEVES, D.P. *et al*. Parasitologia Humana. Rio De Janeiro:Atheneu, 2016.

RASSI JUNIOR, A. & MARIN-NETO, J.A. Chagas disease. The Lancet, Amsterdam, v. 375, p. 1388, 2010.

ROCHA, D.R. *et al*. Effect of 9-hydroxy-- and 7-hydroxy--pyran naphthoquinones on trypanosoma cruzi and structure-activity relationship studies. Journal of Medicinal Chemistry, v. 10, p. 564, 2014.

SILVA JÚNIOR, E.N. *et al*. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against trypanosoma cruzi. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 43, 1774e1780, 2008.

SILVA JÚNIOR, E.N. *et al*. On the search for potential anti-trypanosoma cruzi drugs: synthesis and biological evaluation of 2-hydroxy-3-methylamino and 1,2,3-triazolic naphthoquinoidal compounds obtained by click chemistry reactions. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 52, p. 304, 2012.

SILVA JÚNIOR, E.N. *et al*. Synthesis and anti-trypanosoma cruzi activity of derivatives from nor-lapachones and lapachones. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 16, p. 5030, 2008.

SILVA JÚNIOR, E.N. *et al*. The evaluation of quinonoid compounds against trypanosoma cruzi: synthesis of imidazolic anthraquinones, nor-b-lapachone derivatives and b-lapachone-based 1,2,3-triazoles. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 18, p. 3224, 2010.

SILVA, A.M. *et al*. Synthesis and biological evaluation of n-alkyl naphthoimidazoles derived from *β*-lapachone against trypanosoma cruzi bloodstream trypomastigotes. MedChemComm, v. 8, 2017.

SILVA, A.M.P. *et al*. Atividade biológica de naftoquinonas de espécies de bignoniaceae. Revista Fitos, v. 7, p. 207, 2012.

SILVA, M.N. *et al*. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na *β*-lapachona e derivados. Química Nova, v. 26, p. 407, 2003.

SIMÕES, C.M.O. *et al*. Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento. Porto Alegre:Artmed, 2017.

SOBRINHO, J.L.S. *et al*. Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de chagas. Revista de Patologia Tropical, v. 36, p. 103, 2007.

SOEIRO, M.N.C. *et al*. Experimental chemotherapy for chagas disease: 15 years of research contributions from in vivo and in vitro studies. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 104, p. 301, 2009.

SOUZA, C.M. *et al*. Cyclometalated ruthenium complexes from naturally occurring quinones: studies on their photophysical features, computational details and trypanocidal activity. New Journal of Chemistry, v. 41, p. 3723, 2017.

SOUZA, M.T. *et al*. Revisão integrativa: o que é e como fazer. Einstein, São Paulo, v. 8, p. 102, 2010.

SOUZA, W. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2010.

TAN, H. & ANDREWS, N.W. Don't bother to knock – the cell invasion strategy of trypanosoma cruzi. Trends In Parasitology, v. 18, p. 421, 2002.

TYLER, K.M. & ENGMAN, D.M. The life cycle of trypanosoma cruzi revisited. International Journal for Parasitology, v. 31, p. 472, 2001.

VILLAMIL, S.F. *et al.* Redox cycling of -lapachone and structural analogues in microsomal and cytosol liver preparations. Methods in Enzymology, v. 378, p. 67, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease in latin america: an epidemiological update based on 2010 estimates. The Weekly Epidemiological Record, v. 90, p. 33, 2015.

# CAPÍTULO 16

## AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE UMA ESSÊNCIA VIBRACIONAL (Oxyflower®)

*Palavras-chave: Essência Vibracional; Oxyflower®; Efeitos Biofisiológicos*

DANIELE CIDREIRA[1]
JULIANA CRISTOFOLINI SENS[1]
JOÃO LUIZ COELHO RIBAS[2]
VERA LUCIA PEREIRA DOS SANTOS[3]
GOMES CAVALIERI DE MORAES[1]

1. Discente de Biomedicina da Universidade Positivo, Curitiba - PR.
2. Farmacêutico e Biomédico, orientador no programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Positivo, Curitiba - PR.
3. Professora do Centro Universitário Internacional Uninter, Curitiba - PR.

## INTRODUÇÃO

Os remédios vibracionais geralmente são essências ou tinturas carregadas com energia sutil de uma determinada frequência (GERBER, 2012). Segundo Kurebayashi (2014), as essências vibracionais têm sido desenvolvidas com o objetivo de modular a recuperação da memória celular inata do corpo, buscando restaurar o equilíbrio, bem-estar e saúde física, mental e emocional. A principal ação desses produtos é a passagem de informação via biofísica para todas as células do organismo por meio do contato sublingual ou por fricção na pele (ARNT, 2011). Esses produtos são feitos a partir de um mix de florais de Bach, Saint' Germain e Minas, com uma tecnologia própria de imprimir frequência por ressonância (ARNT & ARNT, 2013).

A terapia vibracional representa a união de dois métodos milenares e holísticos de cura como a fitoterapia, e as essências florais, de maneira frequencial. Ambos possuem um alcance no reequilíbrio psíquico, comportamental e espiritual (ARNT & ARNT, 2013).

A Terapia Floral é parte de um campo emergente de tratamentos e modalidades terapêuticas, de características não invasivas, considerada importante alavanca de cura, que amplia o universo de ações dos profissionais da saúde e envolve as essências florais (SILVA e*t al*, 2018).

O Oxyflower® é usado como um harmonizador do fluxo energético que restaura o equilíbrio vibracional perdido e renova a energia do oxigênio celular com a energia das flores. Ele aciona enzimas antioxidantes endógenas e desencadeia os processos fisiológicos benéficos da respiração celular.

Estudos realizados com o frequencial floral Oxyflower® vem demonstrando algumas atividades biológicas frente a micro-organismos, cicatrização após queimaduras, além de clareamento de dentes. No entanto apesar do relato dos usuários sobre os benefícios da essência vibracional Oxyflower® nada se tem comprovado sobre a sua eficácia e eficiência antiinflamatória, anticonceptiva e imunomoduladora, apesar de sua utilização ser crescente. Sendo assim e pelo seu caráter inovador, esse trabalho se justifica para buscar os primeiros resultados científicos frente a utilização da essência vibracional Oxyflower®.

Por isso o objetivo desse trabalho é avaliar a ação da essência vibracional Oxyflower® no processo inflamatório, através de uma revisão bibliográfica.

## MÉTODO

O presente estudo remerece-se a uma pesquisa bibliográfica do tipo sistemática, com critérios de inclusão de artigos baseados em dois parâmetros; artigos publicados de janeiro de 2010 a abril de 2020 e que apresentaram relação com o tema. O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados online, utilizando sites de busca SciELO, PubMed e Science Direct. As buscas foram realizadas com as palavras-chave: "Oxyflower", "essências florais", "essências vibracionais", "terapia quântica vibracional". Foram levantados 125 artigos para análise. Destes, usando os fatores de inclusão como artigos completos e que estivessem de acordo com o tema proposto restaram 45 que foram utilizados no presente trabalho.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da segunda metade dos anos 70 e década de 80, tem-se verificado o crescimento das "medicinas alternativas" em países como o Brasil e países desenvolvidos, em destaque a fitoterapia (ALVES & SILVA, 2002). A fitoterapia é uma terapêutica proveniente do conhecimento cultural e popular, transmitido ao longo das gerações, que teve sua eficácia e legitimidade reconhecida pelos estudos científicos, ampliando seu uso de forma segura e eficaz (ARAÚJO *et al.*, 2014).

A Organização Mundial da Saúde define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos" (WHO, 1998).

Segundo a ANVISA, em sua portaria nº 6 de 31 de janeiro de 1995, fitoterápico é:

> "Todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos do seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. É o produto final acabado, embalado e rotulado. Na sua preparação podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos na legislação vigente. Não podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens, não sendo considerado produto fitoterápico quaisquer substâncias ativas, ainda que de origem vegetal, isoladas ou mesmo suas misturas" (BRASIL, 1995).

Apesar de possuírem constituintes ativos naturais, os fitoterápicos devem ser avaliados como medicamentos, utilizando preparações submetidas a rígidos controles, que devem ser empregados tanto na idealização e avaliação quanto na obtenção do mesmo (CALIXTO, 2000).

O aumento do consumo de fitoterápicos pode ser associado ao fato da população estar questionando os perigos e consequências do uso abusivo irracional de produtos farmacêuticos procurando substituí-los por plantas medicinais. A comprovação da ação terapêutica também favorece essa dinâmica. Além disso, registra-se a insatisfação da população perante ao sistema de saúde oficial e também a necessidade de poder controlar seu próprio corpo e recuperar sua saúde, assumindo as práticas naturais de saúde para si ou para sua família (LEITE, 2000).

O progresso tecnológico e científico verificado no século XX permitiu a análise química dos componentes de muitas plantas, a compreensão da sua atividade farmacológica e a síntese de novas moléculas. Centenas de componentes fitoquímicos são utilizados atualmente sob a forma de medicamentos. Isto significa que, o consumo de plantas ou dos seus componentes ativos ocupa um espaço relevante no alívio do sofrimento para o universo de milhões de seres humanos, isoladamente ou associado a terapêuticas convencionais (LIMA, 2013).

### Terapia Quântica Vibracional

Todo ser humano se resume à energia e deve ser visto de forma integral, nos seus aspectos biológicos, psicológicos, emocionais e sociais, a terapia quântica vibracional harmoniza o organismo de forma holística, onde holos, em grego, significa “todo” ou “inteiro”.

Então, um novo enfoque biológico sobre a saúde, a doença e a harmonização é proposto pela física moderna através da terapia quântica vibracional. Ela é capaz de potenciar o restabelecimento

do equilíbrio energético nos vários níveis dos corpos sutis e físicos do organismo humano, proporcionando uma melhora na qualidade de vida (GALLI, 2015).

As essências vibracionais florais reequilibram esses complexos sistemas de energias do corpo humano e que apresenta como mecanismo de ação o princípio da ressonância. Em termos biológicos a possibilidade de provocar efeitos biofisiológicos e energéticos através de sinais muito fracos e sutis que entram em ressonância com o organismo biológico, ordenando sistemas (GALLI, 2015).

## Oxyflower

O Oxyflower® é um modulador frequencial do peróxido de hidrogênio que ao entrar em contato com o organismo, estimula a ação vibracional oxidativa das moléculas de oxigênio do organismo (FISIOQUANTIC, 2016). Sua formulação consiste em Polímero carboxivinílico, espessante, água purificada, conservante e essências vibracionais florais de *Viola odorata* L., *Rosa canina* L. e *Wedelia paludosa*. As essências vibracionais florais têm sua dispensação e comercialização permitidas em farmácias, pois constam da lista de Produtos Permitidos da Instrução Normativa – IN N° 9 de 17 de agosto de 2009, que faz parte da Resolução – RDC N° 44 de mesma data, da ANVISA.

De acordo com Lopes *et al.* (2016) a espécie *Viola odorata* L. apresenta ação antibacteriana contra cepas patogênicas do trato respiratório, asma, bronquite, doença pulmonar obstrutiva crônica, antipirético, antitussígeno para crianças com asma.

A espécie *Rosa canina* L. é popularmente conhecida como rosa mosqueta. Estudos realizados com essa espécie mostraram seu potencial terapêutico como agente anti-inflamatório, imunomodulador, cardioprotetor, antidiabético, antiulcerogênico, antimicrobiano e antioxidante (MOLEZZI & ALBEDAÑO, 2002; WILLICH *et al*., 2010; SAABY *et al*., 2011; FROMM *et al*., 2012; PATEL, 2012).

Estudos realizados por Santos *et al.* (2018) indicam que em lesões de cicatrização por primeira intenção, o óleo deve ser utilizado após 48 h do procedimento. O óleo refinado é mais estável que o óleo bruto e apresenta efeitos terapêuticos mesmo em baixa concentração. No entanto, os estudos clínicos possuem vieses metodológicos que reduzem o nível de evidência e não são suficientes para uma recomendação. Já os estudos não clínicos mostram que o óleo de rosa mosqueta pode ter atividade imunomoduladora no leito da ferida e favorecer a deposição de colágeno e organização tecidual.

O extrato da espécie *Wedelia paludosa* evidenciou promissoras atividades como anti-inflamatória; hipoglicemiante; anti-hiperalgésica; antinociceptiva; tripanosomicida; antimicrobiana e antifúngica (BLOCK, 1997; CORDEIRO, 1998; ROSSI *et al*., 1998; SCHLEMPER *et al*., 1998; BATISTA *et al*., 1999; DUTRA & SOARES, 1999; WITEK & BRETZKE, 1999).

O Oxyflower é um harmonizador do fluxo energético que restaura o equilíbrio vibracional perdido e renova a energia do oxigênio celular apenas com a energia das flores. Esse produto aciona as enzimas antioxidantes endógenas e desencadeia os processos fisiológicos benéficos da respiração celular (FISIOQUANTIC, 2016).

O estudo de Borsato *et al.* (2016) com o intuito de verificar o efeito do Oxyflower em gel no esmalte de bovinos após escovação simulada mostrou que o gel proporcionou clareamento da superfície do esmalte após escovação simulada correspondente a um ano de escovação.

O efeito Frequencial Floral Oxyflower® foi avaliado pelo método de difusão em ágar e resultou em atividade antimicrobiana frente as cepas de *Staplylococcus aureus* e *Spreptococcus mutans* (REIS *et al.*, 2016).

O Oxyflower® também foi utilizado em paciente que apresentava queimadura de terceiro grau nas mãos e partes do braço esquerdo provocada por contato com limão e sal e posterior exposição ao sol. Após trinta e dois dias de tratamento com o frequencial floral as mãos e o braço não apresentaram sinais de inflamação e nem manchas (RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2016).

No trabalho realizado por Cruz (2017) o gel Oxyflower® apresentou atividade antiedematogênica semelhante aos fármacos padrão (triancinolona e diclofenaco dietilamônio), com resolução do edema induzido na pata de ratos já no 14º dia do experimento.

## Processo Inflamatório

A inflamação é um processo biológico complexo, que envolve várias etapas, que associadas são denominadas cascata de adesão. Esse mecanismo tem como finalidade remover o estímulo lesivo e iniciar a recuperação tecidual local. Na inflamação aguda, as principais células envolvidas são os neutrófilos e macrófagos. Na inflamação crônica o tecido apresenta caracteristicamente um infiltrado constituído por células mononucleares (monócitos, macrófagos e linfócitos) (ERRANTE *et al.*, 2011).

No processo de inflamação, caracteristicamente, células competentes da resposta imunológica potencialmente são ativadas com capacidade de atuarem no processo de inativação do estímulo lesivo, além de iniciar um processo de reparação tecidual (FLOWER & PERRETTI, 2005).

Durante a resposta inflamatória a quimiotaxia é característica e basicamente atua como sinalizadores que de fato o processo inflamatório está ocorrendo. Essas células atuantes nesse papel atuam também mediando a liberação de moléculas solúveis, as citocinas, destacando aqui a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$). A migração leucocitária envolve um rígido mecanismo de regulação, envolvendo a expressão de diferentes moléculas solúveis, tais como o óxido nítrico (CARVALHO & LEMÔNICA, 1998).

O estimulo lesivo provoca a migração celular, mecanismo que depende de uma sequência de eventos, sendo iniciada pelo recrutamento celular, rolagem, ativação das integrinas (proteínas mediadoras da adesão entre leucócitos e células endoteliais), adesão celular, diapedese e pôr fim a migração transendotelial. Essas etapas devem suceder de forma precisa para garantir uma resposta rápida e eficiente, com o mínimo de danos ao tecido sadio (ERRANTE *et al.*, 2011).

As citocinas podem ser de acordo com a sua atividade classificadas como pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, dependendo da forma com que influenciam no processo. Dentre as pro-inflamatórias estão IL-1$\beta$, TNF$\alpha$, IL-6 e IL-18, envolvidas na iniciação e amplificação do processo inflamatório, enquanto que as citocinas anti-inflamatórias, IL-10 e TGF-$\beta$ modulam negativamente estes eventos (CALIXTO *et al.*, 2004).

### Dor e Nocicepção

A dor é caracterizada como um mecanismo de sinalização para o organismo devido à ocorrência de estímulos nocivos oriundos do meio externo ou interno, com a função de restabelecer a homeostase, ativando reações e induzindo comportamentos de precauções na tentativa de suprimir as causas da dor, e como resultado, restaurar ou limitar os danos (LENT, 2010; WOOLF; & SALTER, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2004). A dor, além de ser uma experiência subjetiva, inclui um forte componente cognitivo e emocional ou afetivo (JULIUS & BASBAUM, 2001).

Apesar dos animais não apresentarem a capacidade de comunicar verbalmente a ocorrência de dor, quando são submetidos a um estímulo reconhecidamente nociceptivo exibem respostas comportamentais, motoras e fisiológicas semelhantes às observadas em seres humanos. A dor é um dos fenômenos que, nos seres humanos, está mesclada com inúmeras variáveis, desde moleculares a psicossociantropológicas, fruto da complexidade espécie-específica. O uso experimental de animais apresenta-se como instrumento de grande valia na elucidação dos fenômenos clínicos, na tentativa de transpor o plano animal para o humano, buscando representar nos modelos, situações clínicas humanas com intuito de compreendê-las e exercer controle sobre elas (CASTRO-COSTA *et al*, 2009).

Vários modelos animais são utilizados na pesquisa de compostos com atividade analgésica e/ou anti-inflamatória. A investigação do evento dor pode ser abordada em condições de normalidade fisiológica (dor nociceptiva normal) ou patológica (dor nociceptiva inflamatória) CASTRO-COSTA *et al*, 2009).

Esses modelos animais são de grande importância e representam um ponto de partida para a caracterização farmacológica de novos compostos, incluindo aqueles extraídos de plantas e que são utilizados como anti-inflamatórios e analgésicos (LAPA *et al*., 2007).

## CONCLUSÃO

Apesar da alta procura de terapias alternativas os estudos sobre essências florais, especificamente Oxyflower® são poucos, para comparação e comprovação do seu benefício. Os artigos encontrados demonstram bons resultados diminuindo o processo inflamatório e a dor, restabelecendo a estrutura da pele, apresentando inclusive de forma preliminar atividade anti-inflamatória. São necessário estudos futuros com metodologia rigorosa que poderão contribuir para a verificação dos mecanismos de atuação do gel Oxyflower® nos diversos processos de cicatrização.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALMEIDA, T.F. *et al.* Afferent pain pathways: aneuroanatomical review. Brain Research, v. 1000, p. 40, 2004.

ALVES, D.L. & SILVA C.R. Fitohormônios: abordagem natural da terapia hormonal. São Paulo: Atheneu; 2002.

ARAÚJO C.R.F. *et al.* Perfil e prevalência de uso de plantas medicinais em uma unidade básica de saúde da família em Campina Grande, Paraíba, Brasil. Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas, v. 35, p. 233, 2014.

ARNT, R.Z. & ARNT, P.R. Vade Mecum das Essências Vibracionais um Guia Prático para o uso dos Moduladores e Indutores Frequenciais. 1. ed. Curitiba, 2013.

ARNT, R.Z. Relato de caso: tratamentos por meios biofísicos de lesão causada por queimadura química com Hidro-ozonioterpaia e Essências Vibracionais. Revista de Bioquímica Médica aplicada à prática ortomolecular, v. 10, p.1, 2011.

BATISTA, R. *et al.* Trypanosomicidal kaurane diterpenes from *Wedelia paludosa.* Planta Médica, v. 65, p. 283, 1999.

BLOCK, L.C. *Determinação dos princípios ativos de Wedelia paludosa* D.C., (*Compositae*) [Trabalho de Conclusão de curso]. Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí, 1997.

BORSATO, M.C. *et al.* Efeito de diferentes dentifrícios e de um gel frequencial floral no esmalte dentário de bovinos após escovação simulada. Revista Saúde Quântica, n. 9, p. 17, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n. 6 de 31 de janeiro de 1995. Diário Oficial da União de 31 de janeiro de 1995. Brasília.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelnes of herbal medicines. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. v.33, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J.B. *et al.* Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II: modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. Planta Médica, v. 70, p. 93, 2004.

CARVALHO, W.A. & LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 48, p. 137, 1998.

CASTRO-COSTA, C.M. *et al.* Modelos animais e laboratoriais de dor. In: NETO, O. A. *et al.* Dor: Princípios e Práticas. Porto Alegre: Artmed, 2009. parte II-23, p. 305-312.

CORDEIRO, F. Atividade antimicrobiana de frações semi-purificadas e compostos puros de *Wedelia paludosa* D.C. (Compositae) [Trabalho de Conclusão de curso]. Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí, 1998.

CRUZ, T.M.M. Avaliação dos efeitos anti-inflamatório e antiedematogênico do gel Oxyflower® em modelo de edema de pata em ratos [Dissertação]. Diamantina,, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2017.

DUTRA D, SOARES M.R.S. Avaliação da atividade antidiabética das frações semi-purificadas de duas plantas medicinais da flora catarinense: *Marrubium vulgare* e *Wedelia paludosa* [Trabalho de Conclusão de curso]. Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí, 1999.

ERRANTE, P.R. *et al.* Deficiência da adesão leucocitária tipo I. Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia, v. 34, n. 6, 2011.

FANTONI, D.T. & MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e Controle da Dor. In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S. R. G. Anestesia em Cães e Gatos. São Paulo: Rocca, 2002. p. 323-334.

FISIOQUANTIC. Biofísica a Serviço da Vida. Disponível em: < http://www.fisioquantic.com.br/ > Acesso em: 12 set. 2020.

FLOWER, R.J. & PERRETTI, M. Controlling inflammation: a fat chance? The Journal of Experimental Medicine, v. 201, p. 671, 2005.

FROMM, M. *et al.* Journal Agricultural and Food Chemistry, v. 60, p. 10733, 2012.

GALLI, M. Entendendo a Terapia Quântica Vibracional. Revista Saúde Quântica, n. 7, 2015.

GERBER, R. Medicina vibracional: uma medicina para futuro. 12. ed. São Paulo: Cultrix, 2012.

HUNSKAAR, S. & HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non inflammatory pain. Pain, v. 30, p.103, 1987.

JULIUS, D. & BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. Nature, v. 413, p. 203, 2001.

KUREBAYASHI, L.F.S. Benefício dos Moduladores Frequenciais para a Saúde. 2014. Disponível em: < http://www.itiomassagem.com.br/artigos/artigos-e-noticias/item/88-beneficios-dos-moduladores-frequenciais-para-a-saude > Acesso em: 10 out. 2020.

LAPA, A.J. *et al.* Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. 5.ed. São Paulo: Setor de Produtos Naturais, Departamento de Farmacologia, UNIFESP/EPM, 2007.

LEITE S.N. Além da medicação: a contribuição da fitoterapia para a saúde pública [dissertação]. São Paulo, USP; 2000.

LENT, R. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

LIMA, J.J.F. As plantas na história da dor. Revista da sociedade portuguesa de Anestesiologia. v. 22, p. 126, 2013.

LOPES, N.S. *et al.* Medicina complementar e alternativa no contexto da ayurveda e da medicina popular no Brasil. Perspectivas online: biol. & saúde, Campos dos Goytacazes, v. 20, p. 30, 2016.

MOLEZZI, A. & ALBEDAÑO, A. Fitomedicina: usos más comunes em dermatologia. Dermatología Argentina, v. 8, p. 123, 2002.

NEUMANN, N.F. *et al.* Production of a macrophage growth factor(s) by a goldfish macrophage cell line and macrophages derived from goldfish kidney leukocytes. Developmental & Comparative Immunology, v. 22, p. 417, 1998.

PATEL, S. Rose hip as complementary and alternative medicine: overview of the present status and prospects. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, v. 6, p. 89, 2012.

REIS, A.C. *et al.* Efeito de um frequencial floral como harmonizador energético do oxigênio celular envolvendo o crescimento microbiano. Revista Saúde Quântica, n. 9, p. 08, 2016.

RODRIGUES DA SILVA, L.P. *et al.* Uso de Terapias Biofísicas Frequencias em Terapias em Fitofotodermatose. Revista Saúde Quântica, n. 9, p. 12, 2016.

ROJAS-DURAN, R. *et al.* Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from Uncaria tomentosa bark. Journal of Ethnopharmacology, v. 143, p. 801, 2012.

ROSSI, C. *et al.* Estudo do efeito hipoglicêmico do extrato hidroalcoólico de *Wedelia paludosa* em ratos diabéticos. XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Águas de Lindóia, Brasil, 1998.

SAABY, L. *et al.* Isolation of immunomodulatory triterpene acids from a standardized Rose Hip Powder (*Rosa canina L.).* Phytotherapy Research, v. 25, p. 195, 2011.

SANTOS, J.S. *et al.* Rosa mosqueta como potencial agente cicatrizante. Revista Cubana de Enfermería, v. 34, p. 154, 2018.

SCHLEMPER, S.E.M. *et al*. Atividade antibacteriana de frações semi-purificadas e compostos puros de *Wedelia paludosa* (Compositae). Alcance v. 2, p.14, 1998.

SILVA, A. *et al.* Avaliação de produto fitoterápico de uso tópico na dor musculoesquelética em ginastas. Brazilian Journal of Natural Sciences v. 1, p. 8, 2018

WHO. Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.

WILLICH, S.N. *et al.* Rose hip herbal remedy in patients with rheumatoid arthritis a randomised controlled trial. Phytomedicine, v. 17, p. 87, 2010.

WITEK, L.M. & BRETZKE, P.E. Atividade anti-hiperalgésica da *Wedelia paludosa* e *Aleurites moluccana* em ratos [Trabalho de Conclusão de curso]. Itajaí, Universidade do Vale do Itajaí, 1999.

WOOLF, C.J. & SALTER, M.W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. Science, v. 288, p. 1765, 2000.

# CAPÍTULO 17

# PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CASOS DE INTOXICAÇÃO EXÓGENA EM TENTATIVAS DE ABORTO NO BRASIL

*Palavras-chave: Substâncias Tóxicas; Aborto; Monitoramento Epidemiológico*

NIERLLY VALESSA DA SILVA ALVES[1]
CAMILA CRISTINA DA SILVA MIRANDA[2]
HELENA RAYSSA SOUSA LIMA[2]
AMANDA OLIVEIRA BRITO[2]
ESTER CARVALHO PAIVA[2]
HENRIQUE HIDELBRANDO MENDES SILVA[2]
JOSIEL SOUSA FERREIRA[2]
RENAN JOSÉ SOUSA GONÇALVES[2]
MATHEUS HENRIQUE PEREIRA ALVES[2]
MATHEUS HENRIQUE DA SILVA LEMOS[3]

1. Discente de Farmácia - Centro Universitário Dom Bosco, São Luís-MA.
2. Discente de Farmácia - Centro Universitário UniFacid, Teresina-PI.
3. Mestrando em Ciências da Saúde Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI.

## INTRODUÇÃO

O conceito de intoxicação refere-se às manifestações clínicas ocorridas em um organismo vivo como resultado da sua interação com alguma substância química que possui efeito nocivo. No Brasil, são registrados anualmente milhares casos de intoxicação, sejam pela ingestão de medicamentos, uso de agrotóxicos, produtos de limpeza doméstica, de uso veterinário ou plantas (OLIVEIRA, 2014).

Determinados recursos, como agentes tóxicos, são comumente utilizados na indução do aborto, cabe citar as infusões de plantas medicinais ou medicamentos, principalmente, o Misoprostol (MADEIRO & RUFINO, 2017; RODRIGUES *et al*., 2011). Nessa perspectiva, tal prática é considerada insegura e um grave problema de saúde pública, sobretudo em países onde o aborto é criminalizado, como no Brasil (MENESES *et al*., 2020). Por tudo isso, estudos devem ser realizados de modo a dimensionar a morbimortalidade junto aos aspectos epidemiológicos resultante desses métodos (CARDOSO *et al*., 2020).

As práticas empregadas na indução do aborto são influenciadas pelo contexto socioeconômico, educacional, cultural, religioso ou emocional. Segundo a literatura, o extrato populacional que tende aderir a tais métodos com maior frequência são mulheres negras, jovens adultas, em situação de vulnerabilidade social e econômica, residentes em regiões menos desenvolvidas (COELHO *et al*., 2015). A produção científica acerca das intoxicações exógenas em tentativas de aborto é pequena e carece de adequações metodológicas, uma vez que é um evento de difícil mensuração. A esses se somam desafios éticos – especialmente a necessidade de preservação do sigilo e da confidencialidade dos dados. As bases de dados oficiais de saúde ainda sofrem por conta da subnotificação e restrição de dados referentes as internações por complicações (CARDOSO *et al*., 2020; DOMINGUES *et al*., 2020; MENESES *et al*., 2020).

É relevante considerar que a gravidez se desenvolve em um contexto sociocultural que determina sua evolução e trajetória na saúde. Diante disso, também é oportuno apontar aspectos socioculturais, econômicas e demográficos para conhecer os fatores de risco que podem interferir na assistência à saúde materna e fetal (DINIZ *et al*., 2017). Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo analisar as variáveis epidemiológicas das notificações de intoxicação exógena em tentativas de aborto no Brasil.

## MÉTODO

Trata-se de um estudo transversal de caráter descritivo, sobre os casos notificados de tentativas de aborto por intoxicação exógena no Brasil entre os anos de 2010- 2020. Foram utilizados dados secundários, sendo obtidos a partir de buscas sistematizadas nos bancos de dados informatizados, disponibilizados de uma fonte pública de pesquisa proveniente do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Sendo este, um órgão pertencente à Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa do Ministério da Saúde do Brasil onde estão presentes todas as informações relacionadas ao Sistema Único de Saúde a nível nacional. O presente estudo foi realizado respeitando-se as premissas da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde,

sendo desnecessária a apreciação do Comitê de Ética por se tratar de estudo que não envolve participação direta ou indireta de seres humanos.

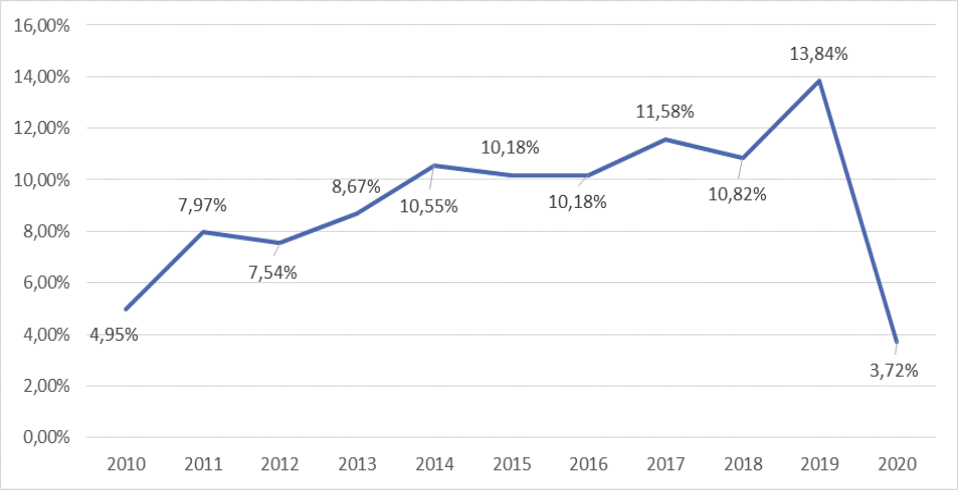
Os dados foram coletados por meio do DATASUS através da opção >> "Acesso à informação" >> "Informações em Saúde (TABNET)" >> "Epidemiológicas e Morbidade" >> "Doenças e agravos de notificação 2007 em diante (SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação)" >> "Intoxicação exógena" >> "Circunstância" >> "Tentativa de aborto". Após isso, os dados foram compilados em gráficos e tabelas utilizando o programa Microsoft Excel 2018®. Adotou-se para análise e discussão as variáveis: ano de notificação, região do Brasil, faixa etária, agente tóxico, raça.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período adotado para análise (2010 a 2020) foram notificados, no Brasil, 1857 casos de intoxicações exógenas relacionadas a tentativas de aborto. O Gráfico 17.1 traz a distribuição anual ao longo dos 10 anos observados. Nota-se que no ano de 2019 houve o maior número de registros de tal agravo (13, 84%), sendo possível observar também aumento dos casos ao decorrer do recorte temporal. O ano de 2020, por sua vez, apresenta redução significativa, no entanto, é importante destacar que a plataforma DATASUS teve a última atualização de valores em 13 de maio de 2020.

As evidências científicas nacionais mostram que as mulheres mais vulneráveis à interrupção de uma gravidez de modo inseguro são negras, jovens, solteiras, com filhos e baixa renda (ADESSE *et al*., 2016; FONSCECA *et al*., 2020; MENEZES *et al*., 2020).

**Gráfico 17.1.** Distribuição percentual anual das intoxicações exógenas em tentativas de aborto no Brasil, 2010 a 2020, N =1857




**Fonte:** DATASUS, 2020.

Avaliando a distribuição dos casos por região de notificação foi possível observar que houve mais registros de casos no Sudeste (42, 49%) seguido do Nordeste (22,78%). É evidente, ainda, que as regiões Centro-Oeste e Norte obtiveram as menores porcentagens de notificações, 12,12% e 3,98%, respectivamente (Tabela 17.1).

**Tabela 17.1.** Distribuição percentual das intoxicações exógenas em tentativas de aborto no Brasil por região do país de 2010 a 2020

| Variável | N | % |
|---|---|---|
| Norte | 74 | 3,98 |
| Nordeste | 423 | 22,78 |
| Sudeste | 796 | 42,86 |
| Sul | 339 | 18,26 |
| Centro-Oeste | 225 | 12,12 |

**Fonte:** DATASUS, 2020.

Dados do Instituo Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009), apontam que as regiões Norte e Nordeste possuem altos números de subnotificação dos agravos em geral. O que corrobora com os dados encontrados, pois são as duas regiões com as menores porcentagens de registro. Dessa maneira, muitas pesquisas de cunho epidemiológico evidenciam certo grau de inconsistência dos Sistemas de Informação em Saúde, uma vez que há alto grau de omissão de determinados casos. Outrossim, os registros estão entrelaçados diretamente com o contexto tecnológico e desenvolvimento humano de cada região (MENDONÇA *et al*., 2018).

Com isso, torna-se de suma importância a divulgação e implementação dos Centros de Informação e Assistência Toxicológica (CIAT) ainda escasso em cidades menores e capitais do Nordeste e Norte (ANVISA, 2020). Ademais, é nítido a necessidade do aprimoramento dos Núcleos de Epidemiologia Hospitalar (NEH) visando o melhor acompanhamento do perfil das intoxicações exógenas, visto que os existentes em algumas localidades como na capital Piauiense, Teresina, não possui espaço físico próprio linha telefônica direta e profissionais especializados na composição do sistema (GUIMARÃES *et al*., 2019).

Os achados dessa pesquisa evidenciaram que indivíduos autodeclarados pardos (37,21%), seguidos de brancos (36,73%), correspondiam ao maior número de notificações quando estratificados por cor da pele. Também foi possível se observar na linha temporal analisada, que 19,22% dos registros havia ignorado o preenchimento dessa variável (Tabela 17.2).

**Tabela 17.2.** Distribuição das intoxicações exógenas em tentativas de aborto no Brasil por cor da pele de 2010 a 2020

| Variável | N | % |
|---|---|---|
| Ignorada | 357 | 19,22 |
| Branca | 682 | 36,73 |
| Preta | 107 | 5,76 |
| Amarela | 12 | 0,65 |
| Parda | 691 | 37,21 |
| Indígena | 8 | 0,43 |

**Fonte:** DATASUS, 2020.

É importante mencionar que os dados referentes ao último recenseamento demográfico, realizado em 2010, no Brasil, 43% e 48% da população se autodeclarou de cor parda e branca, respectivamente. Esse fato, pode ter relação direta com o que foi observado na Tabela 2 (IBGE, 2010). Outrossim, os quase 20% de notificações que tiveram essa variável ignorada alerta para o cuidado no momento do preenchimento das informações, uma vez que o conhecimento das características sociodemográficas é essencial para o desenvolvimento e implementação de estratégias para amenizar tais agravos (GUIMARÃES *et al*., 2019).

O estudo de Goes *et al*. (2020) evidenciou que as mulheres pretas e pardas estão em situação de vulnerabilidade na busca pelo primeiro atendimento pós tentativa de aborto utilizando métodos caseiros, como a automedicação. A correlação entre a cor da pele e dificuldade individuais do acesso à atenção em aborto inseguro esta aliada a outras variáveis, como a idade, baixa escolaridade, renda, tipo de relação conjugal e a existência de outros filhos (DINIZ & MEDEIROS, 2012; MONTEIRO *et al*., 2008). As desigualdades citadas afetam, ainda, na restrição dessa população na qualidade de acesso de bens e serviço no contexto saúde. As mulheres pretas, são as que mais apontaram não ter dinheiro de transporte, o que se constituiu na segunda mais importante barreira individual de acesso à atenção em saúde (GOES *et al*., 2020).

Quanto à distribuição percentual por faixa etária é visível que os maiores valores de intoxicação se encontram entre 20 a 39 anos totalizando 54,17% , seguido pela a faixa etária de 15 a 19 anos com 26,82% (Tabela 17.3).

**Tabela 17.3.** Distribuição das intoxicações exógenas em tentativas de aborto no Brasil por idade de 2010 a 2020

| Variável (anos) | N | % |
|---|---|---|
| 10 – 14 | 88 | 4,74 |
| 15 – 19 | 498 | 26,82 |
| 20 – 39 | 1006 | 54,17 |
| 40 – 59 | 205 | 11,04 |
| 60 – 64 | 16 | 0,86 |
| 65 – 69 | 6 | 0,32 |
| 70 – 79 | 5 | 0,27 |
| 80 | 4 | 0,22 |

**Fonte:** DATASUS, 2020.

Há poucas evidencias científicas do contexto relacionado a ocorrência da gravidez na fase jovem adulto e o interrompimento clandestino (BRANDÃO & CABRAL, 2017). A população de adolescentes e jovens apresenta alta prevalência de experiência de gravidez e de aborto, comparada a outra faixa etária (NEIVA-SILVA *et al*., 2018). Por sua vez, Ferrari *et al*. (2018), relatam que mulheres residentes de favelas do Rio de Janeiro iniciam sua vida sexual ainda na pré-adolescência. Sendo esse, um dos fatores desencadeantes para gravidez indesejadas e a indução do aborto, estimulada, na maioria das vezes pelo parceiro.

Frente a isso, urge a necessidade da discussão e de saúde sexual e reprodutiva que atendam às necessidades atuais desse público, para que se alcance a proteção desses juntamente a diminuição de gestações arriscadas. Contexto esse, que afeta diretamente a lotação e qualidade do sistema público de saúde (KALE *et al*., 2018).

Os medicamentos foram identificados como o principal agente tóxico envolvido nas tentativas de aborto (62,09%), seguido dos raticidas (6,68%) e plantas (6,30%) (Tabela 4).

Estudos mostram que intoxicação exógena é a maneira mais usada nas tentativas de aborto. As substâncias referentes a 70% dos casos são pesticidas e medicamentos, sendo o misoprostol, o fármaco mais utilizado (VELOSO *et al*., 2017). Segundo Silva *et al*. (2013), a ação abortiva do misoprostol consiste na estimulação do útero, induzindo a contrações e ao alargamento do colo. O uso dessa medicação possui altas chances de resultar em um abortamento incompleto e gestação contínua, com complicações, mesmo quando usado corretamente, resultando em aborto completo em 75%-90% dos casos (SINGH *et al*., 2017). Informações essas, ainda desconhecidas por parte da população, visto que de metade das mulheres que aderiram tal prática necessitou de internação devido a efeitos graves da tentativa (ZORDO, 2016).

**Tabela 17.4.** Distribuição das intoxicações exógenas em tentativas de aborto no Brasil por agente tóxico de 2010 a 2020

| Variável | N | % |
|---|---|---|
| Ignorado | 141 | 7,59 |
| Medicamento | 1153 | 62,09 |
| Agrotóxico de uso agrícola | 44 | 2,37 |
| Agrotóxico de uso doméstico | 21 | 1,13 |
| Raticida | 124 | 6,68 |
| Produto Veterinário | 21 | 1,13 |
| Produto de uso domiciliar | 62 | 3,34 |
| Drogas de Abuso | 102 | 5,49 |
| Planta Tóxica | 117 | 6,30 |
| Outros | 72 | 3,88 |

**Fonte:** DATASUS, 2020.

Diante disso, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) editou a Resolução nº 753/ 2017 proibiu a distribuição, divulgação e comercialização do misoprostol. A falta de conhecimento sobre a medicação, acaba submetendo-se a classe feminina a procedimentos mais dolorosos, longos, arriscados juntamente com abalo físico e psicológico (KALE *et al*., 2018).

Algumas plantas que apresentam efeito abortivo podem apresentar efeito embriotóxico ou teratogênico. Dessa forma, a utilização de alguma espécie vegetal a fim de se interromper a gestação e não haver a consumação do fato, a criança gerada pode nascer com alterações na formação e relacionados a saúde (RODRIGUES *et al*., 2011). Por tudo isso, cabe aos profissionais da área de saúde a orientação correta acerca dos riscos da utilização de plantas medicinais e fitoterápicos no período gestacional, destacando perigo potencial da automedicação e das consequências associadas (AQUINO *et al*., 2020).

## CONCLUSÃO

A investigação possibilitou conhecer o perfil epidemiológico de intoxicação exógena em tentativas de aborto no Brasil entre os anos 2010-2020, com o maior número de registro no ano de 2019. Foi constatado, ainda que, a maior parte desses casos são relacionados as faixas-etárias da fase jovem/adulto (20-39 anos). Além disso, observou-se também que a raça mais atingida foi referente a branca e a região Sudeste é detentora do maior número de notificações. Por fim, em relação ao agente tóxico utilizado medicamentos - sendo o misoprostol o mais utilizado, raticidas e plantas (62,09% , 6,68% e 6,30% respectivamente) estavam presentes em maior quantidade nos registros.

Tal linha temática tem sido reconhecida e recomendada por diversas instituições. Diante do exposto, nota-se que a pesquisa em saúde utilizando estudos epidemiológicos é uma ferramenta essencial para o controle e a melhoria de doenças e agravos, uma vez que entender as variáveis é de suma importância para que medidas preventivas sejam aplicadas. Assim, o presente estudo contribuirá socialmente para a população abordada tornando possível a compreensão acerca das causas de tal problema, da relação entre as variáveis envolvidas e da importância do sistema de notificação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ABORTION WORLDWIDE 2017: UNEVEN PROGRESS AND UNEQUAL, USA: GUTTMACHER INSTITUTE. Disponível em: https://www.guttmacher.org/report/abortion-worldwide-2017. Acesso em: 17 de set. 2020.

ADESSE, L. *et al.* Aborto e estigma: uma análise da produção científica sobre a temática. Ciência E Saúde Coletiva, v. 21, p. 3819, 2016.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/disqueintoxicacao. Acesso em: 29 ago. 2020.

AQUINO, E.M.L. *et al.* Avaliação da qualidade da atenção ao aborto na perspectiva das usuárias: estrutura dimensional do instrumento qualiaborto-pt. Cadernos de Saúde Pública, v. 36, e00197718, 2020.

BRANDÃO, E.R. & CABRAL, C.R. Da gravidez imprevista à contracepção: aportes para um debate Cadernos de Saúde Pública, v. 33, e00211216, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução-RE nº 753 de 17 de março de 2017. Diário Oficial da União, 2017.

CARDOSO, B.B. *et al.* Aborto no brasil: o que dizem os dados oficiais?. Cadernos De Saúde Pública, , v. 36, p. 1,. 2020.

DINIZ, D. *et al.* Pesquisa nacional de aborto 2016. Ciência & Saúde Coletiva, v. 22, p. 653, 2017.

DOMINGUES, R.M.S.M.. Aborto inseguro no brasil: revisão sistemática da produção científica, 2008-2018. Cadernos De Saúde Pública, v. 36, e00190418. 2020.

FERRARI, W. *et al.* Experiment and learning in the affective and sexual life of young women from a favela in rio de janeiro, brazil, with experience of clandestine abortion. Ciência e Saúde Coletiva, v. 23, p. 2937, 2018.

FONSECA, S.C. *et al.* Aborto legal no brasil: revisão sistemática da produção científica, 2008-2018. Cadernos de Saúde Pública, v. 36, e00189718, 2020.

GOES, L. *et al.* Vulnerabilidade racial e barreiras individuais de mulheres em busca do primeiro atendimento pós-aborto.. Cadernos de Saúde Pública, v. 36, e00189618, 2020.

GUIMARÃES, M.S.O. *et al.* Avaliação da implantação dos núcleos hospitalares de epidemiologia. Revista De Enfermagem UFPE Online, v. 13, p. 1097, 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/indic_sociosaude/2009/default.shtm.. Acesso em: 16 set. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE).. Disponível em: https://censo2010.ibge.gov.br/resultados.html. Acesso em: 17 set. 2020.

KALE, P.L. *et al.* Deaths of women hospitalized for childbirth and abortion, and of their concept, in maternity wards of brazilian public hospitals. Ciência e Saúde Coletiva, , v. 23, p. 1577, 2018.

MADEIRO, A.P. & RUFINO, A. Maus-tratos e discriminação na assistência ao aborto provocado: a percepção das mulheres em Teresina, Piauí, Brasil. Ciência e Saúde Coletiva, , v. 22, p. 2771, 2017.

MENDONÇA, S.M. *et al.* Mortalidade neonatal no brasil no período de 2004 a 2014. Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 11, e142, 2018.

MENEZES, G. S. *et al.* Aborto e saúde no Brasil: desafios para a pesquisa sobre o tema em um contexto de ilegalidade.. Cadernos de Saúde Pública, , v. 36, e00197918, 2020.

NEIVA-SILVA, L. Pregnancy and abortion experience among children, adolescents and youths living on the streets. Ciência e Saúde Coletiva, v. 23, p. 1055, 2018.

OLIVEIRA, F.F.S. & SUCHARA, E.A. Perfil epidemiológico das intoxicações exógenas em crianças e adolescentes em município do mato grosso. Revista Paulista de Pediatria, v. 32, p. 299, 2014.

RODRIGUES H.G. *et al.*. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. Revista Brasileira De Plantas Medicinais, v. 13, p. 359, 2011.

SILVA, F.P.R. *et al.* Misoprostol: propriedades gerais e uso clínico. Revista Científica Do ITPAC, v. 6, p. 1, 2013.

VELOSO, C. *et al.* Violência autoinfligida por intoxicação exógena em um serviço de urgência e emergência. Revista Gaúcha de Enfermagem, v. 38, e66187, 2017.

ZORDO, S. A biomedicalização do aborto ilegal: a vida dupla do misoprostol no Brasil. História, Ciências, Saúde-Manguinhos, v. 23, p. 19, 2016.

# CAPÍTULO 18

# ANÁLISE DA EFICÁCIA DO USO DE ISAVUCONAZOL COMO AVANÇO NO TRATAMENTO ALTERNATIVO DE DOENÇAS FÚNGICAS INVASIVAS

*Palavras-chave: Isavuconazol; Doenças Fúngicas Invasivas; Fases Pré Clínica/Clínicas*

RAMONA DIAS HORTA[1]
ALICE MAIA MARINHO DE ANDRADE[1]
MARCELA OLIVEIRA DE DEUS[1]
RAFAELA SANTANA COSTA[1]
VICTOR AUGUSTO DE SOUZA NÉBIAS[1]
BRUNA SILVA TERRA[2]

1. Discente da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS - BH.
2. Orientadora, Doutora e Mestre em Química pela Universidade Federal de Minas Gerais, graduada em Farmácia pela Universidade Estadual de Londrina e docente da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS -BH.

# INTRODUÇÃO

## Epidemiologia e Fisiopatologia

As principais doenças fúngicas invasivas são Aspergilose, Candidíase e a Mucormicose. A primeira é a mais comum, com incidência de 1-9% e mortalidade de 55-92%. A incidência da candidíase invasiva tem uma distribuição bimodal, com picos nos extremos das idades: 75:100.000 em crianças menores de 1 ano e 26:100.000 em adultos maiores de 65 anos(SILVA, 2010).

A Mucormicose segue na terceira posição, como a doença fúngica mais invasiva e representa 8,3-13,0% das infecções fúngicas encontradas em autópsias de pacientes hematológicos(SEVERO *et al*., 2010). Pode estar presente em qualquer tipo de zona climática, e possui o aparelho respiratório como órgão alvo principal independe de sexo, etnia e idade. Quando ocorrem manifestações extrapulmonares pode-se observar a sinusite, a otite, a endoftalmite e a endocardite em valva protética (AMORIM *et al*., 2004).

O *Aspergillus spp.*, agente etiológico da Aspergilose, é frequentemente encontrado em ambientes úmidos e "mofados". A forma infectante é veiculada pelo ar (CARVALHO, 2013). Sua forma de contágio mais comum é por via aérea, por meio da inalação de conídios que se alojam no pulmão, podendo invadir o revestimento de células endoteliais e disseminar-se para outros órgãos através da corrente sanguínea (BELLOCCHIO, 2005). Esse processo gera, de distúrbios alérgicos até a destruição do tecido pulmonar com disseminação sistêmica, denominado Aspergilose Pulmonar Invasiva (PILANIYA *et al*., 2015).

As hifas invadem o lúmen e a parede dos vasos sanguíneos, causando trombose, infarto, necrose e hemorragias. Além disso, outro fator que influencia o desenvolvimento da Aspergilose Invasiva é a contagem de neutrófilos, sendo a neutropenia presente no quadro clínico (SALES, 2009; KOSMIDIS, 2015). Essa doença apresenta-se como uma infecção progressiva, grave e aguda de relativa letalidade, pois o fungo pode se disseminar para o trato gastrointestinal, rins, cérebro, fígado, entre outros órgãos e tecidos (CARVALHO, 2013).

A Mucormicose apresenta-se usualmente como uma infecção subcutânea, ocorrendo em zonas de clima tropical. Ocorre por infecção de patógenos oportunistas (*Rhizopus Arrhizus*, Absidia Corymbifera), acometendo pacientes imunodeficientes, originando principalmente processos que levam à neutropenia ou à disfunção dos neutrófilos (SEVERO *et al*., 2010).

É associada a doenças hematológicas, cetoacidose diabética e transplante de órgãos e, sua forma mais frequente, é a rinocerebral, com ou sem efeito pulmonar. Seu quadro clínico e a sua evolução costumam ser rápidos, uma vez que há destruição dos tecidos, paralelamente, ao crescimento fúngico (SEVERO *et al*., 2010; PRABHU *et al*., 2004 ).

## Justificativa e finalidade para desenvolvimento do novo fármaco

O Isavuconazol (ISA) é um novo medicamento antifúngico, que recebeu aprovação dos órgãos: *European Medicines Agency* (EMA) no dia 15 de outubro de 2015, *Food and Drug Administration* (FDA) no dia 6 de março de 2015 e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no dia 14 de outubro de 2019. Esse fármaco, é utilizado no tratamento de pacientes

adultos com infecções fúngicas potencialmente fatais: Aspergilose invasiva e Mucormicose (EMA, 2015; FDA, 2016; ANVISA, 2019). Seu desenvolvimento decorreu da necessidade de suprir as falhas na terapia medicamentosas utilizando Anfotericina B ou Voriconazol, medicamentos padrão ouro para tratamento da Mucormicose e da Aspergilose, respectivamente (EMA, 2015).

Dessa forma, esta revisão tem como objetivo demonstrar os resultados obtidos da fase pré clínica e clínica do desenvolvimento do ISA, que concluíram que o fármaco irá beneficiar os doentes para os quais a anfotericina B não é adequada, além disso, esse medicamento tem a vantagem de poder ser utilizado em pacientes com função renal reduzida e possuir benefícios superiores aos seus riscos (EMA, 2015; REVANKAR, 2017; NÚCLEO DE EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA BASEADA EM EVIDÊNCIA, 2012). Ademais, é válido ressaltar que essas infecções fúngicas são potencialmente fatais e associadas a uma elevada mortalidade, então a existência de tratamentos alternativos que estejam fora de possíveis efeitos colaterais são necessários para garantir a melhora dos pacientes enfermos e assim, diminuir sua porcentagem de mortalidade (REVANKAR, 2017; NÚCLEO DE EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA BASEADA EM EVIDÊNCIA, 2012; SILVA, 2006).

## MÉTODO

A pesquisa trata-se de uma revisão narrativa, cuja busca dos artigos selecionados e elaboração do trabalho ocorreram no período de fevereiro a junho de 2020. Para a busca foram utilizadas as bases de dados PubMed, SciELO e Google Acadêmico, onde houve a seleção de artigos publicados durante os anos de 2004 a 2019. Os descritores da pesquisa aplicados foram "Mucormicose", "Aspergilose" e "Isavuconazol", assim como seus respectivos equivalentes na língua inglesa, "*Mucormycosis*", "*Aspergillosis*" e "*Isavuconazole*".

Nesta revisão, houve a exclusão de artigos que não abordavam sobre o ISA como principal assunto no desenvolvimento do texto ou aqueles que não abordaram doenças fúngicas. A seleção dos artigos ocorreu em etapas de acordo com as fases pré-clínicas e clínicas de experimento do fármaco, além daqueles que dissertam sobre doenças fúngicas. Após a interpretação dos trabalhos, ocorreu a elaboração da presente revisão da literatura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na intenção de que o ISA fosse aprovado e hoje utilizado no tratamento eficiente da Aspergilose e Mucormicose, o fármaco passou por fases experimentais pré-clínicas e clínicas para ser analisado e considerado seguro e eficaz. Dessa forma, foram analisados artigos que relatam os estudos supracitados acima (SILVA, 2006).

### Fase pré clínica

Warn *et al.* (2006) realizaram um estudo *in vitro* a partir de cinco medicamentos diluídos separadamente (ISA, Voriconazol, Caspofungina, Anfotericina B e Itraconazol), formando placas de microdiluição com suspensões de inóculos de *Aspergillus flavus*. Assim, foi realizada a leitura

das placas: as menores concentrações de ISA (2 mg/L), Itraconazol (0,5 mg/L) e Voriconazol (1 mg/L) impediram 100% do crescimento fúngico, enquanto a Caspofungina reduziu somente 80% desse crescimento em comparação com o controle. Conclui-se pelo estudo que, o ISA, mostrou uma eficácia semelhante ao Itraconazol, Voriconazol e a Anfotericina B no impedimento do crescimento e na morte dos fungos A. flavus.

Para a realização do experimento *in vivo*, foram utilizados tanto para controle, quanto para tratamento, seis camundongos para o estudo de avaliação de sobrevivência e três para carga tecidual (WARN, 2006). Para testar a eficácia do ISA, comparou-se com outros três fármacos: Voriconazol, Itraconazol e Caspofungina, aplicando-os nos camundongos infectados (WARN, 2006). Os camundongos que não foram tratados ativamente tiveram mortalidade de 83% a 100%. Os animais que que foram tratados com ISA obtiveram sobrevida de 100% tanto no tratamento quanto na profilaxia (WARN, 2006).

No modelo tratado com 2h de antecedência da infecção, os camundongos que receberam ISA de 6 mg/kg/dose e Caspofungina, obtiveram 100% de sobrevivência (WARN, 2006). Já no modelo tratados após 4h de infecção, todos os tratamentos foram superiores em relação a taxa de sobrevida comparado ao controle ($p < 0,2$), sendo que o ISA de 15 mg/kg/dose obteve 83% de sobrevivência. Por último, o modelo após 24 h da infecção fornece 100% de sobrevivência para aqueles que foram tratados por ISA de 15 e 30 mg/kg/dose e Caspofungina (WARN, 2006).

A partir disso, foi estabelecido que a dose de 15 mg/kg/dose de ISA foi capaz de eliminar grande parte da carga fúngica dos camundongos e que 30 mg/kg dose foi capaz de reduzir a carga fúngica a níveis indetectáveis quando tratados após 24 h da infecção (WARN, 2006).

No estudo *in vivo* realizado por Petraitis *et al.* (2016), foram utilizados 32 coelhos saudáveis. Após a infecção artificial desses animais por inóculos de conídios de A. fumigatus, foi administrado o ISA. Nas primeiras 24 h, 24 coelhos receberam uma dose oral de ISA 90 mg/kg (ISA90), enquanto os 8 coelhos restantes constituíram o grupo controle, não sendo medicados. No dia seguinte, foi iniciada a terapia endotraqueal e os animais foram subdivididos em grupos nos quais 8 coelhos receberam a dosagem de 20 mg/kg (ISA20), 8 coelhos 40 mg/kg (ISA40) e 8 coelhos 60 mg/kg (ISA60) por 12 dias.

Desse modo, após a morte induzida dos animais foi avaliada a eficácia antifúngica. Após a análise dos resultados, constatou-se que coelhos tratados com ISA20, ISA40 e ISA60 tiveram resíduos de cargas fúngicas reduzidos em comparação com o grupo controle (PETRAITIS, 2016). Nos coelhos tratados com ISA20 e ISA60, houve menor lesão pulmonar, diminuição do peso pulmonar total e maior sobrevida em comparação com o grupo controle. Os coelhos do grupo ISA20 tiveram redução na pontuação com relação ao infarto pulmonar (PETRAITIS, 2016).

Após análise dos estudos de fase pré-clínica, é perceptível que o ISA é um medicamento eficiente e seguro para ser testado em humanos.

### Fase clínica 1: Segurança e farmacocinética do novo fármaco

Os artigos de Towsend *et al.* (2017) - estudo 1 - e Yamazaki *et al* (2017) - estudo 2 - realizaram experimentos que acompanharam todos os participantes do início ao fim da terapia. Ambos os estudos utilizaram dosagens únicas, entretanto diferenciam-se em relação a posologia e

ao tempo de uso. No estudo 1 cada participante recebeu 200 mg de ISA e uma dose adicional antes de realizarem diálise, com o objetivo de avaliar o impacto do fármaco em pacientes com insuficiência renal (TOWNSEND *et al*., 2017). O estudo 2, por sua vez, avaliou a interação medicamentosa entre o ISA com diferentes fármacos (YAMAZAKI *et al*., 2017). Para isso, os quatro grupos foram separados de acordo com os medicamentos, sendo que receberam a mesma posologia de ISA (200 mg) e posologias diferentes de acordo com cada fármaco: Atorvastatina (20 mg), Digoxina (0,5 mg), Metformina (850 mg) e Metotrexato (7,5 mg).

No que se refere ao desenvolvimento, o primeiro estudo 1 selecionou os participantes de forma paralela, sendo divididos em duas partes. A primeira, composta por 2 grupos (saudáveis e com doença renal-IR), a segunda obteve quatro grupos, divididos em: saudáveis, indivíduos com IR leve, indivíduos com IR moderado e indivíduos com IR grave (TOWNSEND *et al*., 2017). Já o segundo estudo foi paralelo no qual os 96 participantes foram divididos de maneira igual nos grupos (YAMAZAKI *et al*., 2017).

Em relação a farmacocinética do ISA no estudo 1, observou-se que a concentração máxima (Cmax), biodisponibilidade (AUC), o tempo de meia vida (T1/2) e o clearance (CL) do fármaco não mostraram alterações significativas entre os grupos com insuficiência renal e o grupo saudável (Tabela 18.1).

**Tabela 18.1.** Parâmetros farmacocinéticos do Isavuconazol em pacientes com insuficiência renal leve, moderada e grave em comparação com o indivíduos saudáveis

| | Cmax (mg/L) | AUC (mg*h/L) | $T^{1/2}$ (horas) | CL (L/h) |
|---|---|---|---|---|
| **Saudável** | 4,4 | 98,8 | 140,5 | 2,4 |
| **IR (leve)** | 3,9 | 96,2 | 117 | 2,5 |
| **IR (moderada)** | 4,1 | 97,2 | 158,5 | 2,2 |
| **IR (grave)** | 3,4 | 98,8 | 145,8 | 2,4 |

**Legenda:** Cmax (mg/L) - concentração máxima; AUC (mg*h/L) – biodisponibilidade; T½ (horas) - tempo de meia vida; CL (L/h) – clearance; IR - insuficiência renal. **Fonte:** TOWNSEND *et al.*, 2017

No grupo de pacientes com doença renal terminal (DRT) a Cmax e o CL obtiveram valores semelhantes entre os grupos de DRT no 1° dia, DRT no 15° dia e o grupo saudável (TOWNSEND *et al*., 2017). Já em relação a biodisponibilidade, nos participantes com DRT o valor se apresentou menor no dia 1, porém no dia 15 o valor se apresentou semelhante ao grupo saudável. Por fim, o T1/2 do ISA apresentou 1,6 vezes maior nos participante com DRT no 1° dia em comparação com o grupo saudável (Tabela 18.2) (TOWNSEND *et al*., 2017).

No estudo 2, não foi observada nenhuma alteração farmacocinética do ISA em relação a associação com os medicamentos do estudo (YAMAZAKI *et al.,* 2017).

Em relação a segurança do fármaco, no estudo 1 observou-se que não ocorreram efeitos colaterais significativos em relação ao tratamento com o ISA. Os poucos efeitos observados foram: perturbações gerais, alterações no local de administração do fármaco, distúrbios do sistema nervoso,

problemas gastrointestinais (mais presentes em portadores de doença renal terminal e insuficiência grave), infecções, infestações e alterações na pele e subcutâneo (TOWNSEND *et al.,* 2017).

**Tabela 18.2.** Parâmetros Farmacocinéticos do Isavuconazol em pacientes com doença renal terminal em comparação indivíduos saudável

| | Cmax(mg/L) | AUC (mg*h/L) | $T^{1/2}$(horas) | CL (L/h) |
|---|---|---|---|---|
| **Saudável** | 4,6 | 36,9 | 125,5 | 2,4 |
| **DRT 1º dia** | 3,7 | 25,1 | 204,5 | 2,9 |
| **DRT 15º dia** | 3,7 | 32,3 | -- | -- |

**Legenda:** Cmax (mg/L) - concentração máxima; AUC (mg*h/L) – biodisponibilidade; T½ (horas) - tempo de meia vida; CL (L/h) – clearance; DRT - doença renal terminal. **Fonte:** TOWNSEND *et al.*, 2017.

No estudo 2 não foram observados efeitos graves na associação do ISA com outros medicamentos. Nos pacientes que fizeram a associação com a digoxina, houve espasmos musculares de intensidade moderada; com a Metformina, houve vômitos intermitentes e espasmos musculares; com o Metotrexato, os efeitos foram cefaleia e diarreia, além de infecção do trato superior de intensidade moderada (YAMAZAKI *et al.,* 2017). Assim, o uso concomitante do ISA com esses medicamentos é seguro, porém deve ser cauteloso.

### Fase clínica 2 e 3: Eficácia do novo fármaco

Foram analisados os estudos de Viljoen *et al.* (2015) de fase 2 - multicêntrico, randomizado, duplo-cego, de Thompson *et al.* (2016) - não randomizado e aberto e de Maertens *et al* (2016) ambos de fase 3 - multicêntrico, randomizado, duplo-cego. No que tange a população, o estudo de fase 2, 160 participantes foram alocados em quatro grupos com 40 participantes em cada. Por outro lado, o estudo de Thompson *et al.* (2016) selecionou 149 participantes, sendo que 38 estavam com as doenças fúngicas desejadas, e dentre esse grupo, apenas 31 terminaram o estudo. Já o estudo de Maertens *et al.* (2016) utilizou dois grupos (Isavuconazol e Voriconazol), cada um contendo 258 indivíduos.

Em referência às intervenções realizadas em cada grupo de cada fase clínica, foram utilizados parâmetros diferentes. De acordo com o artigo de estudo de Viljoen *et al.* (2015), houve uma divisão em 4 grupos: A, que foi escolhido de acordo com dados farmacocinéticos dos estudos de fase 1 e dados de estudos *in vitro* de *Candida spp.*; B, que foi selecionado de acordo com a meia vida longa do ISA; C, que foi selecionado de acordo com os mesmos parâmetros usados para escolha do grupo A, porém em dosagens mais altas; e D, selecionado de acordo com o regime de dosagem aprovado para o fluconazol pela FDA. Com base na divisão desses grupos, foi feita a administração do medicamento.

O grupo A recebeu dose única de 200 mg de ISA no 1° dia e 50 mg a partir do segundo dia. O grupo B recebeu dose única de 400 mg de ISA nos dias 1, 7, 14 e 21, caso o dia 14 não fosse o último da terapia. O grupo C recebeu dose única de 400 mg de ISA no dia 1 e 100 mg nos próximos

dias. O grupo D recebeu dose única oral de 200 mg de fluconazol no 1° dia e 100 mg nos próximos dias (VILJOEN *et al*., 2015).

Já no estudo de Thompson *et al.* (2016), em todos os grupos, os quais foram divididos de acordo com a doença (coccidioidomicose, criptococose, blastomicose, histoplasmose e paracoccidioidomicose), verificou-se os resultados, diariamente nos três primeiros dias, em seguida no 7º, 14º, 28º, 42º e 84º dia. Após a descontinuação do tratamento com o fármaco ISA, esses pacientes realizaram uma avaliação final dessa terapia em duas análises mensais. No 42º e no 84º dia, foram obtidos resultados com respostas clínicas, micológicas e radiológicas. As internações não foram relatadas no estudo. Assim, pode-se observar que o fármaco ISA pode ser eficiente em outras doenças fúngicas, como as relatadas nesse estudo (THOMPSON *et al*., 2016).

Com relação ao artigo de Maertens *et al* (2016), o grupo do ISA com 258 participantes receberam uma dose de 600 mg nos dois primeiros dias e 200 mg a partir do terceiro, por via intravenosa (IV) ou oral. Em contrapartida, o grupo do Voriconazol com 258 indivíduos obtiveram dosagem de 12 mg/kg no primeiro dia, 8 mg/kg no segundo dia e 4 mg/kg, via intravenosa, a partir do terceiro dia em diante, ou 200 mg por via oral (MAERTENS *et al*., 2016).

Dessa forma, foram observados vários resultados a partir dos estudo de fase II e III. No estudo Viljoen *et al.* (2015), o desfecho primário se refere a análise da resposta clínica dos pacientes e o desfecho secundário foi realizado uma análise da resposta terapêutica geral e a resposta microbiológica no final do tratamento. Assim, 146 (95,4%) pacientes obtiveram sucesso no desfecho primário, 147 (96,1%) resposta terapêutica positiva e 138 (95,2%) sucesso na resposta microbiológica.

Diferentemente do estudo de Viljoen *et al*. (2016), o tamanho efetivo de cada grupo do estudo de Thompson *et al.* (2016) foi de 9 indivíduos contaminados com coccidioidomicose, 9 paciente com criptococose, 3 com blastomicose, 7 com histoplasmose e 10 com paracoccidioidomicose.

No grupo da criptococose, dois dos nove pacientes tiveram tratamento interrompido, devido a intolerância ao medicamento em estudo. Seis pacientes tiveram boa resposta com o ISA. Já no grupo do coccidioidomicose, cinco dos nove pacientes responderam bem ao tratamento e o restante apresentaram uma estabilidade da doença. No grupo do blastomicose, dois pacientes dos três, tiveram terapia interrompida devido a complicação. O último paciente, com sua intolerância a outra medicação, recebeu ISA, com melhora clínica observada. No que se refere a histoplasmose, um paciente com acometimento do sistema nervoso central obteve sucesso terapêutico, 3 obtiveram sucesso parcial e o último paciente teve a doença estabilizada. Adiciona-se a isso, o grupo do paracoccidioidomicose que apresentou sucesso no tratamento de um paciente, sucesso parcial em sete pacientes e dois óbitos após tratamento. No estudo apresentado anteriormente, não foi relatado a presença de fluxogramas como meio explicativo e expositivo (THOMPSON *et al*., 2016).

Em contraposição, no estudo de Maertens *et al.* (2016), o desfecho primário foi análise da mortalidade desde o primeiro dia de dose dos medicamentos até o 42º dia de medicação. Assim, o estudo comprovou sua eficiência semelhante ao Voriconazol, já que a mortalidade de ambos foi de 19% (48 pacientes) para ISA e 20% (52 pacientes) para Voriconazol.

Por fim, foram analisados os efeitos colaterais que são considerados como informações importantes para segurança do medicamento. No artigo de Viljoen *et al.* (2015) foram observados

vários efeitos adversos. Dentre os pacientes, 22 apresentaram efeitos colaterais que foram relacionados ao ISA, sendo que os mais comuns foram anemia (3,1%), diarreia (2,5%) e náusea (1,9%). Além desses efeitos colaterais, foi observada uma morte diretamente relacionada ao tratamento e um paciente precisou interromper o estudo devido a um bloqueio atrioventricular de 2º grau leve.

Em contrapartida, ao investigar os efeito adversos nos participantes do estudo de Thompson *et al.* (2016), houve notificação em 14 pacientes. Dessa maneira, percebe-se que as manifestações mais encontradas foram flebite (10,5%) e vômito (7,9%). Além dessas, apresentaram também diarreia, náusea, dor no peito, elevação de GGT, parestesia e sonolência, sendo que cada uma delas obtiveram uma porcentagem de 5,3%.

Por fim, no estudo de Maertens *et al.* (2016), os efeitos colaterais mais frequentes foram problemas gastrointestinais com 68% no tratamento do ISA e 69% no tratamento com Voriconazol, além de infestações/infecções que apresentaram 59% contra 61% em relação às medicações, respectivamente. Outros efeitos colaterais observados foram desordens hepatobiliares, 9% no grupo ISA e 42% no grupo Voriconazol, comprovando menor hepatotoxicidade do ISA. Além disso, outros sintomas adversos foram observados, porém em todos eles o ISA apresentou uma porcentagem menor que o Voriconazol, mostrando maior segurança.

| | **População** | **Tratamento** | **Tipo de avaliação** |
|---|---|---|---|
| Thompson *et al.* (2016) | 149 (5 grupos separados de acordo com a doença). | 5 grupos (coccidioidomicose; criptococose; blastomicose; histoplasmose e paracoccidioidomicose) todos tratados com ISA. | Estudo de fase 3 Avalia eficácia do ISA sobre os diferentes tipos de doenças fúngicas. |
| Viljoen *et al.* (2015) | 160 (4 grupos de 40 participantes). | **A-** ISA (200 mg no 1° dia e 50 mg a partir do 2° dia).<br><br>**B-** ISA (dose única de 400 mg nos dias 1, 7, 14 e 21, caso o dia 14 não fosse o último da terapia).<br><br>**C-** ISA (dose única de 400 mg no 1º dia e 100 mg nos próximos dias).<br><br>**D-** Fluconazol (200 mg no 1° dia e 100 mg nos próximos dias). | Estudo de fase 2 Avalia eficácia dos diferentes tipos de dosagens do ISA e compara a eficácia do ISA em relação ao fluconazol. |
| Maertens *et al.*(2016) | 516 (2 grupos de 258 participantes). | **1º Grupo:** ISA (uma dose de 600 mg nos 1º e 2º dias e 200 mg a partir do 3º dia, por via IV ou oral).<br>**2º Grupo:** Voriconazol ( dosagem de 12 mg/kg no 1º dia, 8 mg/kg no 2º dia e 4 mg/kg (via IV) a partir do 3º dia em diante, ou 200 mg (via oral). | Estudo de fase 3 Avalia eficácia do ISA em relação ao Voriconazol. |

## CONCLUSÃO

Após análise dos estudos clínicos, é perceptível a importância e a complexidade do processo de aprovação de um fármaco, bem como sua importância para demonstrar a eficácia e segurança.

No que se refere a fase pré-clínica, o ISA apresentou uma boa resposta no estudo *in vitro*, impedindo o crescimento de fungos e proporcionando sua morte. Já nos estudos *in vivo*, foram realizadas pesquisas com camundongos e coelhos imunossuprimidos, que foram inoculados por fungos e em seguida tratados com o ISA. Após a retirada dos órgãos para análise, percebeu-se que tais animais tiveram tratamento positivo.

Em relação a fase clínica, nos estudos de fase 1, as pesquisas mostraram a baixa interação medicamentosa e alta tolerabilidade para pacientes com insuficiência renal, sem efeitos colaterais graves.

Na fase clínica 2 foi observado que o uso do ISA se mostrou eficaz e seguro para o tratamento de candidíase esofágica descomplicada.

Ao analisar o artigo de Thompson *et al.* (2016), apesar de não seguir os padrões pré estabelecidos de fase clínica III e possuir uma pequena amostra de participantes, utiliza o ISA para o tratamento de outras doenças fúngicas, como coccidioidomicose e criptococose. Com isso, pode-se induzir um novo olhar para esse fármaco, como tratamento para outras patologias, necessitando, assim, de mais estudo esclarecedores. Já o estudo Maertens *et al.* (2016) também de fase III, apresenta os parâmetros adequados para a fase em questão e comprova a eficácia do ISA em grandes populações.

Por fim, após a análise dos estudos e os resultados obtidos, percebe-se que a utilização do ISA foi benéfica para outras doenças fúngicas, não somente para Aspergilose invasiva e Mucormicose, e seus efeitos não interferem na função renal nos participantes do estudo, além de possuir menos efeitos colaterais e sofrer poucas interferências de outros medicamentos, tais como Atorvastatina e Metformina. Portanto, percebe-se que a utilização deste medicamento é importante para o tratamento das enfermidades fúngicas.

Atualmente, o ISA já é disponível no mercado estrangeiro e foi aprovado no Brasil, apresentando-se como uma boa alternativa para os medicamentos considerados de primeira linha (Anfotericina B e Voriconazol), em casos de pacientes que apresentam intolerâncias a esses fármacos, tais como os que possuem função renal diminuída.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ANVISA. Cresemba (sulfato de isavuconazônio): novo registro. ANVISA, 2019. Disponível em:<http://antigo.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13?p_p_id=101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_groupId=219201&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_urlTitle=cresemba-sulfato-de-isavuconazonio-no-registro&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_assetEntryId=5662944&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_type=content>. Acesso em: 19 fev. 2020.

AMORIM, D.S. *et al*. Infecções por Aspergillusspp: aspectos gerais. Pulmão RJ, v. 13, 2004.

BELLOCCHIO, S. *et al*. Immunity to Aspergillus fumigatus: the basis for immunotherapy and vaccination. Medical Mycology, v. 43, p. 181, 2005.

Carvalho LIC. Aspergillus e aspergilose – desafios no combate da doença. [Tese]. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2013.

EMA. Cresemba: isavuconazole. European Medicines Agency, 2020. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/cresemba>. Acesso em: 19 fev. 2020.

FOOD & DRUG ADMINISTRATION. DrugTrials Snapshots: CRESEMBA (aspergillosis). FDA, 2016. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/drug-trials-snapshots-cresemba-aspergillosis>. Acesso em: 19 fev. 2020.

KOSMIDIS, C. *et al*. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. Thorax. v. 70, p. 270-277, 2015.

MAERTENS, J.A. *et al*. Isavuconazole versus voriconazole for primary treatment of invasive mould disease caused by Aspergillus another filamentous fungi (SECURE): a phase 3, randomised-controlled, non-inferiority trial. The Lancet, v. 387, p. 760, 2016.

NÚCLEO DE EPIDEMIOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA BASEADA EM EVIDÊNCIAS. Tratamento de Infecções Fúngicas. Universidade Federal da Bahia: Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos, p. 11-15, 2012.

PETRAITIS, V. *et al*. Pharmacokinetics N Concentration-dependent efficacy of isavuconazole for treatment of experimental invasive pulmonary aspergillosis. Antimicrob Agents Chemother, v. 60, p. 2718, 2016.

PILANIYA, V. *et al*. Aspergilose pulmonar invasiva aguda, logo após exposição ocupacional a água poluída barrenta, em indivíduo previamente saudável. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 41, p. 473, 2015.

PRABHU, R.M. & PATEL, R. Mucormycosis And entomophthoramycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. Clinical Microbiology and Infection, v. 10, p. 31, 2004.

REVANKAR, S.G. Mucormicose (Zigomicose). Manual MSD: versão para profissionais de saúde, 2017. Disponível em: https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/fungos/mucormicose>. Acesso em: 19 fev. 2020.

SALES, M.P.U. Capítulo 5 - Aspergilose: do diagnóstico ao tratamento. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 35, p. 1238, 2009.

SEVERO, C.B. *et al*. Zigomicose. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 36, p. 134, 2010.

SILVA, P. Farmacologia: Oitava edição. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2006.

SILVA, R.S. Infecções fúngicas em imunocomprometidos. Jornal Brasileiro de Pneumologia, v. 36, p. 142, 2010.

THOMPSON, G.R. *et al*. Isavuconazole Treatment of Cryptococcosis and Dimorphic Mycoses. Clinical Infectious Diseases, v. 63, p. 356, 2016

TOWNSEND, R.W. *et al*. Phase I trial to investigate the effect renal impairment on isavuconazole pharmacokinetics. European Journal Of Clinical Pharmacology, v. 73, p. 669, 2017.

VILJOEN, J. *et al*. A phase 2, randomized, double-blind, multicenter trial to evaluate the safety and efficacy of three dosing regimens of isavuconazole compared with fluconazole in patients with uncomplicated esophageal candidiasis. Antimicrob Agents Chemother, v. 59, p. 1671, 2015.

WARN, P.A. *et al*. Comparative in vivo activity of BAL4815, the active component of the prodrug BAL 8557, in a neutropenic murine model of disseminated Aspergillus flavus. Jornal Antimicrob Chemother, v. 58, p. 198, 2006.

YAMAZAKI, T. *et al*. Pharmacokinetic Interactions Between Isavuconazole and the Drug Transporter Substrates Atorvastatin, Digoxin, Metformin, and Methotrexate in HealthySubjects. Clinical Pharmacology in Drug Development, v. 6, p. 66, 2017.

# CAPÍTULO 19

## ANÁLISE FUNCIONAL E ESTRUTURAL DO FLAGELO DE *Leishmania spp.*: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

*Palavras-chave: Parasitologia; Tripanossomatídeos; Flagelos*

WALESKA JACKOWSKI BILOUS[1]
AUGUSTO BOSHAMMER PIAZERA[1]
RAFAEL PELISSARO[2]

1. Discente do Curso de Medicina da Universidade Federal do Paraná.
2. Discente do Curso de Medicina da Universidade Católica de Pelotas.

## INTRODUÇÃO

Parasitas citenoplastídeos, incluindo *Trypanossoma brucei*, *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania* spp. figuram como um enorme fardo global na saúde e no desenvolvimento econômico (BENEKE *et al*., 2017). Nesses parasitas, o flagelo constitui um apêndice multifuncional essencial para sua viabilidade e sobrevivência (MUKHOPADHYAY & DEY, 2016). Sendo assim, o protozoário parasita *Leishmania* spp., especificamente, possui um único flagelo, que é remodelado durante o ciclo de vida do parasita: de um flagelo móvel longo nas formas promastigotas no flebotomíneo, ele passa a constituir um apêndice imóvel curto em amastigotas que residem em fagócitos de mamíferos (BENEKE *et al*., 2019).

O objetivo desse estudo foi, portanto, compilar e aprofundar os conhecimentos acerca do flagelo nos protozoários de gênero *Leishmania* spp. Sendo assim, à vista do papel crítico do flagelo na interação parasita-hospedeiro, na motilidade, morfogênese e divisão celular, será possível abrir caminhos para a descoberta de novos alvos quimioterápicos, além de uma possível ferramenta vacinal.

## MÉTODO

Idealizou-se uma pesquisa bibliográfica conduzida a partir de uma revisão de literatura, realizada nas principais bases de dados, como SciELO, PubMed e Google Acadêmico. Utilizou-se os descritores MeSH (*Medical Subject Headings*) e seus correspondentes DeCS (*Descritores em Ciências da Saúde):* "*leishmania*" e "*flagellum*", combinados através do operador booleano AND. Aplicou-se os filtros de busca para artigos publicados nos últimos cinco anos, nos idiomas inglês e português, sendo selecionados artigos originais ou de revisão. Produções que não atenderam tais critérios de seleção foram excluídas. Também foi realizada pesquisa por meio da "amostragem de bola de neve" a partir das principais referências e rastreio de citações dos artigos selecionados. Dessa maneira, foram selecionadas as 16 obras que compõem esta revisão.

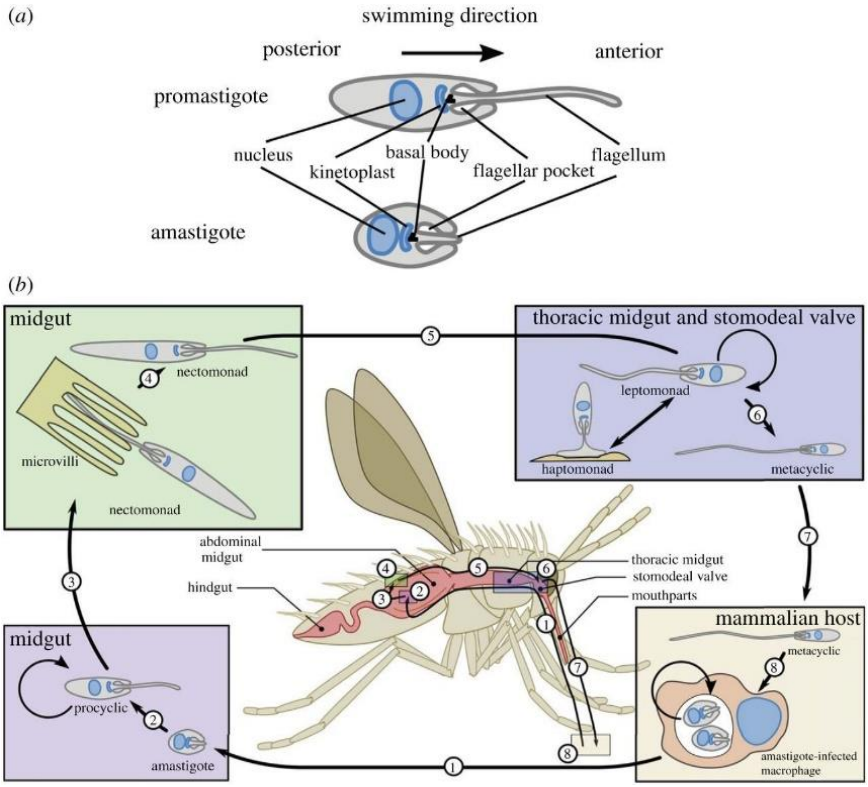
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### O ciclo de vida do parasita

O agente causal da Leishmaniose é um protozoário da família Trypanosomatidae, subordem Trypanosomatina e do gênero *Leishmania* (REITHINGER *et al*., 2007). Dois estágios de vida foram definidos para esse parasita: o promastigota, que ocorre no flebotomíneo, e o amastigota, no hospedeiro mamífero (SUNTER & GULL, 2017). O promastigota (flagelado) mede cerca de 12 a 20 µm e é encontrado nos artrópodes (dípteros), que representam o vetor que é infectado enquanto realiza o repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado. O promastigota permanece no intestino do díptero onde, entre quatro a 25 dias, apresenta um segundo estágio como amastigota (não flagelado) (TORRES-GUERRERO & ARENAS, 2018). Este, por sua vez, é um parasita intracelular obrigatório que mede de 2,5 a 3,5 µm e está localizado nas células fagocíticas do hospedeiro. A fêmea *Phlebotomus* infectada (hematófaga), ao picar o animal infectado, absorve as formas

amastigotas do sangue do reservatório (SUNTER & GULL, 2017). Como se pode verificar na Figura 19.1, no intestino do inseto o parasita começa um processo de transformação: os amastigotas mudam para promastigotas pró-cíclicos, que se tornam promastigotas nectomonas, escapando da matriz peritrófica e se fixando às microvilosidades no intestino médio antes de se moverem para o intestino médio torácico e a válvula estomodeal, onde se diferenciam em promastigotas leptomonadais. Aqui, os promastigotas leptomonádicos se diferenciam em promastigotas haptomonádicos, que se fixam na válvula estomodeal, ou promastigotas metacíclicos. Este último tem a capacidade infecciosa e, ao picar um animal saudável, é inoculado pelo vetor, que regurgita tais promastigotas (GLUENZ *et al*., 2010a).

**Figura 19.1.** Imagem do ciclo de vida da Leishmania




**Legenda:** Esquema das morfologias de promastigotas e amastigotas e do ciclo de vida da Leishmania. A: Morfologias promastigota e amastigota alinhadas ao longo do eixo anteroposterior; B: Desenho da atual compreensão do ciclo da vida da Leishmania. **Fonte:** SUNTER & GULL, 2017.

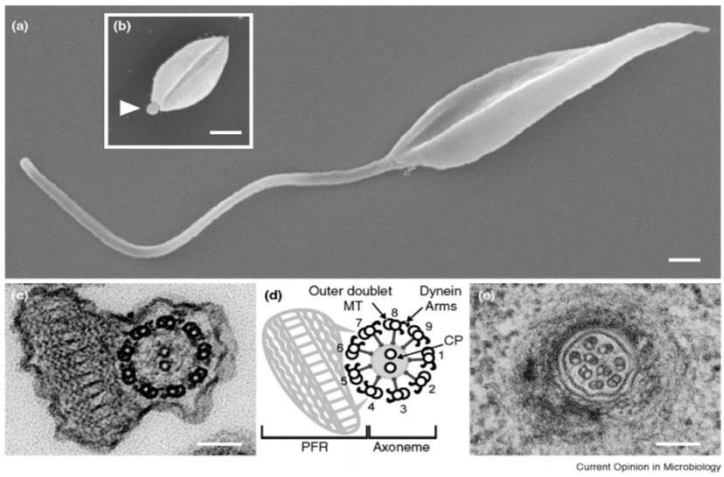
## O flagelo

Na arquitetura celular do parasita, anteriormente ao núcleo, está o cinetoplasto, massa de DNA mitocondrial concatenado que está diretamente ligado ao corpo basal, do qual se estende o flagelo (WHEELER *et al*., 2016). Na base do flagelo há uma invaginação da membrana celular formando uma estrutura semelhante a um vaso, chamada de bolsa flagelar, que é importante nesses parasitas pois é o único local de endocitose e exocitose e, portanto, uma interface crítica entre o parasita e seu ambiente hospedeiro (LACOMBLE *et al*., 2009). Assim, a fim de infectar as células

hospedeiras de mamíferos, um domínio diferenciado de membrana na ponta do flagelo colide com o macrófago, iniciando uma série de eventos de sinalização levando à captação e diferenciação bem-sucedida do parasita (VARGA *et al*, 2017). O movimento contínuo do flagelo dentro do macrófago resulta em dano à membrana plasmática e falta de integridade, o que promove exocitose lisossomal, podendo alterar a composição do vacúolo parasitóforo, aumentando assim as chances de infecção do parasita (FORESTIER *et al*., 2011). Dessa maneira, uma vez dentro da célula, o promastigota se diferencia no amastigota.

A diferença mais marcante entre essas duas formas, como observado na Figura 19.2, é a mudança de um flagelo móvel longo com um axonema 9 + 2, apresentando uma estrutura paraflagelar rudimentar, para um flagelo não-móvel curto com um arranjo de axonema 9 + 0, sem estrutura paraflagelar, respectivamente (WHEELER *et al*., 2015). Estudos que detalharam esse aspecto específico de diferenciação mostraram que essa mudança se dá ou por (i) desmontagem do flagelo longo existente e remoção do seu par central e, portanto, colapsando-o em um axonema curto de 9v, ou (ii) montagem de um novo flagelo curso em um par central e exibindo um axonema de 9v (WHEELER *et al*., 2015).

**Figura 19.2.** Imagem da estrutura do flagelo de Leishmania em promastigota e amastigota




**Legenda:** Micrografias eletrônicas mostram a diferença no comprimento do flagelo entre *L. mexicana* promastigota, em A, e amastigota axênica, em B, na qual apenas a ponta curta do flagelo do amastigota é exposta ao ambiente (ponta da seta). As diferenças entre a arquitetura do axonema no promastigota e no amastigota são claramente visíveis em micrografias eletrônicas de transmissão de secções transversais do flagelo (C e, respectivamente). As características estruturais proeminentes do flagelo promastigota em C incluem o axonema ´9 + 2´, com braços dineínicos internos e externos associados, e o paraflagellar rod (PRF) (mostrado em forma de desenho em D). Em contraste, o axonema do amastigota em E consiste em nove duplas de microtúbulos e não há PRF. **Fonte:** GLUENZ *et al*., 2010b.

Logo, visto que existem exemplos de organismos que são capazes de perder completamente seu flagelo durante seu ciclo de vida, a presença contínua de flagelos em amastigotas sugere que ele apresenta uma função importante para o parasita dentro do macrófago (WHEELER *et al*., 2015). A função mais comumente postulada para este flagelo é um papel sensorial, potencialmente sentindo a "saúde" do macrófago e avaliando a possibilidade de infecção (TORRES-GUERRERO *et al*., 2017). A função do flagelo do promastigota no flebotomíneo, por sua vez, é bem esclarecida e consiste na (i) motilidade para escapar da matriz peritrófica e migrar para o intestino anterior, (ii)

fixação às microvilosidades do intestino médio e válvula estomodeal e (iii) funções sensoriais (SUNTER & GULL, 2017). Em relação à sua função de motilidade, o flagelo de tripanossomatídeos como a *Leishmania* é incomum, pois gera ondas flagelares que se propagam proximamente da ponta (ponta à base) que puxa a célula para frente. Estas ondas são interrompidas por ondas abruptas de propagação distal "semelhante a cílios" (base à ponta), permitindo que a célula mude de direção em resposta a um obstáculo (MUKHOPADHYAY & DEY, 2016).

### Regulação da expressão gênica

Em muitos sistemas eucarióticos, a expressão dos genes necessários para a montagem de cílios e flagelos é regulada em um nível transcricional. No entanto, em tripanossomatídeos, a expressão gênica é predominantemente regulada em nível pós-transcricional: todo o genoma é transcrito constitutivamente com processamento, estabilidade e eficiência da tradução de RNA mensageiro (RNAm), ditando a abundância do estado estável de RNAm e a expressão de proteínas (GLUENZ *et al*., 2010b). Dessa forma, tendo em vista que a montagem do flagelo de *Leishmania* requer uma quantidade significativa de genes (estudos proteômicos em *T. brucei* identificaram centenas de proteínas de flagelo), pode-se afirmar que diversos mecanismos contribuem para a expressão das proteínas de flagelo (PORTMAN *et al*., 2009; BROADHEAD *et al*., 2006).

## CONCLUSÃO

As dramáticas remodelações da forma celular durante as transições do ciclo de vida tornam o *Leishmania* um organismo interessante para se estudar os mecanismos que regulam o comprimento do flagelo, determinam a estrutura do axonema, controlam a elaboração das estruturas extra-axonemais e a diversidade funcional dos flagelos. Além disso, a *Leishmania* tem sido um modelo excelente para estudos de interação parasita-hospedeiro. Muita coisa permanece desconhecida acerca do real papel do flagelo a nível celular, mas descobertas recentes sugerem que ele apresenta funções muito importantes na relação parasita-hospedeiro e na própria biologia do protozoário. Logo, embora os flagelos tenham sido extensivamente estudados como organelas de motilidade, com foco em estruturas internas como o axonema, pesquisas mais recentes iluminaram o papel flagelar em uma variedade de processos biológicos.

Dessa maneira, protistas parasitas da ordem Kinetoplastida fornecem um paradigma para investigar o papel dos flagelos nas interações hospedeiro-micróbio e ilustram que essa interface entre flagelo e hospedeiro é fundamental. Sendo assim, é possível perceber, dentro desse cenário, que a parasitologia molecular está mudando de uma descrição de livro de parasitologia do século XX para uma compreensão mais moderna da biologia celular do século XXI acerca dos mecanismos celulares que permitem ao parasito sobreviver e prosperar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


BENEKE, T. *et al*. A CRISPR Cas9 high-throughput genome editing toolkit for kinetoplastids. The Royal Society, v. 4, p. 1, 2017.

BENEKE, T. *et al*. Genetic dissection of a Leishmania flagellar proteome demonstrates requirement for directional motility in sand fly infections. PLoS Pathogens, v. 15 p. 1, 2019.

BROADHEAD, R. *et al*. Flagellar motility is required for the viability of the bloodstream trypanosome. Naturev. 440, p. 224, 2006.

FORESTIER, C. *et al*. Imaging host cell-Leishmania interaction dynamics implicates parasite motility, lysosome recruitment, and host cell wounding in the infection process. Cell Host & Microbe, v. 9, p. 319, 2011.

GLUENZ, E. *et al*. Beyond 9+0: noncanonical axoneme structures characterize sensory cilia from protists to humans. The FASEB Journal, v. 24, p. 3117, 2010a.

GLUENZ, E. *et al*. Flagellum assembly and function during the Leishmania life cycle. Immunology Network, v. 13, p. 473, 2010b.

LACOMBLE, S. *et al*. Three-dimensional cellular architecture of the flagellar pocket and associated cytoskeleton in trypanosomes revealed by electron microscope tomography. Journal of Cell Science, v. 122, p. 1081, 2009.

MUKHOPADHYAY, A.G. & DEY, C.S. Reactivation of flagellar motility in demembranated *Leishmania* reveals role of cAMP in flagellar wave reversal to ciliary waveform. Scientific Reports, v. 6, p. 1, 2016.

PORTMAN, N. *et al*. Combining RNA interference mutants and comparative proteomics to identify protein components and dependences in a eukaryotic flagellum. Journal of Biological Chemistry, v. 284, p. 5610, 2009.

REITHINGER, R. *et al*. Cutaneous leishmaniasis. The Lancet Infectious Diseases, v. 7, n. 9, p. 581, 2007.

SUNTER, J. & GULL, K. Shape, form, function and Leishmania pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. Open Biology, v. 7, p. 1, 2017.

TORRES-GUERRERO, E. & ARENAS, R. Leishmaniasis. Current therapeutic alternatives. Dermatología Revista mexicana, v. 62, p. 400, 2018.

TORRES-GUERRERO, E. *et al*. Leishmaniasis: a review. F1000Research, v. 6, p. 750, 2017.

VARGA, V. *et al*. Protein diversity in discrete structures at the distal tip of the trypanosome flagellum. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 114, p. 6546, /2017.

WHEELER, R.J. *et al*. Basal body multipotency and axonemal remodelling are two pathways to a 9+0 flagellum. Nature Communications, v. 15, p. 8964, 2015.

WHEELER, R.J. *et al*. Flagellar pocket restructuring through the Leishmania life cycle involves a discrete flagellum attachment zone. Journal of Cell Science, v. 129, p. 854, 2016.

# CAPÍTULO 20

## CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Eplingiella fruticosa* HARLEY & PASTORE (LAMIACEAE) PERTENCENTE À FLORA SERGIPANA

*Palavras-chave: Eplingiella fruticosa; Fracionamento; Isolamento*

LETÍCIA DE OLIVEIRA CARVALHO[1]
RAQUEL DANTAS SOUZA[1]
BRENDA MAYARA SANTOS MAYRINK[1]
ARYANE ALVES DA COSTA SILVA[1]
MARCELO SOBRAL DA SILVA[2]
VICENTE CARLOS DE OLIVEIRA COSTA[2]
JOSEAN FECHINE TAVARES[2]
MARCIO ROBERTO VIANA DOS SANTOS[3]
ADRIANO ANTUNES DE SOUZA ARAÚJO[4]
MARCELO CAVALCANTE DUARTE[4]

1. Discente do Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE.
2. Docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB.
3. Docente do Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE.
4. Docente do Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão-SE.

## INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais pelo ser humano para o tratamento de doenças remete ao período pré-histórico. O homem pré-histórico foi capaz de perceber o valor curativo, assim como o tóxico, das plantas através da observação do comportamento dos animais (ALVES & SILVA, 2003). Desde então, a utilização das plantas medicinais acompanha o desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental. O desenvolvimento da Medicina Tradicional Chinesa contribuiu amplamente na compreensão das propriedades terapêuticas das plantas, assim como, nos mecanismos de seus princípios ativos (VIEGAS JR *et al.*, 2006). Ao redor do mundo, a medicina tradicional continua sendo de grande importância. Segundo a OMS, em países em desenvolvimento, esta consiste em uma forma de tratamento acessível para a maior parte da população (AGRA *et al.,* 2008).

No Brasil, a utilização de ervas medicinais é um costume amplamente utilizado principalmente pelas comunidades rurais. Tal costume é uma herança traçada pela história do país, onde o conhecimento tradicional indígena de utilização de plantas para fins medicinais, estéticos e religiosos foi mesclado às tradições trazidas pelos colonizadores europeus e população africana. Esse conhecimento é de valiosa importância para as mais diversas pesquisas na área de produtos naturais, sendo o ponto de partida para a descoberta das atividades biológicas dos compostos presentes nas plantas, assim como, para o isolamento e elucidação estrutural de tais compostos (PIO, *et al.,* 2019; VIEGAS JR *et al.*, 2006).

A subárea da química orgânica que se dedica ao estudo de substâncias provenientes de plantas, microorganismos e animais marinhos é chamada de química de produtos naturais. Historicamente, um marco importante na busca pela utilização de produtos naturais na sua forma pura foi o isolamento da morfina, constituinte majoritário do ópio, em 1804, por Armand Séquin, na França. Sendo seguido em 1820, por Pelletier e Caventou, que isolaram a quinina, composto antimalárico, a partir de espécies de *Cinchona.* A partir de então diversos compostos de importância farmacológica foram isolados de plantas. Entretanto, as substâncias naturais também podem ser utilizadas no processo de desenvolvimento de fármacos sintéticos. O principal marco foi a síntese do ácido acetilsalicílico a partir do ácido salicílico extraído da espécie *Salix alba* (VIEGAS JR *et al.*, 2006).

É conhecido que as comunidades pertencentes ao nordeste brasileiro, possuem uma vasta utilização de produtos naturais. Em estudo realizado por Agra *et al.,* na região Nordeste, foram encontradas 650 espécies, 407 gêneros e 111 famílias conhecidas pelos seus usos medicinais. Entretanto, a maior parte dessas espécies nunca foram estudadas, demonstrando uma vasta fonte de novas moléculas bioativas a serem descobertas (AGRA *et al.,* 2008). Uma das espécies catalogadas no estudo supracitado é a *Eplingiella fruticosa* (HARLEY & PASTORE), pertencente à família Lamiaceae. Sendo conhecida no estado de Sergipe como alecrim do campo ou alecrim de vaqueiro, possui um uso popular bastante vasto, sendo a infusão de suas folhas utilizadas pelas atividades analgésica, anti-inflamatória e anticonvulsivante (FRANCO *et al.*, 2011). Entretanto, estudos relacionados a composição química desta espécie são escassos.

Diante do exposto, o estudo tem como o objetivo a elucidação da composição química das folhas de *Eplingiella fruticosa* pertencente à flora sergipana, de forma a contribuir na classificação quimiotaxonômica da mesma e na descoberta de novas moléculas bioativas.

# MÉTODO

## Estudo Fitoquímico

### I. Material

Folhas de *Eplingiella fruticosa* foram coletadas em 25/09/2017 no povoado Feijão, município de São Cristóvão, Sergipe (lat: -11.014722 long: -37.206389 WGS84 Altitude: 47m). A espécie foi identificada pela Profa. Dra. Marla Ibrahim Uehbe de Oliveira, botânica do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe (DBI-UFS). Uma amostra voucher foi depositada no Herbário do DBI-UFS sob o número de registro ASE 39138. A espécie foi cadastrada no SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado), sob o número de cadastro A7E0EEF.

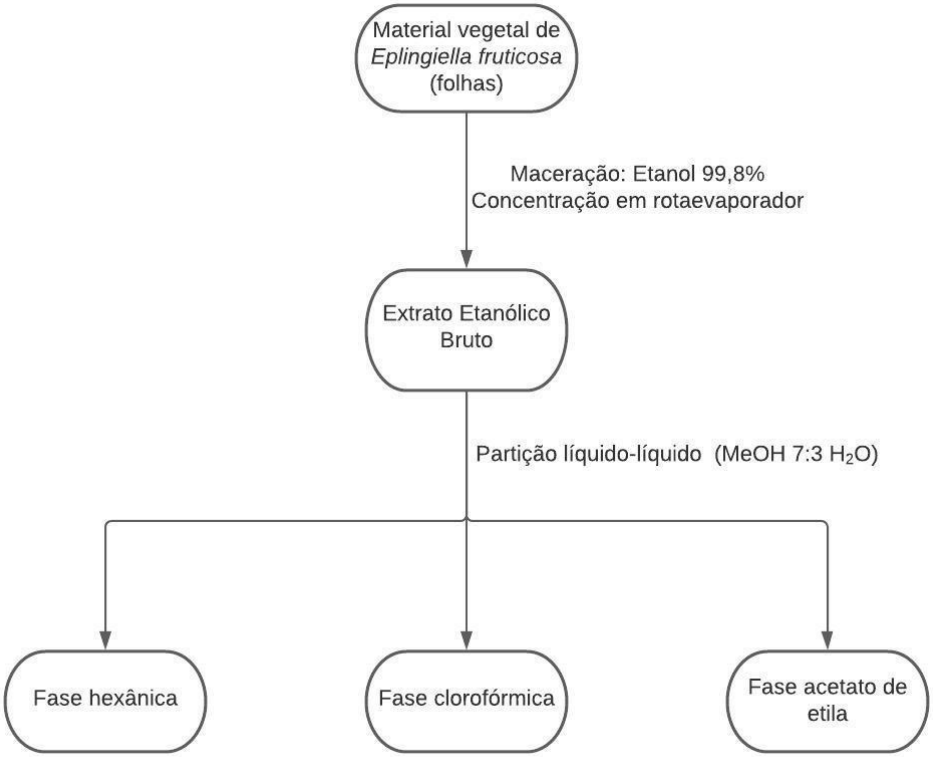
### II. Preparação do extrato

As folhas foram secas à temperatura ambiente e trituradas em um moinho mecânico de facas tipo Willey, obtendo-se o pó seco (1,8 kg), o qual foi sujeito à extração por maceração com etanol 99,8% (7 litros) por um período de 72h, repetindo-se o ciclo 5 vezes. A solução extrativa obtida foi filtrada e concentrada em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a uma temperatura média de 40 °C, obtendo-se o extrato bruto.

### III. Fracionamento do extrato etanólico bruto das folhas de *Eplingiella fruticosa*

O extrato etanólico bruto foi suspenso em uma solução de Metanol/Água (7:3, v/v) e homogeneizado sob agitação mecânica à solubilização. A respectiva solução hidroetanólica foi submetida a uma partição líquido/líquido, em um funil de separação, sob agitação mecânica, utilizando solventes de polaridades crescentes, hexano, clorofórmio e acetato de etila, respectivamente, obtendo-se as fases: hexânica, clorofórmica e acetato de etila (Figura 20.1. Fluoxograma referente à obtenção do extrato etanólico bruto e seu fracionamento, logo abaixo deste parágrafo). As soluções obtidas nos processos de partição foram tratadas com sulfato de sódio anidro ($Na_2SO_4$) e filtradas. Após esse processo, os solventes foram concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40 ºC.

**Figura 20.1.** Fluxograma referente à obtenção do extrato etanólico bruto e seu fracionamento




## IV. Fracionamento em coluna cromatográfica de sílica-gel

As fases clorofórmica e acetato de etila foram submetidas à Cromatografia em Coluna. Para isso utilizou-se como fase estacionária sílica gel (ART 7734 da MERCK de partículas com dimensões entre 0,063 – 0,200 mm e 70 – 230 mesh). As amostras foram acondicionadas sobre o topo da coluna, procedendo-se então a eluição com os solventes comerciais hexano, AcoEt e MeOH puros ou em misturas binárias obtendo-se 77 frações da fase clorofórmica (Tabela 20.1) e 72 da fase acetato de etila (Tabela 2), elas foram analisadas em cromatografia de camada delgada analítica (CCDA) e reunidas de acordo com os seus respectivos fatores de retenção (R.f).

**Tabela 20.1.** Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária de Hexano/AcoEt

| Hexano/ AcoEt | Frações | Hexano/ AcoEt | Frações |
|---|---|---|---|
| **100% / 0%** | 1 - 2 | **70% / 30%** | 37 - 41 |
| **99% / 1%** | 3 - 5 | **65% / 35%** | 42 - 46 |
| **97% / 3%** | 6 - 10 | **50% / 50%** | 50 - 52 |
| **95% / 5%** | 11 - 15 | **40% / 60%** | 53 - 56 |
| **90% / 10%** | 16 - 22 | **30% / 70%** | 57 - 60 |
| **85% / 15%** | 23 - 29 | **20% / 80%** | 61 - 65 |
| **80% / 20%** | 30 - 31 | **10% / 90%** | 66 - 68 |
| **75% / 25%** | 32 - 36 | **0% / 100%** | 69 - 71 |

**Tabela 20.2.** Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária AcoEt/MeOH

| AcoEt / MeOH | Frações |
|---|---|
| 100% / 0% | 69 - 71 |
| 90% / 10% | 72 - 74 |
| 80% / 20% | 75 - 77 |

**Tabela 20.3.** Frações da fase acetato de etila obtidas pela mistura binária de Hexano/AcoEt

| Hexano / AcoEt | Frações | Hexano / AcoEt | Frações |
|---|---|---|---|
| 100% / 0% | 1 - 2 | 60% / 40% | 33 - 35 |
| 97% / 3% | 3 - 5 | 55% / 45% | 36 - 39 |
| 95% / 5% | 6 - 9 | 50% / 50% | 40 - 42 |
| 90% / 10% | 10 - 14 | 40% / 60% | 43 - 46 |
| 85% / 15% | 15 - 17 | 30% / 70% | 47 - 49 |
| 80% / 20% | 18 - 21 | 20% / 80% | 50 - 52 |
| 75% / 25% | 22 - 24 | 10% / 90% | 53 - 55 |
| 70% / 30% | 25 - 28 | 0% / 100% | 56 - 58 |
| 65% / 35% | 39 - 32 | | |

**Tabela 20.4.** Frações da fase acetato de etila obtidas pela mistura binária AcoEt/MeOH

| AcoEt / MeOH | Frações |
|---|---|
| 100% / 0% | 56 - 58 |
| 90% / 10% | 59 - 62 |
| 80% / 20% | 63 - 67 |
| 75% / 25% | 68 - 72 |

## Métodos Espectroscópicos

## Métodos Cromatográficos

A CCDA foi empregada para análise e purificação das frações obtidas por CC. Para isto, foram usadas placas de vidro (10,0 x 20,0 cm e 20,0 x 20,0 cm) preparadas com uma suspensão de sílica gel $PF_{254}$ (ART 7749 da MERCK) em água destilada (1:2 m/v) distribuída sobre a placa de vidro com ajuda de um espalhador mecânico tipo *quick fit*, seguindo técnica descrita por Matos (1997). As cromatoplacas obtidas foram secas ao ar livre e ativadas em estufa 100,0 °C durante duas horas.

A revelação das substâncias em CCDA foi executada pela exposição das placas cromatográficas à lâmpada de radiação ultravioleta (UV) sob dois comprimentos de onda, 254 e 365 nm, em aparelho MINERALIGHT (modelo UVGL-58).

Por CCDA, as frações eram reunidas a partir da observação de fatores de retenção ($R_f$) semelhantes. O grau de pureza foi determinado quando observada apenas uma mancha após a revelação da cromatoplaca.

### Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetros VARIAN modelo System operando a 500 MHz para hidrogênio ($^1H$). O solvente utilizado para dissolver as amostras foi clorofórmio deuterado ($CDCl_3$). Os descolamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos sinais em RMN $^1H$ foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (dupleto), dd (duplodupleto) e m (multipleto).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da fração 5 da fase acetato de etila, (Figura 20.2. Espectro de RMN -$^1H$ da fração 5 da fase acetato de etila em $CDCl_3$, logo abaixo do último parágrafo) foi possível observar sinais característicos de esqueleto da classe dos flavonoides que se confirma com a expansão (Figura 20.3. Expansão do espectro de RMN -$^1H$ da fração 5 da fase acetato de etila em $CDCl_3$ na região de 7,4 a 7,7 ppm e estrutura química básica dos flavonóides, logo abaixo da Figura 20.2) na região, 7,4 a 7,7 ppm. Já no espectro de RMN-$^1H$ das frações 34-35 da fase clorofórmica (Figura 20.4. Espectro de RMN – $^1H$ das frações 34-35 da fase clorofórmica em $CDCl_3$, logo abaixo da Figura 20.3) foi possível observar sinais característicos de esqueleto triterpênico que se confirma com um envelope de sinais de expansão em 0,5 a 1,45 ppm (Figura 20.5. Expansão do espectro de RMN -1H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl3 na região de 0,5 a 1,45 ppm e estrutura química básica dos triterpenos, logo abaixo da Figura 20.4).

As classes de compostos encontradas nesse estudo estão de acordo com o descrito na literatura para a mesma espécie. Onde, além de flavonoides em geral e triterpenos, são descritos fenóis em geral, flavonas, flavononois, taninos, saponinas, esteroides e xantonas (LIMA *et al.*, 2012). Assim como, a detecção de flavonoide na fase AcoEt é justificada devido à presença de quantidades significativas de compostos de caráter polar, tais como: flavonas, flavononois, fenois, saponinas e xantonas na respectiva fase (ANDRADE *et al.*, 2010).

A detecção de triterpeno na fase clorofórmica está em consonância com a presença bem descrita de terpenoides na espécie. Os dois compostos já isolados a partir do extrato metanólico das raízes de *E. fruticosa* são, ambos, terpenoides: um diterpeno quinona, 14-Metoxitaxodiona (MARLETTI *et al.*, 1976) e um outro diterpeno denominado "Hyptol" (DELLE-MONACHE *et al.*, 1977).

**Figura 20.2.** Espectro de RMN -$^{1}$H da fração 5 da fase acetato de etila em $CDCl_3$

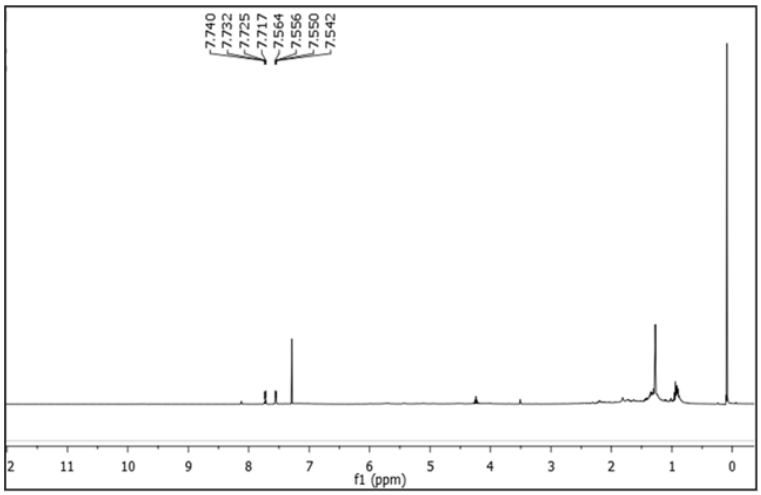



**Figura 20.3.** Expansão do espectro de RMN -$^{1}$H da fração 5 da fase acetato de etila em $CDCl_3$ na região de 7,4 a 7,7 ppm e estrutura química básica dos flavonoides

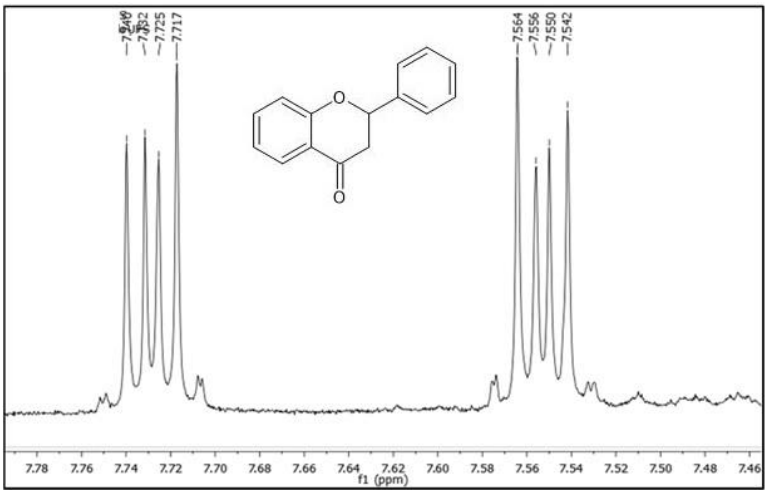



**Figura 20.4.** Espectro de RMN – $^{1}$H das frações 34-35 da fase clorofórmica em $CDCl_3$

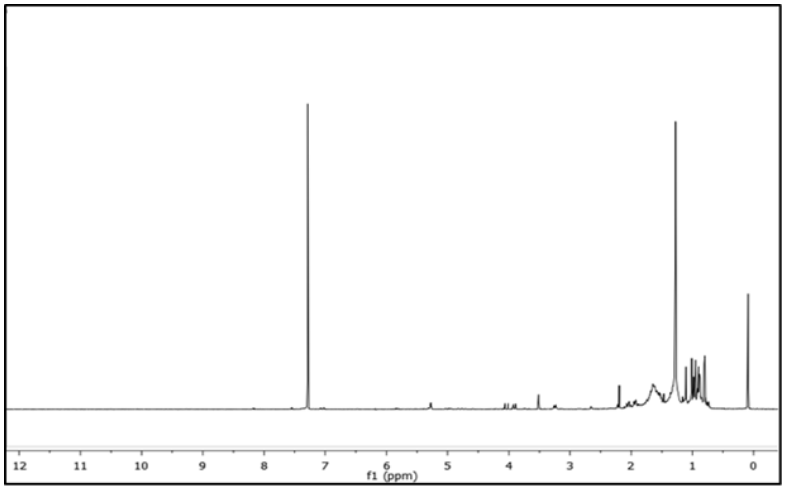
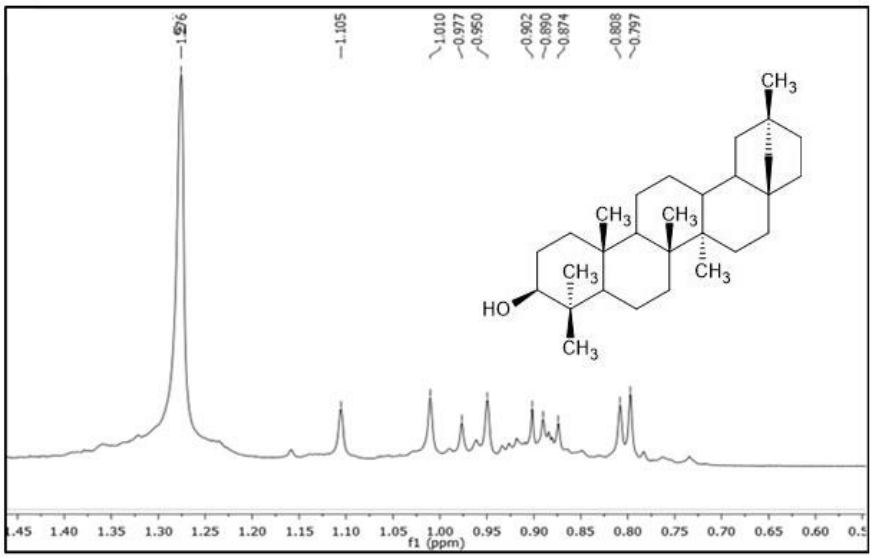


**Figura 20.5.** Expansão do espectro de RMN -1H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl3 na região de 0,5 a 1,45 ppm e estrutura química básica dos triterpenos




## CONCLUSÃO

A partir da análise em Cromatografia em Camada Delgada Analítica das frações obtidas por Cromatografia em Coluna das fases clorofórmica e acetato de etila, pôde-se observar a partir do R.f. obtidos, um maior nível de pureza nas frações 34-35 da fase clorofórmica e fração 5 da fase acetato de etila. Ao analisar os espectros de RMN - $^{1}H$ das mesmas, detectou-se na fração 5 da fase AcoEt a presença de composto da classe dos flavonoides, já nas frações 34-35 da fase $CHCl_3$ evidenciou-se a presença de moléculas do grupo dos triterpenos.

A presença dessas duas classes de compostos na espécie estudada promove um direcionamento para futuros estudos farmacológicos *in vivo* ou *in vitro* utilizando o extrato etanólico bruto, fases, frações e compostos isolados. Além disso, fica-se a perspectiva para o prosseguimento do trabalho de isolamento e identificação dos constituintes químicos presentes na espécie, de forma a contribuir para a sua classificação quimiotaxonômica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


AGRA, M.F. *et al*. Survey of medicinal plants used in the region northeast of brazil. Revista Brasileira De Farmacognosia, v. 18, p. 478, 2008.

ALVES, A.R. & SILVA, M.J.P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. Revista Escola De Enfermagem Da USP, v. 37, p. 85, 2003.

ANDRADE, A.M. *et al*. Preliminary study on the anti-inflammatory and antioxidant activities of the leave extract of Hyptis fruticosa Salzm. ex Benth., Lamiaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, p. 962, 2010.

DELLE-MONACHE, F. *et al*. Diterpenoids of Hyptis fructicosa (Labiatae). II. Gazzetta Chimica Italiana, v. 107, p. 319, 1977.

FRANCO, C.R.P. *et al*. Bioassay-guided evaluation of antinociceptive properties and chemical variability of the essential oil of hyptis fruticosa. Phytotherapy Research, v. 25, p. 1693, 2011.

LIMA, A.C.B. *et al*. Orofacial antinociceptive effect and antioxidant properties of the hydroethanol extractof hyptis fruticosa salmz ex benth. Journal Of Ethnopharmacology, v. 146, p. 192, 2012.

MARLETTI, F. *et al*. Diterpenoid quinones of Hyptis fructicosa (Labiatae). Gazzetta Chimica Italiana, v. 106, p. 119, 1976.

MATOS, F.J.A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141 p.

PIO, I.D.S.L. *et al*. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the são francisco river, brazil and preliminary analysis of rhaphiodon echinus (lamiaceae). Brazilian Journal Of Biology, v. 79, p. 87, 2019.

VIEGAS JR, C. *et al*. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. Química Nova, v. 29, p. 326, 2006.

# CAPÍTULO 21

# β-CICLODEXTRINA COMO AGENTE BIOTECNOLÓGICO FARMACÊUTICO

*Palavras-chave: Inovação; Biotecnologia; Ciclodextrina*

**GABRIELA DANTAS CARVALHO[1]**
**REBECA MUÁLEM DE MORAES SANTOS[2]**
**GUILHERME BARROSO LANGONI DE FREITAS[3]**

1. Docente do Curso de Fisioterapia, Centro Universitário UNIFACID, Teresina, Piauí.
2. Discente do Curso de Medicina, Instituto de Educação Superior do Vale do Paraíba, Parnaíba, Piauí.
3. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí.

## INTRODUÇÃO

Durante a segunda metade do século XX, a ciência e a prática farmacêutica foram amplamente moldadas pelos avanços da química e da biologia, que levaram à descoberta de novas tecnologias para o desenvolvimento de medicamentos inovadores, seguros e eficazes (SEPODES, 2019). No início do século XXI, foi descoberto um grande número de novos medicamentos como os agentes que atuam seletivamente em tecidos ou locais individuais dentro das células, obtendo assim, relevantes benefícios na segurança e eficácia (GUIDO *et al.*, 2010).

Estes avanços se deram graças às implantações da engenharia genética e das tecnologias relacionadas que promoveram o desenvolvimento de uma gama de medicamentos biotecnologicamente modernos, denominados biofarmacêuticos ou medicamentos baseados em biotecnologia. Os produtos baseados em biotecnologia são vistos como inovadores quando contêm novas porções ativas e se oferecem opções de tratamento adicionais aos pacientes (AGHMIUNI *et al.*, 2019).

Segundo Guido *et al.* (2010) na aplicação das estratégias de planejamento de fármacos, os estudos dos processos evolutivos de reconhecimento molecular em sistemas biológicos assumem grande importância, pois constituem as bases fundamentais para o entendimento de propriedades como potência, afinidade e seletividade. Diante desse complexo paradigma, as ferramentas biotecnológicas associadas aos métodos de química medicinal ganham papel destacado no desenvolvimento e aprimoramento das propriedades de moléculas bioativas (SEPODES, 2019).

Uma das estratégias utilizadas é a utilização de estabilizadores, como as ciclodextrinas (CDs). Elas são compostos cíclicos não tóxicos, frequentemente usados em indústrias de alimentos e, particularmente, no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, devido suas propriedades complexantes, as quais promovem incremento na solubilidade de fármacos poucos solúveis (LYRA *et al.*, 2010).

Conforme citado acima, as CDs têm sido amplamente utilizadas no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, uma vez que promove o melhoramento da farmacocinética de princípios ativos e conduz a respostas mais eficazes. Devido à importância das CDs, o objetivo deste estudo é descrever o desenvolvimento e aplicação das CDs no desenvolvimento de novos medicamentos.

## MÉTODO

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, exploratória, descritiva, de caráter qualitativo. Este estudo utilizou artigos originais publicados em periódicos indexados nas bases de dados *on-line*: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), PubMed e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO). Foram utilizados como descritores de busca: “biotecnologia”, “ciclodextrina”, “bioprodutos” e “toxicidade”, de forma individual ou combinada, associadas ao afixo – *and*, escritos em inglês e português.

A seleção dos estudos foi realizada com base na leitura dos textos para averiguação de adequação com a temática. Contemplaram como critérios de inclusão: artigos originais, relatos de experiências ou estudos de casos que abordassem a caracterização das CDs, seus subtipos, a

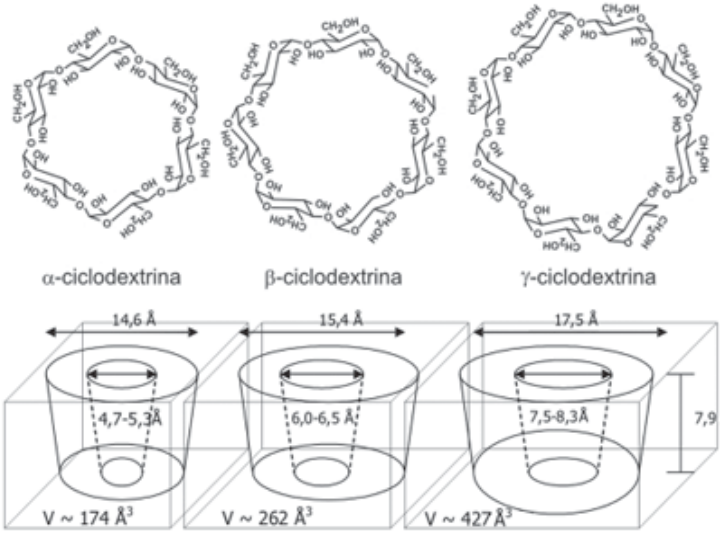
toxicidade dos mesmos, assim como o processo de inclusão ocasionado pela sua aplicabilidade da efetividade de novos bioprodutos, sendo exclusos trabalhos que cuja temática não se enquadrasse a proposta, bem como boletins informativos, cartas, dissertações, tese e resumos de congressos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As CDs são oligossacarídeos cíclicos solúveis em água com um núcleo lipofílico, obtidas a partir de fontes renováveis, como o amido. Seus subtipos naturais mais importantes são a *alfa* ($\alpha$-CD), *beta* ($\beta$-CD) e *gama* ($\gamma$-CD) CDs, compostos de seis, sete e oito unidades de D-(+)-glicopiranose, respectivamente, unidos por ligações $\alpha$-1,4 (Figura 21.1). Estes compostos possuem em sua estrutura grupos hidroxila (-OH) primários e secundários com um exterior hidrofílico e uma cavidade interna hidrofóbica. Isto permite que as CDs se complexem com moléculas que apresentem dimensões compatíveis, aumentando suas hidrossolubilidades, estabilidade e biodisponibilidade (VENTURINI *et al*., 2008).

Para a aplicabilidade das CDs na produção de novos bioprodutos, deve-se considerar, dentre os desafios apresentados, os fatores físico-químicos envolvidos na estruturação química dos medicamentos, tais como temperatura, solubilidade e peso molecular, bem como a individualidade biológica de cada paciente, que quando incompatíveis, dificultam e/ou limitam a interação farmacocinética e farmacodinâmica dos mesmos (LYRA *et al*., 2010).

**Figura 21.1.** Caracterização estrutural da $\alpha$-CD, $\beta$-CD e $\gamma$-CD, respectivamente




**Fonte:** Adaptado de VENTURINI *et al*., 2008.

Para que o fármaco se ligue ao seu sítio de ação e consiga ativá-lo, desencadeando seu efeito sobre o organismo, este precisa ser administrado, absorvido, biodisponibilizado e distribuído. Estudos mostram que a grande parcela dos medicamentos utilizados no controle ou tratamento de diversas patologias são administrados, prioritariamente, pela via oral, o que dificulta sua atividade, uma vez que esta via é lenta e passa por barreiras celulares, podendo ainda o fármaco não ser

carreado dada a sua lipossolubilidade, ou ainda inativado pela inibição gástrica ou ainda pelo metabolismo hepático, denominado de metabolismo de primeira passagem (ABDELHALIM *et al.*, 2019).

Dentre as classes de bioprodutos amplamente empregado na terapêutica de diversas patologias são os terpenos. Segundo Silva *et al.*, (2017) a baixa lipossolubilidade de medicamentos como terpenos tem levado empresas farmacêuticas e grupos de pesquisa a buscar alternativas viáveis para melhorar sua solubilidade, taxas de dissolução e biodisponibilidade. Assim, novos sistemas terapêuticos surgiram da necessidade de minimizar os problemas que se prendem com a administração das formas farmacêuticas tradicionais, com a finalidade de modelar a cinética de liberação, melhorar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou vetorizá-lo para uma determinada população celular. Uma das opções de carreadores amplamente empregada são as CDs.

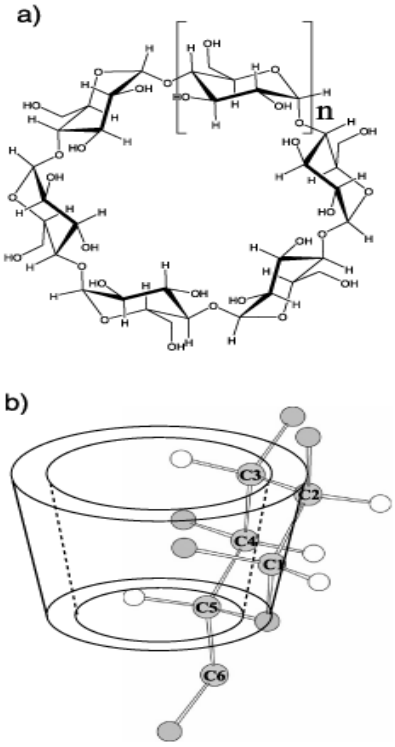
Aproximadamente há 117 anos, foram descobertas as primeiras CDs por Villiers (1891), por meio do isolamento de um grupo de oligossacarídeos não redutores a partir da ação do *Bacillus macerans* num meio rico em amilose (VENTURINI *et al.*, 2008), sendo sua estrutura, posteriormente, elucidada por Schardiger, mostrando que eram oligossacarídeos cíclicos contendo 6 a 12 unidades de glicose ligadas entre si por ligações a-1,4 (VILLIERS, 1891).

A estrutura química, propriedades físico-químicas e habilidades em formar complexos de inclusão foram confirmadas em 1953 por Freudenberg, Cramer e Plieninger, os quais obtiveram a primeira patente de uma formulação contendo CD. Os autores descrevem os principais benefícios da utilização de CDs como carreadores de fármacos, dentre os quais podemos destacar o aumento da solubilidade aquosa do composto complexado efeito protetor à oxidação e redução ou perda da volatilidade (LYRA *et al.*, 2010).

As CDs também conhecidas como cicloamiloses, cicloglucanos ou dextrinas de Schardinger, são oligossacáridos cíclicos, isto é, sintetizados a partir da união de monômeros de glicose (glicopiranose) e formam uma família de cadeia fechada, oligossacarídeos. Eles são constituídos por número variável de unidades de glicose, que se obtêm por ação da enzima ciclodextrina-*α*-glicosil-transferase (CGTase), sobre o amido. Possuem capacidade de formar complexo de inclusão com uma variedade de moléculas orgânicas, inorgânicas, biológicas e farmacêuticas. Esses complexos podem vincular fármacos hidrofóbicos dentro de sua cavidade lipofílica e, assim, reduzir sua volatilidade e toxicidade, aumentar a estabilidade e a solubilidade em água, controlar a biodisponibilidade e mascarar características organolépticas, modificação no odor e sabor, até a redução na taxa de hemólise dos fármacos (VILLIERS, 1891).

A capacidade de inclusão das substâncias biologicamente ativas é dada em razão da sua estrutura, nos quais todos os grupos hidróxidos secundários estão voltados para a cavidade, enquanto que os grupos hidróxidos primários estão situados no lado externo, sendo estes mais estreitos, o que permite que a CD obtenha uma forma cilíndrica cônica. Os pares de elétrons não ligantes do oxigênio, ligado ao carbono anomérico, estão direcionados para dentro da cavidade produzindo uma alta densidade eletrônica e dando características de base de Lewis à cavidade (STAPPAERTS *et al.*, 2017) (Figura 21.2**).**

**Figura 21.2.** Representação da estrutura das ciclodextrinas, com seus respectivos grupos hidróxidos primários e secundários




**Fonte:** Adaptado de STAPPAERTS *et al.,* 2017.

A presença da estrutura espacial cônica e a orientação dos grupos hidroxílicos para o exterior atribuem as CDs propriedades físico-químicas únicas, sendo capazes de solubilizar-se em meio aquoso e ao mesmo tempo encapsular no interior da sua cavidade moléculas hidrofóbicas. Essas características conferem as CDs uma consolidação em sistemas farmacêuticos, melhorando a biodisponibilidade, estabilidade e segurança através da formação de complexos de inclusão reversíveis em água (ANNIBALDI *et al.*, 2019).

Apesar de todos os benefícios descritos, devido ao baixo grau de pureza e elevados custos de produção, as CDs eram produzidas em quantidades muito pequenas até 1970, inviabilizando sua aplicação industrial (SALTÃO & VEIGA, 2001). Avanços biotecnológicos na descoberta da sequência e clonagem da maioria dos genes das CGTase ocorridos após esta data, disponibilizaram essas enzimas a reduzido custo, promovendo um dramático aumento na produção das CDs com maior rendimento naturais ($\alpha$-CD, $\beta$-CD e $\gamma$-CD), conhecidas como naturais, que contribuem para a produção de CDs em larga escala e alta pureza (LOFTSSON & MESSON, 2001).

A obtenção das CDs naturais segue o método com etapas eficientes: Cultivo do microrganismo produtor da CGTase; separação e purificação da enzima; degradação enzimática do amido em mistura de dextrinas; separação, purificação e cristalização das CDs (SALTÃO &VEIGA, 2001).

Foram os japoneses os primeiros a utilizarem as CDs, na adição em gomas de mascar, bebidas e doces, causando uma liberação gradual do aroma (ANDREAUS *et al.*, 2010). Atualmente,

as CDs podem ser encontradas em mais de 35 medicamentos disponíveis comercialmente, incluindo comprimidos, soluções parenterais, colírios, pomadas e supositórios, produzidos por métodos robustos e de baixo custo (LOFTSSON & BREWSTER, 2012).

As CDs apresentam cavidade hidrofóbica de dimensões médias (1,5 nm x 0,7 nm x 0,8 nm) e superfície hidrofílica, devido à presença de grupos hidroxila. Esta estrutura permite a formação de complexos de inclusão estáveis, com grande diversidade de substâncias orgânicas, sais e halogênios, além de formar complexos com substâncias de massa molecular típica de 80 a 250 Daltons (ANNIBALDI *et al.*, 2019).

O número de unidades de glicose determina a dimensão e o tamanho da cavidade, logo, segundo os seus respectivos tamanhos, as moléculas complexadas são encapsuladas de maneira total ou parcial, cabendo a CD o papel de molécula "hospedeira" ou receptora. Em solução aquosa, a cavidade fracamente apolar da CD é ocupada por moléculas de água que podem ser facilmente substituídas por moléculas "hóspedes", menos polares que a água (STAPPAERTS *et al.*, 2017).

Dentre os subtipos de CDs, destaca-se a *β*-CD. Ela possui maior aplicação industrial em formulações farmacêuticas devido ao tamanho favorável de sua cavidade, produção fácil e baixo custo, o que viabiliza a complexação de várias classes de fármacos em grande escala (QUINTANS-JUNIOR *et al.*, 2013).

Apesar dos benefícios promovidos pelos novos excipientes, para a sua aplicabilidade terapêutica é importante ressaltar pontos importantes da farmacologia como a toxicidade. Bellinger *et al.*, (1995) realizaram estudos sobre a toxicidade da CDs em ratos e cachorros, durante 52 semanas. Os resultados indicaram efeito não tóxico ao nível de 12.500 ppm em ratos (equivalente a 654 ou 864 mg/Kg/dia para machos e fêmeas, respectivamente) e 50.000 ppm em cachorros (equivalente a 1831 ou 1967 mg/Kg/dia para machos e fêmeas, respectivamente).

Jun *et al.*, (2007) investigaram a toxicidade da *β*-CD em ratos F344. Altas dosagens foram testadas (2016 mg/Kg/dia para machos e 2344 mg/Kg/dia para fêmeas). Estes valores representam 340-400 vezes a quantidade que uma pessoa ingere como aditivo ou como medicamento diariamente. Nenhum potencial carcinogênico foi observado quando administradas altas doses deste macrocíclico na dieta de ratos F344, durante 104 semanas. A *β*-CD foi considerada como substância não tóxica pelo Instituto Nacional de Nutrição de Budapest, desta forma, não demonstra risco de toxicidade quando administrado por via oral (GUEDES, 2008).

No entanto, apesar da boa aplicabilidade farmacêutica, as β-CD apresentam solubilidade aquosa limitada, especialmente quando administrada pela via parenteral, não passando de 1% da dose absorvida, no qual a formação de complexos com compostos lipofílicos geralmente resulta em precipitação dos complexos sólidos, com isso, uma vez que sua solubilidade é baixa pode levar à uma precipitação de microcristais nos rins, podendo causar nefrotoxicidade, impedindo a filtração glomerular ou ainda causar hemólise de eritrócitos humanos, como descreveram Bekers *et al.*, (1991). Em contrapartida, as administrações intravenosas de CDs são rapidamente eliminadas da circulação, de forma intacta, através dos rins (STELLA & HE, 2008).

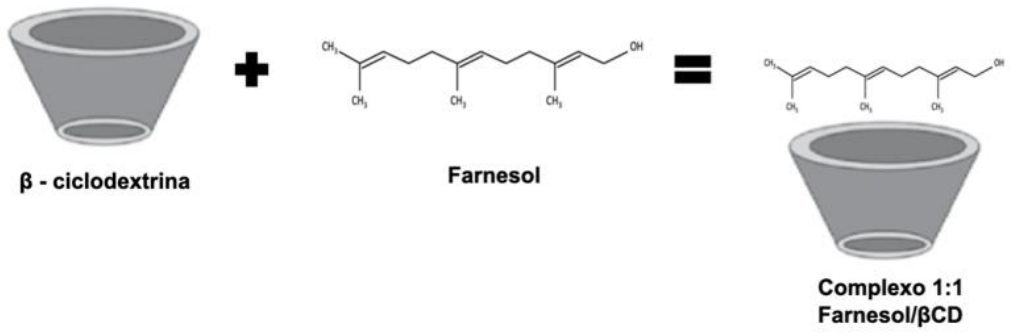
Como forma de solucionar esses efeitos adversos, modificações foram feitas na estrutura química das β-CD, originando derivados mais solúveis como a 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina, o 2,6-dimetil-β-ciclodextrina e o sulfobutiléter de β-ciclodextrina (ANNIBALDI *et al.*, 2019).

Hedges (1998) descreve como os complexos de inclusão podem ser obtidos: (1) co-precipitação, onde se adiciona o hóspede numa solução concentrada de CD e de acordo com a temperatura e concentração da solução ocorre precipitação do complexo; (2) formação de pasta, onde a CD é misturada a uma pequena quantidade de água, a substância a ser encapsulada é adicionada, e a pasta é colocada num misturador; (3) mistura física, a CD e o hóspede são misturados sem adição de solvente, esse método é indicado somente para substâncias oleosas ou líquidas a temperatura ambiente; (4) por secagem, a mistura de complexo é agitada num solvente adequado e depois seca através de *spray drying* ou *freeze drying*.

De forma complementar, Quintans-Júnior *et al.*, (2013) descreveram a metodologia de inclusão do farnesol à *β*-CD. Os autores discorrem que o processo ocorre por meio de uma mistura física (MF), co-evaporação (CE) e liofilização (LIOF). A amostra é preparada a partir da MF de 222,37 mg de farnesol junto à 1135 mg de *β*-CD, com uma razão molar de 1:1 (Figura 21.3), com base no peso molecular dos constituintes da formulação, depois pulverizado sob agitação manual. A complexação da pasta por CE é realizada pela adição de água (2 mL) a um copo contendo uma quantidade de MF, sob agitação manual constante, seguida da agitação magnética por 36 h na mesma proporção de amostra 1: 1 (molar), com 20 mL de água destilada. O material então é seco à temperatura ambiente (em um dessecador) até a formação de um filme de vidro, que é removido por trituração manual e armazenado em recipiente de vidro hermético (SILVA *et al.*, 2017).

A amostra obtida por LIOF seguiu procedimento inicial similar ao da CE. Após 36h de agitação, a amostra foi congelada por 24 h e em seguida liofilizada a -50ºC.

**Figura 21.3.** Complexo de farnesol com β-ciclodextrina na proporção de 1:1




**Fonte:** Adaptado de HEDGES, 1998.

## CONCLUSÃO

Dentro da ciência farmacêutica as CDs destacam-se por sua ampla capacidade de adaptar-se aos diferentes tipos de fármacos, proporcionando o melhoramento da sua atividade biológica no organismo. Apesar dos benefícios que as mesmas se aplicam na formulação de novos bioprodutos, a utilização destas requer compreensão dos processos físico-químicos envolvidos no objetivo da aplicabilidade do fármaco, o que evidencia a necessidade de estudos e pesquisas na sua utilização dentro do arsenal de bioprodutos a serem efetivados.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ABDELHALIM, H.N. *et al*. Factors affecting treatment compliance of patients on antihypertensive therapy at National Guard Health Affairs (NGHA) Dammam Primary Health Care Clinics (PHCC). Journal of Family & Community Medicine, v. 26, p. 168, 2019.

AGHMIUNI, S.K. *et al*. Assessment of factors affecting innovation policy in biotechnology. Journal of Innovation & Knowledge, v. 117, p. 1, 2019.

ANDREAUS, J. *et al*. Aplicação de ciclodextrinas em processos têxteis. Química Nova, v. 33, p. 929, 2010.

ANNIBALDI, V. *et al*. Studies on the formation and properties of polypyrrole doped with ionised *β*Cyclodextrins: influence of the anionic pendants. Journal of Solid State Electrochemistry, v. 23, p. 615, 2019.

BEKERS, O. *et al*. Cyclodextrins in the pharmaceutical field. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 17, p. 1503, 1991.

BELLINGER, M.E. *et al*. *Beta*-cyclodextrin: 52-week toxicity studies in the rat and dog. Food and Chemical Toxicology, v. 33, p. 367, 1995.

GUEDES, F.L. *et al*. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. Revista Brasileira de Farmácia, v. 89, p. 220, 2008.

GUIDO, R.V.C. *et al*. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. Estudos avançados, v. 24, p. 81, 2010.

HEDGES, A.R. Industrial applications of cyclodextrins. Chemical Reviews, v. 98, p. 2035, 1998.

JUN, S.W. *et al*. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisalvent (SAS) process. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 66, p. 413, 2007.

LOFTSSON, T. & BREWSTER, M.E. Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 101, p. 3019, 2012.

LOFTSSON, T. & MESSON, M. Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. International Journal of Pharmaceutics, v. 225, p. 15, 2001.

LYRA, M.A.M. *et al*. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármacociclodextrina. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada., v. 31, p. 117, 2010.

NOVÂK, C.S. *et al*. Investigation of cyclodextrin complexes of mandelic acid. Journal of Thermal Analysis, v. 51, p. 1039, 1998.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J. *et al*. Nanoemulsion Thermoreversible Pluronic F127-Based Hydrogel Containing Hyptis pectinata (Lamiaceae) Leaf Essential Oil Produced a Lasting Antihyperalgesic Effect in Chronic Noninflammatory Widespread Pain in Mice. Molecular neurobiology, v. 55, p. 1665, 2013.

SALTÃO, R. & VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 37, p. 1, 2001.

SEPODES, B. Os Desafios da Avaliação Europeia dos Medicamentos até 2025. Revista Portuguesa de Farmacoterapia, v. 11, p. 113, 2019.

SILVA, J.C. *et al*. Docking, characterization and investigation of *β*-cyclodextrin complexed with farnesol, an acyclic sesquiterpene alcohol, produces orofacial antinociceptive profile in experimental protocols. Process biochemistry, v. 62, p. 193, 2017.

STAPPAERTS, J. *et al*. The impact of guest compounds on cyclodextrin aggregation behavior: A series of structurally related parabens. International journal of pharmaceutics, v. 529, p. 442, 2017.

STELLA, V.J. & HE, Q. Cyclodextrins. Toxicologic Patholpgy. v. 36, p. 30, 2008.

VENTURINI, C.G. *et al*. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. Química Nova, v. 31, p. 360, 2008.

VILLIERS, M.A. Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, v. 112, p. 536-537, 1891.

ZHU, X. & PING, W. Optimization of *β*-cyclodextrin cross-linked polymer for monitoring of quercetin, Spectrochim. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 132, p. 38, 2014.

# CAPÍTULO 22

## ATIVIDADE LEISHMANICIDA DAS CASCAS DE ROMÃNZEIRA (*PUNICA GRANATUM L.*) SOBRE ÀS FORMAS PROMASTIGOTAS DE LEISHMANIA INFANTUM

*Palavras-chave: Doenças Negligenciadas; Leishmaniose; Plantas Medicinais; Saúde Pública*

ÁSSIA VIDAL MENEZES[1]
WINNER DUQUE RODRIGUES[1]
VÍVIAN CAIAFA FERREIRA PAIVA[2]
JULIANA APARECIDA SEVERI[3]
FRANCISCO DE PAULA CARETA[3]

1. Discente do curso de Farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.
2. Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, Alegre-ES.
3. Docente do curso de Farmácia da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose de prevalência mundial e grave problema de saúde pública no Brasil, caracterizada por uma doença crônica infecciosa, ulcerativa, não contagiosa, parasitária, causada por protozoários do gênero *Leishmania*. No Brasil, o ciclo da transmissão é zoonótico, sendo o cão doméstico considerado o principal reservatório, e o flebotomíneo hematófago *Lutzomya longipalpis* o vetor de maior importância epidemiológica. Apresenta alta endemia, morbidade e mortalidade em regiões equatoriais (BEZERRA *et al*., 2006).

A distribuição geográfica das variadas formas clínicas da doença é dependente das espécies, insetos vetores, hospedeiros reservatórios e notavelmente de fatores associados a vegetação e ao clima de cada região que mantém os parasitos circulantes na natureza (ASSIS, 2008 apud ASHFORD, 2000 adaptado).

A leishmaniose é causada pela infecção de formas promastigotas do gênero *Leishmania através do repasto sanguíneo* de um mosquito que ingeriu formas amastigotas de um hospedeiro reservatório infectado. No intestino médio do flebotomíneo, dois estágios de desenvolvimento, denominados promastigotas procíclicos e metacíclicos, foram definidos. Os parasitos na sua forma amastigota advindas do momento de repasto sanguíneo, diferenciam-se em dois estágios, sendo estes o procíclico, que se ligam às células epiteliais do intestino médio e têm baixa virulência, e os parasitos do estágio metacíclico que são a forma virulenta e indutora da infecção (ZANDBERG, 2006).

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar é causada pela espécie *Leishmania infantum*, sendo considerada a forma clínica mais grave dentre as leishmanioses. A doença abrange desde formas inaparentes, lesões discretas de pele que podem evoluir espontaneamente para cura, ulcerações múltiplas, lesões de mucosas até formas com tendência às metástases e recidivas, de curso lento e tratamento difícil (SILVEIRA *et al*., 1996), considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e a capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2017).

O tratamento das leishmanioses é feito por antimoniais pentavalentes, anfotericina B e pentamidinas, sendo estas as drogas leishmanicidas mais potentes disponíveis comercialmente, com ação nas formas promastigotas e amastigotas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, porém causam efeitos adversos de toxicidade em tecidos hepáticos, renais e cardiovasculares, possuem custo elevado e difícil adesão devido a necessidade da administração recorrente por via intramuscular e/ou intravenosa, e podem causar resistência ao parasito (BEZERRA *et al*., 2006 adaptado). Devido à alta citotoxicidade dos medicamentos convencionais, a abordagem de novas formas de tratamento, sobretudo associadas a fitoterápicos é de enorme relevância para proceder à melhora do paciente sem que ocorram efeitos colaterais.

As espécies vegetais são a melhor e maior fonte de fármacos para humanidade devida sua alta biodiversidade e facilidade de obtenção, principalmente por demonstrarem efeitos comprovados associados à formulação de medicamentos ou na medicina tradicional. Segundo Bezerra *e colaboradores* (2006) os estudos etnobotânicos têm demonstrado o uso popular de plantas no tratamento das leishmanioses tanto por via oral, como na aplicação tópica sobre as lesões cutâneas e muitos vegetais apresentam em sua composição substâncias das classes dos alcaloides, terpenos,

lignanas, chalconas, flavonoides e lactonas sesquiterpênicas, compostos descritos na literatura como eficazes na atividade leishmanicida e/ou anti-*Leishmania*.

A espécie *Punica granatum* popularmente conhecida como romãzeira é amplamente utilizada na medicina popular para diversas finalidades, como por exemplo, atividade antibacteriana, antifúngica e antiparasitária presente nas cascas de seu fruto frente a diversos microorganismos incluindo protozoários como *Leishmania spp.*, *Trypanosoma spp.*, *Thichomonas spp.* (LUIZE *et al*., 2005; MAHDI *et al*., 2006). Outras partes do vegetal mostraram alta atividade antioxidante, favorecendo a cicatrização da leishmaniose tegumentar quando comparada com o medicamento padrão utilizado no tratamento (ALKATHIRI *et al*., 2017).

A atividade antileishmanicida demonstrada pelos extratos brutos de *P. granatum*, bem como o efeito de toxicidade, justificam a continuação de seu estudo como fonte potencial de novos fármacos contra *Leishmania* (GARCÍA *et al*. 2009 adaptado). Segundo Alkathiri *et al*. (2017) a atividade leishmanicida da romã demonstra ser mais potente que a do Pentostam®, medicamento padrão utilizado para tratamento da leishmaniose, devido à presença de compostos fenólicos e flavonoides, especialmente luteolina, elagitaninos e galato de epigalocatequina.

Suas propriedades farmacológicas têm sido descritas extensivamente, resultando na sua indicação para usos diversos, incluindo: imunomodulação, arteriosclerose, infecção bacteriana, infecção fúngica, e infecção parasitária devido aos constituintes presentes no fruto como os alcaloides (peletierina, metilpeletierina, pseudopeletierina e isopeletierina), manita, polifenóis, ácido elágico e ácido gálico (MENEZES *et al*., 2008 adaptado).

Diante do exposto, a busca por novas formas de tratamentos e fármacos são indispensáveis para uma intervenção com maior segurança e eficácia. Desta maneira, alternativas terapêuticas para controle da leishmaniose e o uso de plantas medicinais no tratamento da doença tem se destacado devido a facilidade de obtenção, baixo custo e potencial farmacológico diverso.

A atividade farmacológica das plantas medicinais está relacionada com a produção compostos químicos denominados metabólitos secundários, estudos etnofarmacológicos evidenciam o uso popular de plantas no tratamento das leishmanioses tanto por via oral e/ou via tópica sobre as lesões cutâneas (BEZERRA, *et al*., 2006; JUNIOR *et al.*, 2005). Com base no exposto, o presente estudo busca avaliar o potencial leishmanicida das cascas de romãzeira como uma nova alternativa de tratamento.

## MÉTODO

### Linhagem e manutenção celular

Foram utilizadas linhagem celular de formas promastigotas de *L. infantum* (MHOM/BR/1972/LD) já presente no banco de células os quais foram cedidas gentilmente pela Fundação Oswaldo Cruz/RO ao laboratório de cultivo celular do Departamento de Farmácia e Nutrição da Universidade Federal do Espirito Santo, cultivadas em garrafa de cultivo de 75 cm² com tampa sem filtro em meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), suplementado com 20% SBF (v/v) (Soro Bovino Fetal), 23,66 mM de HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil) -1-

piperazinoetanossulfônico), 23,80 mM de NaHCO3 (bicarbonato de sódio 1% de Penicilina-Estreptomicina em estufa BOD a 26ºC ± 3.

### Preparo do extrato vegetal

Para o preparo do extrato bruto, cascas de *P. granatum* foram coletadas e secas. A extração foi feita com álcool etílico por percolação até o esgotamento do material vegetal. A solução extrativa resultante foi concentrada a 40º C em rotaevaporador (Heidolph®, laborota 4000), acoplado com uma bomba a vácuo (Prismatec®, modelo 121). Posteriormente, os extratos foram liofilizados (Liotop®, L101) e transferidos para frascos de vidro e armazenados ao abrigo de luz, calor e umidade. As concentrações utilizadas foram 15,62 µg/mL; 31,25 µg/mL; 62,5 µg/mL; 125 µg/mL 250 µg/mL; 500 µg/mL e 1000 µg/mL.

### Avaliação da atividade Leishmanicida

As atividades contra as formas promastigotas foram realizadas em fase exponencial de crescimento celular baseado na curva de crescimento parasitária obtida a partir da contagem diária de parasitos em cultivo durante 7 dias, em Câmara de Neubauer, ajustando-se a concentração dos parasitos para 2x106 parasitos/mL. Em microplacas contendo 96 poços, foram adicionadas a cada poço as concentrações estabelecidas para o extrato, seguido da adição de 100 µL de promastigotas de *L. infantum* em fase estacionária, ressuspensas em meio RPMI® para 2x106 células/mL.

Como controle negativo 1 (CN1) apenas foram mantidas em meio RPMI sem adição de outro composto e no controle negativo 2 (CN2) foi utilizado como veículo o DMSO (Dimetilsufóxido) a 0,2%. As placas contendo os parasitos em presença dos fármacos foram mantidas em estufa a 265°C por 48 h.

A atividade antiproliferativa das células foi analisada por meio de quantificação celular através da câmara de Neubauer realizados em triplicata onde adotou-se diluição de 20 vezes com Azul de Trypan e ensaios com o método colorimétrico XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide) em placa de 96 poços para avaliar o índice de células funcionalmente viáveis estimado através da atividade enzimática celular. Após período de incubação, 50 µL de solução de detecção 1 mg/mL XTT diluído em RPMI 1640 + 75 µM de PMS (Metossulfato de Fenazina) e novamente diluídos em tampão PBS 1x foram adicionados a cada poço e incubados durante 4h. Após o período de incubação as placas passaram por leve agitação para leitura em leitor de microplacas em espectrofotômetro a 450 nm.

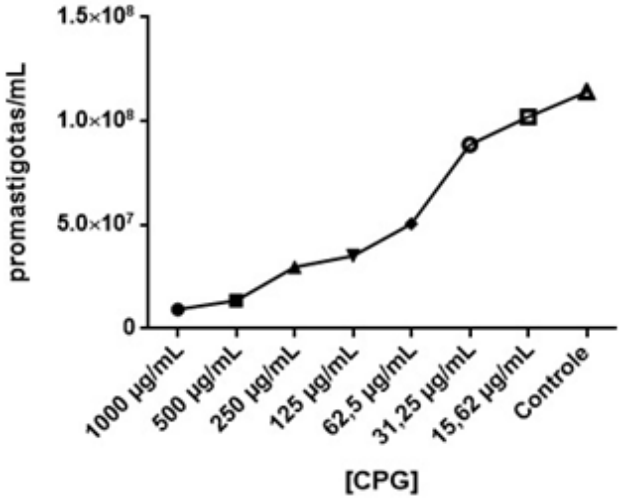
### Análise estatística

Os resultados foram avaliados através de análises estatísticas como a análise de variância (ANOVA) para obtenção do valor de p onde $p<0,05$ foram considerados significativos. O teste de Tukey foi realizado no software GraphPad Prism 6®. A partir dos valores de quantificação celular, ensaios com o método colorimétrico forneceram valores da concentração inibitória 50% (IC50) nos quais foram determinados por análise de regressão não linear pelos softwares GraphPad Prism 6® e Origin 8B®.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar o efeito do extrato das cascas de *P. granatum* sobre formas promastigotas de *L. infantum*, observou-se que existe atividade leishmanicida contra essas formas de vida do parasito. Verificamos que a diminuição da viabilidade celular se manteve estável nas concentrações de 15,62 µg/mL; 31,25 µg/mL; e na concentração de 62,5 µg/mL houve declínio em cerca de 50% de células viáveis. Na concentração de 125 µg/mL, ficando abaixo de 40% chegando a 10% de células viáveis na concentração 1000 µg/mL. A análise de regressão não-linear encontrou o valor de IC50 de 58,55 µg/mL (Figura 22.1).

**Figura 22.1.** Curva de crescimento de *Leishmania infantum* frente as diferentes concentrações dos extratos obtidos através da quantificação celular em Câmara de Neubauer com fator de diluição 20x com Azul de Trypan.




Produtos naturais têm um grande potencial na pesquisa por novos fármacos para o tratamento de importantes doenças causadas por protozoários (NAKAMURA *et al.*, 2006). Os valores obtidos de IC50 e $R^2$ mostraram-se satisfatórios com 58,55 µg/mL e 0,9727, respectivamente. Visto que a tendência do mesmo está próxima de 1, quanto maior o $R^2$, mais explicativo é o modelo e melhor ele se ajusta à amostra, baseado no valor encontrado, significa que aproximadamente 70% da variável dependente consegue ser explicada pela regressão presente no modelo. Estes dados corroboram com resultado obtido por Silveira *et al.* (2020) onde o extrato metanólico de partes da espécie vegetal *P. granatum*, obteve valor de IC50 > 64.0 µg/mL para as cepas de *L. infantum in vitro.*

Através da análise estatística ANOVA foi encontrado o valor de $p$ = 0,001, considerado significativo onde quanto menor o valor de p, mais evidências são identificadas. Na Figura 22.2 é possível observar que à medida que a concentração do extrato foi aumentada, a viabilidade das células decresceu assim como a quantidade das mesmas observadas em câmara de Neubauer.

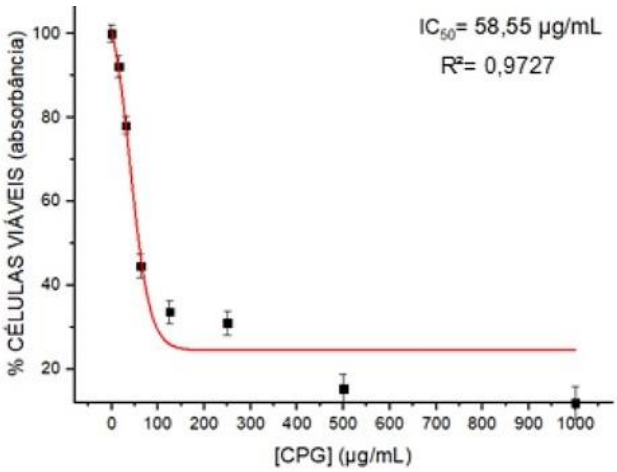



**Figura 22.2.** Valor de IC50 (µg/mL) do extrato das cascas de *P. granatum* sobre formas promastigotas de *L. infantum* obtido por regressão não-linear, onde, %Células Viáveis (absorbância): é a porcentagem de células viáveis frente as diferentes concentrações do extrato de *P. granatum*

As concentrações encontradas para IC50 demonstram que a atividade leishmanicida do extrato etanólico das cascas de *P. granatum* pode ser comprovada juntamente com a viabilidade celular onde são expressas a quantidade de células mortas e a redução do número de células (Figura 22.3), onde a mesma concentração de 62,5 µg/mL também reduziu cerca de 50% a quantidade de células comparadas ao controle negativo. A concentração de 1000 µg/mL obteve melhor resultado, reduzindo a quantidade de células viáveis em cerca de 90%.

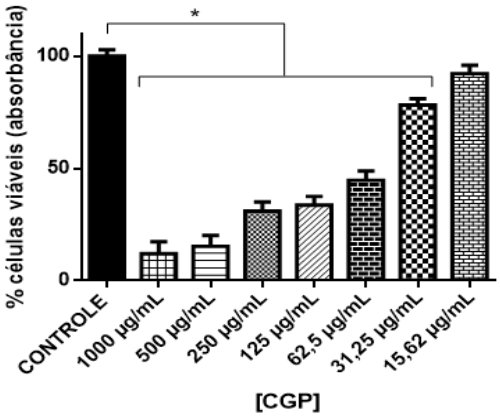



**Figura 22.3.** Ensaio de XTT Avaliação do efeito leishmanicida do extrato CPG (cascas de *Punica granatum*); viabilidade obtida pelo valor de absorbância calculado pela fórmula descrita conforme metodologia.

**Legenda:** *Diferenças estatisticamente significativas com valor de p <0,05.

## CONCLUSÃO

A utilização de extrato de plantas naturais tem gerado interesse para o desenvolvimento de alternativas viáveis para tratamento de doenças negligenciadas, pelo seu baixo custo e toxicidade, além de matéria prima de ampla disponibilidade tornando-se terapêuticas promissoras a serem empregadas no tratamento da leishmaniose. Nosso estudo fornece novas evidências sobre o desenvolvimento de oportunidades de inovação na farmacoterapia utilizando extrato das cascas de *P. granatum* na resposta leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de *L. infantum.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALKATHIRI, B. *et al*. Pomegranate (punica granatum) juice shows antioxidant activity against cutaneous leishmaniasis-induced oxidative stress in female balb/c mice. International Journal of Environmental Research and Public Health, v. 14, p. 1592, 2017.

ASHFORD, R.W. The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. International Journal for Parasitology, v. 30, p. 1269, 2000.

ASSIS, E.A. Influência da manutenção de leishmania amazonensis em meio de cultura axênico sobre a infecciosidade dos parasitos e sua correlação com sua atividade ecto-nucleosidática. 78p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – Belo Horizonte, 2008.

BEZERRA, J.L. *et al.* Avaliação da atividade leishmanicida in vitro de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 631, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Brasília, 2017.

GARCÍA, M. *et al.* Screening of medicinal plants against leishmania amazonensis. Pharmaceutical Biology, v. 48, p. 1053, 2010.

JUNIOR, V.F.V. *et al*. Plantas medicinais: cura segura? Química Nova, v. 28, p. 519, 2005.

LUIZE, P.S. *et al*. Effects of medicinal plant extracts on growth of leishmania (l.) amazonensis and trypanosoma cruzi. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 41, p. 85, 2005.

MAHDI, N.K. *et al.* Alternative drugs against trichomonas vaginalis. Eastern Mediterranean Health Journal, v. 12, p. 679, 2006.

MENEZES, S.M.S. *et al*. Biologics activities in vitro and in vivo of punica granatum l.(pomegranate). Revista Moreira Jr Editora, v. 65, p. 388, 2008.

NAKAMURA, C.V. *et al*. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de cascas de Piper regnellii (Miq.) C. DC. var. pallescens (C. DC.) Yunck. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, p. 61, 2006.

SILVEIRA, E. S. *et al*. Medicinal Plants Containing Coumarin or Essential Oils from the Brazilian Biome May be New Option for Treating Leishmaniasis? Pharmacognosy Reviews, v. 14, p. 53, 2020.

SILVEIRA, T.G.V. *et al*. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose tegumentar em área endêmica do estado do Paraná, Brasil. Cadernos De Saúde Pública, v. 12, p. 141, 1996.

ZANDBERGEN, G.V. *et al*. leishmania disease development depends on the presence of apoptotic promastigotes in the virulent inoculum. Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America, v. 107, p. 13837, 2006.

# ÍNDICE REMISSIVO

1,2,3-triazol: 47
Aborto: 163
Antiparasitário: 47
Biotecnologia: 198
Câncer de Fígado: 1
Câncer de Mama: 101
Características: 72
Ciclodextrina: 198
Compostos Bioativos Vegetais: 114
Contaminação em Águas Superficiais: 78
Dislipidemia: 130
Doença de Chagas: 143
Doença de Fabry: 88
Doenças Fúngicas Invasivas: 172
Doenças Negligenciadas: 208
Doenças negligenciadas: 47
Doenças por Armazenamento dos Lisossomos: 35
Echinacea purpurea: 121
Efeitos Biofisiológicos: 155
Ensaio de MTT: 1
Eplingiella fruticosa: 189
Erros Inatos do Metabolismo: 35
Essência Vibracional: 155
Euphorbia: 114
Exercício Físico: 130
Fases Pré Clínica/Clínicas: 172
Fitofarmacologia: 21
Fitoterapia: 121
Flagelos: 183
Fracionamento: 189
Glifosato: 78
Infecção Respiratória: 121
Inovação: 198
Isavuconazol: 172
Isolamento: 189
Isotretinoína: 72
Látex: 114
Leishmaniose: 208
Leishmaniose: 47
Manejo da dor: 13
Metabólitos Secundários: 1
Monitoramento Epidemiológico: 163
Nanotecnologia: 101
Neuroproteção: 21
Oxyflower®: 155
Parasitologia: 183
Persea Americana Mill: 130
Plantas Medicinais: 1, 105
Plantas Medicinais: 208
Química Farmacêutica: 143
Química Medicinal: 57
Química: 57
Recém-nascido: 13
Regulamentação: 72
Relação Estrutura-Atividade: 143
Resveratrol: 21
Revisão: 57
Saúde Pública: 208
Sistema Imunológico 121
Substâncias Tóxicas: 163
Técnicas: 57
Terapia de Reposição Enzimática: 35, 88
Terapia Gênica: 88
Toxicologia: 78
Tratamento: 101
Tripanossomatídeos: 183
Úlcera Gástrica: 105
Úlcera Péptica: 105
Unidades de Terapia Intensiva Neonatal: 13