



CIÊNCIAS DA SAÚDE

PESQUISAS APLICADAS EM FARMÁCIA

ORGANIZADORES
IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS
CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA



1ª

Edição

Acesso livre ao E-Book em

WWW.EDITORASCIENCE.COM.BR

 EDITORA
SCIENCE
ANO 2022



CIÊNCIAS DA SAÚDE

PESQUISAS APLICADAS EM FARMÁCIA

ORGANIZADORES
IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS
CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA

1ª

Edição

Acesso livre ao E-Book em
WWW.EDITORASCIENCE.COM.BR

CAMPINA GRANDE-PB

 EDITORA
SCIENCE
ANO 2022

Todos os Direitos Desta Edição Reservados à
© 2022 EDITORA SCIENCE
Av. Marechal Floriano Peixoto. 5000.
Campina Grande, PB, 58434-500.
CNPJ: 42.754.503/0001-00

REGISTRO CBL (Câmara Brasileira do Livro)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Pesquisas aplicadas em farmácia [livro
eletrônico] / organizadores Igor Luiz Vieira de
Lima Santos, Carliane Rebeca Coelho da Silva. --
Campina Grande, PB : Carliane Rebeca Coelho da
Silva, 2022.

PDF

Bibliografia.

ISBN 978-65-00-46638-6

1. Ciências da saúde - Pesquisa 2. Farmácia -
Pesquisa I. Santos, Igor Luiz Vieira de Lima.
II. Silva, Carliane Rebeca Coelho da.

22-113868

CDD-615.1

Índices para catálogo sistemático:

1. Farmácia : Pesquisa 615.1

Eliete Marques da Silva - Bibliotecária - CRB-8/9380



<https://doi.org/10.56001/22.9786500466386>

Para consulta na CBL acesse: <https://www.cbldados.org.br/isbn/pesquisa/>



Editora--Chefe

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Editores Organizadores

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos

Pós Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Editoração e Diagramação

Corpo Técnico da Editora Science

Revisão Principal/Por Pares

Os Autores / Revisores *Ad Hoc* / Corpo Editorial / Organizadores

Revisão Final

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva

Programas Registrados de Design

©Canva Pro Registered Design



Copyright © 2022 Editora Science

Copyright Textual © 2022 Os autores

Copyright da Edição © 2022 Editora Science

Todos os Direitos e os Termos de Cessão de Direitos Autorais para esta edição foram cedidos à Editora Science pelos próprios autores.

Declaração de Direitos

Todos os direitos reservados.

Qualquer parte deste livro pode ser reproduzida, transmitida de qualquer forma ou por qualquer meio, eletrônico, mecânico, fotocópia, microfilmagem, gravação ou de outra forma, desde que citada a fonte. Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Todos os artigos de autoria inédita, revisão, comentários, opiniões, resultados, conclusões ou recomendações são de inteira responsabilidade do(s) autor(es), e não refletem necessariamente as opiniões dos editores e/ou da empresa.

Para cópias impressas, para compras em massa e/ou informações sobre este e outros títulos da © Editora Science, entre em contato com a editora pelo telefone: Tel.: +55-83-991647953; E-mail: contato@editorascience.com ou editorascience@gmail.com

Siga nossas redes sociais fique por dentro das novidades e amplie o alcance dos nossos livros:

Facebook: <http://www.facebook.com/editorascience>

Instagram: <https://www.instagram.com/editorascience>

© 2022 EDITORA SCIENCE

Editora-Chefe:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

Gerente Editorial:

PROF. DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFCE)

Conselho Editorial:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

PROF. DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFCE)

DRA. LUCIANA AMARAL DE MASCENA COSTA (UFRPE)

PÓS-DRA. AYRLES FERNANDA BRANDÃO DA SILVA (UFCE)

Corpo Editorial:

PÓS-DRA. CARLIANE REBECA COELHO DA SILVA (EDITORA-CHEFE)

PÓS-DRA. AYRLES FERNANDA BRANDÃO DA SILVA (UFCE)

DR. IGOR LUIZ VIEIRA DE LIMA SANTOS (UFCE)

DRA. LUCIANA AMARAL DE MASCENA COSTA (UFRPE)

DRA. FERNANDA MIGUEL DE ANDRADE (FIS)

DRA. WELMA EMÍDIO DA SILVA (FIS)

MSc. LÚCIA MAGNÓLIA A. SOARES DE CAMARGO (UNIFACISA)

DR. JOSÉ OLÍVIO LOPES VIEIRA JÚNIOR (UENF)

DRA. FRANCIELI DE FATIMA MISSIO (UFSM)

PÓS-DR. CRISTIANO CUNHA COSTA (UFS)

DR. MILTON GONÇALVES DA SILVA JUNIOR (UNIRAGUAIA)

MSc. MARCELO SALVADOR CELESTINO (UNESP)

DR. GABRIEL PARISOTTO (UNISUAM)

DR. MARCUS VINICIUS PERALVA SANTOS (IFTO)

DR. LUIZ ALEXANDRE VALADÃO DE SOUZA (SME-RJ)


PÓS-DRA. MICHELE APARECIDA CERQUEIRA RODRIGUES (UFLO)

LICENSE PUBLICATION DETAILS

Copyright © 2022 Editora Science

Copyright Notice

All content in this work, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) license which permits copying, distribution, and adaptation of the work, provided the original work is properly cited and any changes from the original work are properly indicated. Any altered, transformed, or adapted form of the work may only be distributed under the same or similar license to this one.

© 2023 by Carliane Rebeca Coelho da Silva is licensed under Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International 



**Attribution-NonCommercial-
NoDerivatives 4.0 International
(CC BY-NC-ND 4.0)**

HOW CITE THIS BOOK:

NLM Citation

Santos ILVL, Silva CRC, editor. Pesquisas aplicadas em farmácia. 1st ed. Campina Grande (PB): Editora Science; 2022.

APA Citation

Santos, I. L. V. L. & Silva, C. R. C. (Eds.). (2022). *Pesquisas aplicadas em farmácia* (1st ed.). Editora Science.

ABNT Brazilian Citation NBR 6023:2018

SANTOS, I. L. V. L.; SILVA, C. R. C. **Pesquisas aplicadas em farmácia**. 1. ed. Campina Grande: Editora Science, 2022.

WHERE ACCESS THIS BOOK:

www.editorascience.com.br/livros/

Sumário

CAPÍTULO 1 1

ANEMIA FALCIFORME, BENEFÍCIOS DA TERAPIA E MECANISMOS DE AÇÃO DA HIDROXIURÉIA: REVISÃO DE LITERATURA	1
SICKLE CELL ANEMIA, THERAPY BENEFITS AND HYDROXYUREA ACTION MECHANISMS: LITERATURE REVIEW	1
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.01	1
Brisa Machado Pereira	1
Cibele Velloso-Rodrigues	1
Antônio Frederico de Freitas Gomides	1

CAPÍTULO 2 16

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS PRODUZIDOS NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL	16
PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF ESSENTIAL OILS PRODUCED IN THE NORTHEAST REGION OF BRAZIL	16
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.02	16
Alice Lima Rosa Mendes	16
Mayara Ladeira Coêlho	16
Jairelda Sousa Rodrigues	16

CAPÍTULO 3 32

TESTES ANTIOXIDANTES EM FLAVONOIDES DE RECURSOS NATURAIS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA	32
ANTIOXIDANT TESTS ON FLAVONOIDS OF NATURAL RESOURCES: A INTEGRATIVE REVIEW	32
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.03	32
Manoela Cavalcante Ribeiro	32
Fernanda Arias de Almeida Macedo	32
Anny Louisy de Sousa Macêdo	32
Alice Lima Rosa Mendes	32
Mayara Ladeira Coêlho	32

CAPÍTULO 4 42

EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DA <i>ARRABIDAEA CHICA</i> (HUMB. & BONPL.) B. VERL	42
ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF <i>ARRABIDAEA CHICA</i> (HUMB. & BONPL.) B. VERL	42
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.04	42

Silvânia Narielly Araújo Lima	42
Amanda Geovana Pereira de Araújo	42
Tainá Oliveira de Araújo	42
Anne Wirginne de Lima Rodrigues	42
Igor Luiz Vieira de Lima Santos	42

CAPÍTULO 5 **58**

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COCRISTAIS FARMACÊUTICOS: UMA REVISÃO SOBRE A COMPLEXIDADE DESSA ABORDAGEM	58
ACQUISITION AND CHARACTERIZATION OF PHARMACEUTICAL COCRYSTALS: A REVIEW ON THE COMPLEXITY OF THIS APPROACH	58
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.05	58
Isabela Fanelli Barreto Biscaia	58
Patrícia Bubna Biscaia	58
Luiza Stolz Cruz	58
Camila Nogueira Pacentchuk	58
Samantha Nascimento Gomes	58
Larissa Sakis Bernardi	59
Paulo Renato de Oliveira	59

CAPÍTULO 6 **73**

COCRISTAIS FARMACÊUTICOS NO APRIMORAMENTO DE FÁRMACOS: UMA REVISÃO DA AVALIAÇÃO TERMODINÂMICA E CINÉTICA	73
PHARMACEUTICAL COCRYSTALS IN DRUG ENHANCEMENT: A REVIEW OF THERMODYNAMIC AND KINETIC EVALUATION	73
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.06	73
Isabela Fanelli Barreto Biscaia	73
Patrícia Bubna Biscaia	73
Luiza Stolz Cruz	73
Camila Nogueira Pacentchuk	73
Samantha Nascimento Gomes	73
Larissa Sakis Bernardi	74
Paulo Renato de Oliveira	74
Solubilidade	76
Método termodinâmico	77
Método cinético	79

CAPÍTULO 7 **86**

PROCEDIMENTOS QUE RETARDAM O ENVELHECIMENTO CUTÂNEO E MODELOS EXPERIMENTAIS PARA ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIENVELHECIMENTO	86
PROCEDURES THAT DELAY SKIN AGING AND EXPERIMENTAL MODELS FOR ANALYSIS OF ANTI-AGING ACTIVITY	86

DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.07	86
Natan Cordeiro da Silva	86
Bruno José da Silva Bezerra	86
Eliandra de Andrade Santos	86
Alyce Gabrielle de Araújo Oliveira	87
Aureliany da Conceição Patricio	87
José Manoel do Nascimento	87
Luciana Ângelo Bezerra	87
Noemia Pereira da Silva Santos	87
Maria Tereza dos Santos Correia	87
Fernanda Miguel de Andrade	87
CAPÍTULO 8	104
<hr/>	
ENSAIOS METABÓLICOS IN VITRO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS	104
IN VITRO METABOLIC ASSAYS FOR ASSESSING MAGNETIC NANOPARTICLES TOXICITY	104
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.08	104
Karina Midori Endo	104
Ruan Rompato Vieira	104
Elisa Parcerio Hernandes	104
Suzana de Paiva	104
CAPÍTULO 9	119
<hr/>	
A IMPORTÂNCIA DOS BETABLOQUEADORES NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CONGESTIVA	119
THE IMPORTANCE OF BETA-BLOCKERS IN CONGESTIVE HEART FAILURE	119
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.09	119
José Leandro Ribeiro de Souza	119
Larissa Maria Ribeiro de Souza	119
Emerson José de Souza Silva	119
Rafaela Figueiredo Fernandes Soares	119
Claudia Cavalcante Dias	119
CAPÍTULO 10	129
<hr/>	
UTILIZAÇÃO DO PROPILENOGLICOL NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E FÁRMACOS: UMA REVISÃO DOS ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	129
USE OF PROPYLENE GLYCOL IN THE FOOD AND DRUG INDUSTRY: A REVIEW OF TOXICOLOGICAL ASPECTS	129
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.10	129
Veridiana de Almeida Flores de Oliveira	129
Amanda Tatiane Correa Pereira	129
Larissa Pelisson Trento	129

Amábile Mariano Marques	129
Natalia Santos Pretes	129
Pablo Ricardo Sanches de Oliveira	130
Rita de Cássia Dutra	130
Sarah de Oliveira Vicente	130
Caroline Crivelaro de Oliveira	130
Larissa Rodrigues da Silva	130

CAPÍTULO 11 **139**

PUBLIQUE COM A SCIENCE EM FLUXO CONTÍNUO	139
<i>PUBLISH WITH SCIENCE IN CONTINUOUS FLOW</i>	139
DOI: https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.11	139
AUTORES	139
AUTORES	139

SOBRE OS ORGANIZADORES DO LIVRO DADOS CNPQ: **140**

PREFÁCIO À 1ª EDIÇÃO

A ciência farmacêutica é um ramo científico dos mais em evidência na atualidade devido a diversos fatores entre eles o uso indiscriminado de fármacos, os seus efeitos colaterais, a polifarmácia, o uso de antibióticos, a descoberta de novos medicamentos para medicina personalizada e farmacogenômica, o desenvolvimento de drogas para os mais diversos fins particularmente na era pós-pandemia, quando acontecer, entre tantas outras finalidades.

Nesse contexto este livro tem por finalidade englobar pesquisas diversas em todas as áreas do conhecimento desta ciência que enfoquem em aspectos epidemiológicos, médicos, econômicos, ambientais e socioculturais do medicamento e da própria ciência farmacêutica buscando a produção de conhecimentos que contribuam no processo de desenvolvimento de novos medicamentos, na avaliação de eficácia/efetividade de medicamentos, inclusive nos seus aspectos moleculares; nas ações de farmacovigilância; na síntese da evidência científica para o desenvolvimento em farmácia, avaliação, implementação e manutenção de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas medicamentosas, na melhoria do padrão de prescrição e utilização de medicamentos na população, na avaliação de resultados de terapêuticas farmacológicas, nas consequências socioambientais do descarte de medicamentos, no estudo da Política de Medicamentos e Assistência Farmacêutica como parte integrante da Política Nacional de Saúde, envolvendo um conjunto de ações voltadas à saúde e garantindo os princípios de universalidade, integralidade e equidade do SUS.

Estudos com enfoque sistêmico para a organização e gestão da assistência farmacêutica, que engloba ações voltadas à promoção, proteção e recuperação da saúde, tanto individual como coletiva, tendo o medicamento como insumo essencial e visando o seu acesso e uso racional. Até as investigações com os resultados humanísticos e clínicos da prática da atenção farmacêutica incluindo também as experiências das pessoas com o uso de medicamentos buscando estabelecer a relação entre essas experiências e o desenvolvimento de problemas relacionados ao uso de medicamentos. Culminando no estudo ainda dos problemas e o impacto ambiental relacionado ao descarte e ao consumo não controlado de produtos farmacêuticos.

Esperamos que os leitores aproveitem os conhecimentos científicos aqui transmitidos com respaldo e qualidade e usufruam dos trabalhos disponíveis gratuitamente e na íntegra para aumentar o seu grau de aprofundamento nesta área tão complexa e desafiadora que é a ciência farmacêutica.

Boa Leitura. Os Organizadores.

CAPÍTULO 1

ANEMIA FALCIFORME, BENEFÍCIOS DA TERAPIA E MECANISMOS DE AÇÃO DA HIDROXIURÉIA: REVISÃO DE LITERATURA

SICKLE CELL ANEMIA, THERAPY BENEFITS AND HYDROXYUREA ACTION MECHANISMS: LITERATURE REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.01>

Submetido em: 15/12/2021

Revisado em: 14/05/2022

Publicado em: 24/06/2022

Brisa Machado Pereira

Universidade Federal de Juiz de Fora, *campus* Governador Valadares, Curso de Farmácia, Governador Valadares- MG
<http://lattes.cnpq.br/5106193858190172>

Cibele Velloso-Rodrigues

Universidade Federal de Juiz de Fora, *campus* Governador Valadares, Departamento de Ciências Básicas da Vida, Governador Valadares-MG
<http://lattes.cnpq.br/9434047652764467>

Antônio Frederico de Freitas Gomides

Universidade Federal de Juiz de Fora, *campus* Governador Valadares, Departamento de Ciências Básicas da Vida, Governador Valadares-MG
<http://lattes.cnpq.br/6242741828028741>

Resumo

A doença falciforme (DF) é uma hemoglobinopatia hereditária responsável pela formação da hemoglobina S (HbS) em conjunto com outras hemoglobinas. A homozigose da variante S leva à anemia falciforme (AF), a forma clínica mais grave da DF. A falcização do eritrócito com consequente hemólise crônica acarreta inflamação exacerbada, crises dolorosas, vaso-occlusão, acidente vascular cerebral (AVC) e estresse oxidativo. Atualmente, a terapia medicamentosa aprovada no Brasil para tratamento da AF é a hidroxiureia (HU). Apresentar os benefícios da terapia e mecanismos de ação da HU no tratamento da AF. Para a elaboração desta revisão foram consultados artigos provenientes de estudos sobre a doença falciforme, com ênfase na AF, utilizando-se bases de dados de periódicos indexados. A principal ação da HU que implica

em benefícios terapêuticos na AF é o aumento da produção da hemoglobina fetal (HbF). Também foi encontrado que a HU tem ações que levam a redução da inflamação e do estresse oxidativo via distintos mecanismos celulares e moleculares. Tais ações proporcionam diminuição do estresse oxidativo, das crises dolorosas e da ocorrência de AVC na AF. Variantes gênicas que afetam a produção de HbF parecem estar associadas à resposta a HU. O tratamento com HU em crianças e adolescentes traz benefícios como a diminuição de danos neurocognitivos, a redução na deficiência de crescimento e de vitamina D. São vários e inegáveis os benefícios observados no tratamento da DF com HU. Estudos que buscam esclarecer os mecanismos de ação da HU devem ser estimulados para aumentar a adesão e a segurança ao tratamento desde a primeira infância para que as morbidades da doença falciforme sejam drasticamente reduzidas ao longo da vida.

Palavras-Chave: Doença falciforme. Anemia falciforme. Hidroxiureia. Terapia.

Abstract

Sickle cell disease (SCD) is an inherited hemoglobinopathy responsible for the formation of hemoglobin S (HbS) together with other hemoglobin. Homozygosity of the S variant leads to sickle cell anemia (SCA), the most severe clinical form of SCD. Sickling of the red blood cell with consequent chronic hemolysis leads to exacerbated inflammation, painful crises, vaso-occlusion, stroke, and oxidative stress. Currently, the drug therapy approved for the treatment of SCD in Brazil is hydroxyurea (HU). To present the benefits of HU therapy and its mechanisms of action in the treatment of SCA. Articles from studies of sickle cell disease, with emphasis on SCA, were consulted for the elaboration of this review, using databases of indexed journals. The main action of HU that implies therapeutic benefits in SCA is the increased production of fetal hemoglobin (HbF). It was also found that HU has actions that lead to the reduction of inflammation and oxidative stress via distinct cellular and molecular mechanisms. Such actions provide a decrease in oxidative stress, pain crises, and stroke occurrence in SCA. Gene variants that affect HbF production seem to be associated with the response to HU. Treatment with HU in children and adolescents brings benefits such as decreased neurocognitive damage, reduced growth, and vitamin D deficiency. There are several and undeniable benefits observed in the treatment of DF with HU. Studies seeking to clarify the mechanisms of action of HU should be encouraged to increase adherence and safety to treatment from early childhood so that sickle cell disease morbidities are drastically reduced throughout life.

Key words: Sickle cell disease. Sickle cell anemia. Hydroxyurea. Therapy.

Introdução

A doença falciforme (DF) é considerada umas das enfermidades hereditárias mais comuns do mundo, responsável pela formação da hemoglobina S (HbS), em conjunto com outras hemoglobinas. A variante genética do gene HBB que determina a HbS quando em homozigose determina a anemia falciforme (AF), forma mais grave e mais estudada dentre o conjunto de doenças falciformes (KATO *et al.*, 2018; WARE *et al.*, 2017; TELEN, 2016).

Na AF, alterações estruturais da hemácia em decorrência da baixa oxigenação da hemoglobina levará a mudanças nas suas propriedades físico-químicas. O processo inicial dessas alterações é conhecido como polimerização, que acontece pela união de várias moléculas de HbS à medida que a concentração de O₂ dentro da hemácia diminui, fazendo que estas assumam um formato falciforme rígido (MCGANN; WARE, 2015; WILLIAMS; THEIN, 2018) com a formação de polímeros de desoxihemoglobina (BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). A polimerização vai acarretar uma série

de eventos relacionados a hemólise excessiva, tais como: anemia severa, infecções recorrentes, crises de dor, icterícia, acidente vascular cerebral (AVC), síndrome torácica aguda e priapismo. Todas essas manifestações clínicas são o resultado da hemólise crônica, inflamação exacerbada e vaso-oclusão (TELEN, 2016; KUYPERS, 2014).

Atualmente, os tratamentos disponíveis para pacientes com AF incluem a transfusão sanguínea, o transplante de medula óssea (TMO) e o uso da hidroxiureia (HU). A transfusão sanguínea a longo prazo pode causar hiperviscosidade, sobrecarga de volume, reações alérgicas, sobrecarga de ferro, e infecção por hepatite B, hepatite C, infecção pelo vírus do HIV e outros agentes. O transplante de medula óssea requer um doador compatível e ainda traz o risco de complicações durante a cirurgia (BUCHANAN *et al.*, 2004; SILVA; SHIMAUT, 2006).

Diante de todos os embaraços decorrentes da transfusão sanguínea e do TMO, por ser segura, acessível e economicamente viável, a terapia com HU tem ganhado cada dia mais espaço devido aos benefícios no tratamento da DF, acarretando melhoria no quadro clínico e na qualidade de vida dos pacientes (WARE; DERTINGER, 2021; KARKOSKA *et al.*, 2021; QUINN *et al.*, 2021; SCHUCHARD *et al.*, 2019; TSHILOLO *et al.*, 2018; RODRIGUEZ *et al.*, 2018). Baseado nessas evidências, foi realizada uma busca e análise em bases de dados de periódicos para produção desta revisão, com foco nos benefícios e mecanismos de ação da HU no tratamento da doença falciforme.

Metodologia

Trata-se de uma revisão de literatura integrativa de caráter exploratório realizada com buscas em artigos científicos datados de 2004 a 2021, obtidos em diferentes bases de dados: Scielo, BVS (Biblioteca Virtual de Saúde), Google Acadêmico, PubMed, Periódicos Capes e Manuais do Ministério da saúde e da Agência de Vigilância Sanitária, utilizando a seguinte combinação de descritores em português e inglês: “Doença falciforme” (*sickle cell disease*), “Anemia falciforme” (*sickle cell anemia*) e “Hidroxiureia” (Hydroxyurea).

A pesquisa literária foi realizada no segundo semestre de 2021. Foram incluídos 46 artigos completos, sendo que 30 artigos foram publicados nos últimos cinco anos, com dados condizentes referentes aos aspectos fisiopatológicos da DF com ênfase na AF e os benefícios da terapia com HU, bem como os mecanismos de ação deste fármaco. Foram excluídos da pesquisa artigos de opinião, cartas ao editor e comunicações breve, além, daqueles que divergiam do objetivo proposto na presente revisão.

Resultados e Discussão

- **Aspectos fisiopatológicos da doença falciforme**

Um dos sintomas mais evidentes na DF ocorre devido a hemólise acentuada e liberação de dímeros de hemoglobina no plasma. Estes dímeros podem se ligar a haptoglobina formando um complexo que é reconhecido pelo receptor CD163 (grupo de diferenciação 163) de macrófagos e monócitos. Após o reconhecimento, o complexo é endocitado e degradado no interior dessas células. Outros dímeros sofrem oxidação no plasma liberando o ferro-heme que se complexa à hemopexina. Este complexo será posteriormente degradado no fígado. A hemólise excessiva também liberará no plasma a arginase, uma enzima eritrocítica que degrada L-arginina, um substrato da enzima óxido nítrico sintase (eNOS), em L-citrulina e óxido nítrico (NO). Como a degradação da L-arginina, a sua conversão em L-citrulina e NO fica comprometida, ocorrendo diminuição do NO disponível no meio endotelial, causando disfunções das células endoteliais, efeitos pró-inflamatórios e estresse oxidativo. A diminuição de NO também atuará na via de formação da cGMP, que por sua vez é importante para regulação do tônus do músculo liso, causando distonia muscular, constrição vascular; hipertensão pulmonar e sistêmica, disfunção erétil, contrações gastrintestinais, disfagia e dores abdominais. A diminuição dos níveis de cGMP através do esgotamento do NO também poderá levar à ativação e agregação de plaquetas, promovendo a formação de coágulos (ROTHER *et al.*, 2005).

Ainda devido a diminuição do NO disponível, pode ocorrer a aderência de hemácias falcizadas ao endotélio vascular, através da ligação do VLA-4 (antígeno de ativação tardia-4) presente na membrana hemácias com a fibronectina, a VCAM-1 (molécula de adesão celular-vascular-1) e o Lu/BCAM [grupo sanguíneo Luterano (Lu)/antígenos molecular de adesão de células basais (BCAM)] presentes na membrana do endotélio vascular. Pode ocorrer também a lateralidade lipídica alterada (exposição da fosfatidilserina) na monocamada externa da membrana da hemácia falciforme contribuindo para sua adesão ao endotélio, além da hemólise e consequente vaso-oclusão. Além disso, danos oxidativos nas proteínas de membrana da hemácia contribuem para deformar ainda mais sua estrutura. Outros ligantes conhecidos como CD36 (grupo de diferenciação 36) e CD37 (grupo de diferenciação 37), presentes na membrana da hemácia falcizada e na membrana do endotélio, ligam-se a trombospondina-1 (TSP). O eritrócito falciforme vai se ligar via ICAM-4 (molécula de adesão intercelular-4) à plaqueta ativada pelo receptor $\alpha 2\beta 3$. A exposição de $\alpha 2\beta 3$ na superfície plaquetária

ocorre após a estimulação causada pela ligação da trombospondina 1 ao CD47 (grupo de diferenciação 47) endotelial. O mesmo $\alpha 2\beta 3$ da plaqueta também pode ligar-se ao ICAM-1 (molécula de adesão intercelular endotelial-1) via fibrinogênio (Fg). Além disso, os reticulócitos ligam-se ao endotélio através da ligação VLA-4 com fibronectina e VCAM-1 ou ICAM-4 com CD36. Através do CD11 ou CD18 (grupo de diferenciação 11 ou 18 respectivamente) presentes na membrana neutrófilo este também se ligará ao reticulócito via ICAM-4. Em conjunto, esses eventos são responsáveis pela maioria dos sintomas observados na AF (GARNIER *et al.*, 2020; PICCIN *et al.*, 2019; TELEN, 2016)

- **Histórico do uso da hidroxiureia e seus mecanismos de ação**

A hidroxiureia ou hidroxycarbamida foi inicialmente utilizada como agente quimioterápico no tratamento do câncer, atuando na fase S do ciclo celular como um agente antiproliferativo com função de citorredução e atividade antimetabólica, inibindo a ribonucleotídeo redutase, causando assim uma depleção do *pool* de desoxirribonucleotídeos, reduzindo drasticamente a proliferação celular e o câncer (KAPOR *et al.*, 2021).

Atualmente a HU é o único medicamento aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos e pelo Ministério da Saúde (MS) no Brasil para o tratamento da DF. A descoberta da sua eficácia para o tratamento da DF surgiu a mais de 35 anos e vem ao longo do tempo demonstrando sua capacidade de reduzir quase todas as complicações agudas e crônicas da doença (WALKER; OFORI-ACQUAH, 2015).

A HU é administrada diariamente a pacientes com AF por via oral na forma de cápsulas, comprimidos solúveis ou líquido. Sua dose inicial é de 25 mg/kg e aumenta para dose máxima tolerada (DMT), podendo apresentar variações na dosagem de acordo com a prescrição médica (KARKOSKA; MCGANN, 2021).

A HU é prontamente absorvida após administração oral. Picos de níveis plasmáticos são alcançados em uma a quatro horas após uma dose oral. Com doses aumentadas, são observados picos médios de concentrações plasmáticas. A HU distribui-se rápida e extensamente pelo organismo, apresentando um volume de distribuição estimado aproximando-se ao da água corporal total. A HU concentra-se nos leucócitos e eritrócitos e atravessa a barreira hematoencefálica. Até 50% da dose oral sofre conversão através de vias metabólicas que não estão totalmente caracterizadas. Uma delas é provavelmente o metabolismo hepático saturável. Outra via menor pode ser a degradação a ácido acetohidroxâmico pela urease encontrada nas bactérias intestinais. A excreção da

HU em humanos provavelmente é um processo linear renal de primeira ordem. Em pacientes com malignidades, a eliminação renal varia de 30 a 55% da dose administrada (ANVISA, 2021).

Os mecanismos de ação da HU no tratamento da AF ainda não foram totalmente esclarecidos. Seus efeitos terapêuticos incluem a melhora nos parâmetros avaliados no hemograma completo, aumento da contagem de reticulócitos, aumento da sobrevivência e reologia das hemácias com redução da hemólise através da indução da produção da Hemoglobina fetal (HbF) e L-glutamina no eritrócito, diminuição da concentração de HbS e diminuição de células falcizadas, com consequentemente redução da vaso-oclusão, diminuição do estresse oxidativo e do estresse metabólico cerebral, diminuição da ocorrência de AVC e da ativação do sistema do complemento (KARKOSKA; MCGANN, 2021, ROUMENINA *et al.*, 2020; FIELDS *et al.*, 2019; PICCIN *et al.*, 2019; PECKER *et al.*, 2017; LUCHTMAN-JONES *et al.*, 2016; SUMMARELL; SHEEHAN, 2016).

Evidências apontam que o aumento da produção de HbF seja um dos fatores chave no tratamento da AF. Acredita-se que o aumento de metabólitos do NO plasmático está correlacionado com o aumento da concentração de cGMP (guanosina 3,5-monofosfato cíclica) mediada pela sGC (guanilil ciclase solúvel). O NO se liga diretamente ao grupo desoxi-heme ferroso da enzima, gerando o complexo ferro-nitrosil, ativando a via sGC/cGMP promovendo o efeito vasodilatador no endotélio. Outro mecanismo proposto para o aumento de NO intravascular e intracelular ocorre pela interação da HU com oxihemoglobina e desoxihemoglobina com oxidação destas em metemoglobina (metHb). A HU poderá ainda interagir com outras moléculas de hemoglobina presentes e formar o complexo nitrosil-hemoglobina (HbNO), liberando lentamente o NO da ligação com a hemoglobina, aumentando assim seus níveis intracelulares. A HU pode também se decompor quimicamente ou enzimaticamente (pela ação da peroxidase, urease ou catalase) e produzir grupos NO, aumentando sua concentração intravascular (CONRAN; TORRES, 2019; KING, 2004; COKIC *et al.*, 2006).

Acredita-se também que ativação via sGC/cGMP pela HU induza a expressão do gene da γ -globina (*HBG1*) da HbF em eritrócitos e suas linhagens de células primárias, ocorrendo uma diminuição drástica dos eventos envolvidos na falcização, pela promoção da hidratação das hemácias, evitando a deformabilidade e consequentemente a diminuição da taxa de hemólise e de leucócitos circulantes, diminuindo assim, a inflamação endotelial e as crises vaso-oclusivas. A HU promove também o aumento do volume corpuscular médio (VCM) e como consequência são observadas hemácias

maiores, gerando uma melhora em sua reologia (RENÓ et al., 2020; MCGANN; WARE, 2015; SUMMARELL; SHEEHAN, 2016; PECKER *et al.*, 2017). O aumento da produção de HbF pela HU, mantém a distribuição de HbF nos eritrócitos (conhecidos também como células F). Uma porcentagem de HbF igual a 30%, que corresponde a uma distribuição de HbF quase pancelular nos eritrócitos variando de 70% a 80% de células F, pode prevenir a polimerização de HbS e falcização das hemácias, reduzindo a frequência e intensidade da maioria das complicações da AF (QUINN et al., 2021; STEINBERG, 2014).

Outro mecanismo proposto pela ação da HU é a diminuição da produção da VCAM-1 pelo endotélio, com consequente diminuição da adesão de hemácias falcizadas e reticulócitos ao endotélio vascular. Isso facilita a recaptação de cálcio para os estoques intracelulares das células endoteliais, via bomba de Ca^{2+} , abrindo canais de K^+ e fechando canais de Na^+ , resultando em um relaxamento do vaso. Outro mecanismo desencadeado pela HU ocorre através indução da fosforilação e ativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), uma enzima responsável pela produção de NO no endotélio vascular, que ativada causará vasodilatação (SUBOTIČKI *et al.*, 2021). Este efeito é modulado por um aumento dos níveis intracelulares da cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico) que estimula a fosforilação da Ser1177 (um resíduo de serina que é considerado um sítio de ativação da eNOS) pela PKA (proteína cinase A). O aumento da atividade da eNOS também leva a aumentos de cGMP em células endoteliais, que implicarão no relaxamento do endotélio (COKIC et al., 2006).

Sabe-se que na AF a hipóxia/reperfusão levam à ativação de vias inflamatórias envolvendo leucócitos mononucleares, polimorfonucleares e plaquetas. (TELEN, 2016). Para avaliar os efeitos anti-inflamatórios da HU em indivíduos com AF, Garnier *et al.* (2020) coletaram e purificaram MPs (micropartículas de vesículas extracelulares submicrônicas) que expõem em sua superfície a PS (fosfatidilserina). Estas MPs são comumente encontradas em alta concentração na AF. Foram obtidas MPs de participantes com AF antes e dois anos após o início do tratamento com HU e MPs durante uma crise vaso-oclusiva e após recuperação desse evento. Observaram-se aumento do mRNA de ICAM-1 e da proteína ICAM-1 (responsável pela adesão de neutrófilos ao endotélio vascular) nos participantes com AF comparados aos voluntários saudáveis. A superexpressão de ICAM-1 foi causada principalmente por MPs derivadas de eritrócitos da AF. MPs dos participantes com AF tratados com HU diminuíram os efeitos pró-inflamatórios em células endoteliais em comparação com MPs coletados antes da terapia

com HU. Os MPs liberados durante a crise vaso-oclusiva aumentaram os níveis de ICAM-1, de maneira dependente de PS, em comparação com os MPs coletados de participantes recuperados da crise vaso-oclusiva. Os autores concluíram que os MPs desempenham um papel fundamental na fisiopatologia da AF desencadeando um efeito pró-inflamatório de células endoteliais e que o tratamento com HU reduz a exposição de PS em MPs, o que anula suas propriedades pró-inflamatórias.

A HU também contribuí para a modulação da atividade do sistema antioxidante, diminuindo marcadores inflamatórios e estabilizando a integridade da membrana eritrocitária (LANARO, 2009). Indivíduos com DF estão sujeitos a uma carga excessiva de estresse oxidativo e uma baixa disponibilidade de NO, oriundos dos processos de hemólise crônica (que liberará hemoglobina e arginase no plasma), além da vaso-oclusão proveniente do aumento da exposição de moléculas de adesão em eritrócitos e plaquetas com consequente adesão ao endotélio vascular (TAYLOR *et al.*, 2008).

Renó *et al.* (2020) realizaram quantificação lipídica e avaliaram parâmetros do estresse oxidativo em eritrócitos de indivíduos saudáveis (controle) e de pacientes com AF tratados e não tratados com HU. Os eritrócitos de indivíduos com AF, independente do tratamento com HU, apresentaram aumento do estresse oxidativo em relação ao grupo controle, incluindo TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), teor de Fe^{3+} (o nível de Fe^{3+} é um indicador indireto de espécies reativas de oxigênio - ROS) e fragilidade osmótica e diminuição do colesterol total. Observou-se que o tratamento da AF com HU aumentou o teor de Fe^{3+} e atividade da GSH-Px e diminuiu a atividade da glutathione redutase (GR), dos níveis de glutathione, de colesterol total e do conteúdo de fosfolípidios.

Em um estudo exploratório marcadores de estresse foram medidos em amostras de plasma para investigar o estresse oxidativo sistêmico na AF e o impacto potencial da terapia com HU. A terapia com HU foi associada a uma diminuição do estresse oxidativo com valores mais baixos de sCD14 (grupo de diferenciação 14 solúvel – com efeito anti-inflamatório sistêmico), GSH e superóxido dismutase (SOD) na AF, reforçando a ideia de que a doença está associada a uma desregulação substancial das respostas oxidativas e que estas podem ser atenuadas pelo tratamento com HU (VINHAES *et al.*, 2020)

Outro estudo investigou a viabilidade celular, juntamente com marcadores inflamatórios e oxidativos em neutrófilos de indivíduos com AF e os efeitos da terapia HU sobre essas células, avaliando a responsividade à dose. Os autores demonstraram que os neutrófilos de participantes não tratados com HU apresentaram fragilidade da membrana e diminuição significativa da viabilidade celular. Os níveis de marcadores

inflamatórios; mieloperoxidase (MPO), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 10 (IL-10) e oxidativos; SOD, GSH-Px e malonaldeído (MDA) foram alterados nas células dos participantes com AF não tratados com HU. O tratamento com HU reverteu os níveis de todos os marcadores para concentrações semelhantes às de indivíduos saudáveis com uma relação dose-efeito positiva (PEDROSA; LEAL; LEMES, 2020).

Um estudo recente realizado por Roumenina *et al.* (2020) sobre a ação HU na modulação da resposta do sistema de complemento, avaliou se a droga evita danos aos tecidos de indivíduos com AF. Foi mostrado que a concentração plasmática do sistema de ataque a membrana (sC5b-9), um marcador para a ativação terminal do complemento, está aumentada em 61% no plasma dos participantes com AF não tratados com HU. Demonstrou ainda que a maior ativação do complemento *in vitro* foi promovida pelos eritrócitos de indivíduos com AF não tratados com HU. Além disso, foi observado que a ativação do complemento está positivamente correlacionada com a porcentagem de células falciformes densas (DRBCs). Os autores concluíram que a hiperativação do complemento é um evento patogênico comum na AF que está associado à formação de DRBCs e hemólise, afetando hemácias, leucócitos e células endoteliais e que a ativação do complemento é parcialmente inibida nos pacientes tratados com HU.

Estudos genômicos também vêm demonstrando os mecanismos de ação da HU no tratamento da AF. De acordo com Zhu *et al.* (2017) a HU reativa o gene γ -globina fetal para aumentar a produção de HbF. Para determinar estes possíveis mecanismos de ação, foram quantificados em eritroblastos cultivados a partir de células CD34⁺ do sangue periférico de pacientes com AF o mRNA e os reguladores da transcrição NF-Y, GATA-1, GATA-2, BCL11A, TR4, MYB e NF-E4 que montam o complexo promotor γ -globina e regulam a transcrição deste gene. Com base nas alterações observadas nos níveis de expressão dos genes dos reguladores da transcrição *GATA-1*, *GATA-2* e *BCL11A* os autores calcularam o Índice de Capacidade de Resposta à Hidroxiureia (IndexHU-3), que se correlacionou fortemente com os níveis de HbF no sangue periférico, sendo este considerado um forte indicador de responsividade da HU em portadores de AF.

Em um estudo genômico associado às respostas da HU no aumento da produção de HbF em indivíduos com AF, tratados prospectivamente com aumento da dose de HU até atingir a DMT, identificaram-se importantes marcadores genéticos de baixa resposta ao tratamento com HU. Três novos loci gênicos, *PTPRD*, *RPH3AL* e *ELL2*, apresentaram variantes de nucleotídeo único (SNVs) associadas a respostas de HbF. O *PTPRD* é um

gene que codifica o receptor de proteína tirosina fosfatase envolvido em processos celulares, como crescimento e diferenciação celular, enquanto *RPH3AL* codifica uma proteína semelhante à rabfilina 3A, conhecida por estar envolvida na exocitose íon cálcio dependente. O *ELL2* codifica um fator de alongamento para a RNA polimerase II e pode modificar o processamento do mRNA sob os efeitos citostáticos da HU. Pacientes que possuíam essas variantes genéticas apresentaram níveis mais baixos de HbF relacionada a DMT de HU (MARAHATTA *et al.*, 2020).

Em outro estudo genômico realizado por Ware *et al.* (2011) projetado para fornecer dados da farmacocinética de primeira dose (PK) de HU ministrada em indivíduos com AF, investigaram-se parâmetros de farmacodinâmica (PD), incluindo resposta do aumento da HbF até a DMT. Nos participantes do estudo de PK, foi observada variabilidade substancial interpaciente, além de um novo fenótipo de absorção oral (rápida ou lenta) que influenciou os níveis séricos de HU e a exposição a DMT. As respostas de PD em foram robustas e semelhantes a outros estudos. A análise farmacogenética mostrou que polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) influenciam os níveis basais de HbF, incluindo cinco variantes no gene *BCL11A*, mas nenhum influenciando DMT e percentual de HbF ou dose dependente. Os autores demonstraram que a HU aumenta a HbF em níveis que variam de 10% a 40%, verificando que essa variabilidade interpaciente é alta, sendo que a própria DMT é variável, e prognósticos precisos de respostas da HU não existem atualmente.

Recentemente tem-se discutido o uso da HU em crianças com AF, avaliando sua eficácia, dose/efeito, bem como a idade ideal para o início da administração. A terapia com HU, vêm demonstrando eficácia laboratorial e clínica quando administrada na DMT em crianças com AF, demonstrando que o tratamento precoce com HU não apresenta toxicidade, possui baixo risco carcinogênico, sendo, portanto, seguro, viável e altamente eficaz na prevenção de complicações da AF, incluindo episódios de dor, síndrome torácica aguda complicada, vaso-oclusão e AVC. Tem sido observado também diminuição da hipoxemia persistente, do estresse oxidativo, de danos neurocognitivos e redução da deficiência no crescimento e de vitamina D e (HEITZER *et al.*, 2021; KARKOSKA *et al.*, 2021; QUINN *et al.*, 2021; MARAHATTA, *et al.*, 2020; VINHAES *et al.*, 2020; SCHUCHARD *et al.*, 2019; THOMAS *et al.*, 2019; VAN GEYZEL *et al.*, 2019; TSHILOLO *et al.*, 2018; ADEGOKE *et al.*, 2017; ESTEPP *et al.*, 2017; PHILLIPS *et al.*, 2017; WARE *et al.*, 2011).

A decisão de prescrever HU não é estática e requer monitoramento contínuo cuidadoso tanto da adesão do tratamento, da idade de início, bem como da dose para otimizar o efeito. Assim, cabe aos médicos avaliarem os padrões hematológicos de rotina de cada paciente a fim de prescrever a dose ideal de HU (QUINN *et al.*, 2021; STEINBERG, 2014).

Os estudos elencados na presente revisão indicam que a prescrição médica precoce e universal da HU tanto para crianças quanto para adultos com AF que ainda não iniciaram a terapia é o padrão de atendimento, demonstrando que os benefícios do uso da HU vão além dos seus efeitos adversos. Um compromisso cuidadoso e deliberado para seguir na prática clínica o uso da HU é viável e necessário, pois resulta em melhorias mensuráveis nos resultados clínicos dos pacientes com AF.

Considerações Finais

Diante dos achados disponíveis na literatura, fica evidente a importância da terapia com HU no tratamento de portadores da AF evidenciada pelo aumento na sobrevivência das hemácias, aumento do VCM, aumento da produção de NO, diminuição do estresse oxidativo, diminuição das crises dolorosas como a síndrome torácica aguda e a prevenção da ocorrência de AVC. Além da diminuição dos danos neurocognitivos, da deficiência no crescimento e de vitamina D em crianças. Todos os benefícios observados no tratamento da AF com HU melhoram a qualidade de vida dos pacientes. Estudos envolvendo a HU devem ser estimulados para aumentar a segurança e a adesão ao tratamento com consequente redução na morbidade da doença na nossa população.

Agradecimentos

Para realização da presente revisão agradecemos o apoio do Programa de Iniciação Científica da Pró-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (Edital XXXIII BIC/UFJF - 2020/2021).

Referências

ADEGOKE, S. A. *et al.* Impact of Hydroxyurea on Anthropometry and Serum 25-Hydroxyvitamin D Among Children With Sickle Cell Disease. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 40, n. 4, p. e243-e247, 2017.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Hidroxiureia EMS S/A, 2021, Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?nomeProduto=Hidroxiureia>. Acesso em: 20 de out. 2021.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Doença falciforme: diretrizes básicas da linha de cuidado / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. Brasília, 2015.

BUCHANAN, G. R. *et al.* Sickle Cell Disease. **American society of Hematology**, v. 2004, n. 1, p. 35-47, 2004.

COKIC, V. P. *et al.* Hydroxyurea induces the eNOS-cGMP pathway in endothelial cells. **Blood**, v. 108, n. 1, p. 184-191, 2006.

CONRAN, N.; TORRES, L. cGMP modulation therapeutics for sickle cell disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 244, p. 132-146, 2019.

ESTEPP, J. H. *et al.* A clinically meaningful fetal hemoglobin threshold for children with sickle cell anemia during hydroxyurea therapy. **American Journal of Hematology**, v. 92, n. 12, p. 1333–1339, 2017.

FIELDS, M. E. *et al.* Hydroxyurea reduces cerebral metabolic stress in patients with sickle cell anemia. **Blood**, v. 133, n. 122, p. 2436-2434, 2019.

GARNIER, Y. *et al.* Plasma microparticles of sickle patients during crisis or taking hydroxyurea modify endothelium inflammatory properties. **Blood**, v. 136, n. 2, p. 247-256, 2020.

HEITZER, A. M. *et al.* Hydroxyurea treatment and neurocognitive functioning in sickle cell disease from school age to young adulthood. **British Journal of Haematology**, v. 195, p. 256-266, 2021.

KATO GJ, *et al.* Sickle cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 18010, p. 1-22, 2018.

KAPOR, S, *et al.* Mechanisms of Hydroxyurea-Induced Cellular Senescence: An Oxidative Stress Connection? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1-17, 2021.

KARKOSKA, K. *et al.* Implementation of near-universal hydroxyurea uptake among children with sickle cell anemia: A single-center experience. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 68, e29008, 2021.

KARKOSKA, K.; MCGANN, P.T. How I approach disease-modifying therapy in children with sickle cell disease in an era of novel therapies. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 68, e29363, 2021.

KING, S. B. Nitric Oxide Production From Hydroxyurea. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 37, n. 6, p. 737-744, 2004.

KUYPERS, F. A. Hemoglobin S Polymerization and Red Cell Membrane Changes. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 28, n. 2, p. 155-179, 2014.

LANARO, C. *et al.* Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 85, p. 235-242, 2009.

LUCHTMAN-JONES, L. *et al.* Effects of hydroxyurea treatment for patients with hemoglobin SC disease. **American Journal of Hematology**, v. 91, n. 2, p. 238-242, 2016.

MARAHATTA, A. *et al.* Genetic Variants That Influence Fetal Hemoglobin Expression from Hydroxyurea Treatment. **Blood**, v. 35, n.1, p. 8-9, 2020.

MCGANN, P.T.; WARE, R.E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 14, n. 11, p. 1749-1758, 2015.

PECKER, L. H; SCHAEFER, B. A; LUCHTMAN, J. L. Knowledge insufficient: the management of haemoglobin SC disease. **British Journal of Haematology**, v. 176, n. 4, p. 515–526, 2017.

PEDROSA, A. M.; LEAL, L. K. A. M.; LEMES, R. P. G. Effects of hydroxyurea on cytotoxicity, inflammation and oxidative stress markers in neutrophils of patients with sickle cell anemia: dose-effect relationship. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 43, n. 4, p. 468-475, 2020.

PHILLIPS, K. *et al.* Hydroxyurea therapy in UK children with sickle cell anaemia: A single-centre experience. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 65, n. 2, e26833, 2017.

PICCIN, A. *et al.* Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. **European Journal of Haematology**, v.102, p. 319-330, 2019.

QUINN, C. T. *et al.* Early initiation of hydroxyurea (hydroxycarbamide) using individualised, pharmacokinetics-guided dosing can produce sustained and nearly pan-cellular expression of fetal haemoglobin in children with sickle cell anaemia. **British Journal of Haematology**, v. 194, n. 3, p. 617-625, 2021.

RENÓ, C.O. *et al.* Oxidative stress assessment in sickle cell anemia patients treated with hydroxyurea. **Annals of Hematology**, v. 99, n. 5, p. 937-945, 2020.

RODRIGUEZ, A. *et al.* Hydroxyurea (hydroxycarbamide) genotoxicity in pediatric patients with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 65, n.7, e.27011, 2018.

ROUMENINA, L. T. *et al.* Complement activation in sickle cell disease: Dependence on cell density, hemolysis and modulation by hydroxyurea therapy. **American Journal of Hematology**, v. 95, n. 5, p. 456–464, 2020.

ROTHER, R. P. *et al.* The Clinical Sequelae of Intravascular Hemolysis and Extracellular Plasma Hemoglobin. **A Novel Mechanism of Human Disease**. *JAMA*, v. 293, n.13, p. 1653-1662, 2005.

SCHUCHARD, S. B. *et al.* Hydroxyurea use in young infants with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 66, e27650, 2019.

SILVA, M. C.; SHIMAUT, E. L. T. Eficácia e toxicidade da hidroxiuréia em crianças com anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, n. 2, p. 144-148, 2006.

STEINBERG, M. H. *et al.* Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: a glass half full? **Blood**, v. 123, p. 481-485, 2014.

SUBOTIČKI, T. A. *et al.* Nitric Oxide Synthase Dependency in Hydroxyurea Inhibition of Erythroid Progenitor Growth. **Genes**, v. 12, n. 1145, 2021.

SUMMARELL, C. C.; SHEEHAN, V.A. Original Research: Use of hydroxyurea and phlebotomy in pediatric patients with hemoglobin SC disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 7, p. 737-744, 2016.

TAYLOR, J. G. *et al.* Chronic Hyper-Hemolysis in Sickle Cell Anemia: Association of Vascular Complications and Mortality with Less Frequent Vasoocclusive Pain. **Plos One**, v. 3, n. 5, e2095, 2008.

TELEN, M. J. Beyond hydroxyurea: new and old drugs in the pipeline for sickle cell disease. **Blood**, v. 127, n. 7, p. 810-819, 2016.

THOMAS, R. *et al.* Prospective longitudinal follow-up of children with sickle cell disease treated with hydroxyurea since infancy. **Pediatric Blood & Cancer**, e27816, 2019.

TSHILOLO, L. *et al.* Hydroxyurea for Children with Sickle Cell Anemia in Sub-Saharan Africa. **New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 2, p. 121-131, 2018.

VAN GEYZEL, L. *et al.* Higher oxygen saturation with hydroxyurea in paediatric sickle cell disease. **Archives of Disease in Childhood, archdischild**, v. 105, p. 575-579, 2019.

VINHAES, C. L. *et al.* Hydroxyurea treatment is associated with reduced degree of oxidative perturbation in children and adolescents with sickle cell anemia. **Nature Research**, v.10, e18982, 2020.

WALKER, A. L.; OFORI-ACQUAH, S. Dissection of the Expression Patterns of Hydroxyurea Transporters during Erythropoiesis and Myelopoiesis. **Blood**, v. 126, n. 23, p. 3396, 2015.

WARE, R. E. *et al.* Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics of hydroxyurea treatment for children with sickle cell anemia. **Blood**, v. 118, n. 18, p. 4985-4991, 2011.

WARE, R. E. *et al.* Sickle cell disease. **Lancet**, v. 390, p. 311-323, 2017.

WARE, R. E.; DERTINGER, S. D. Absence of hydroxyurea-induced mutational effects supports higher utilisation for the treatment of sickle cell anaemia. **British Journal of Haematology**, v. 194, n. 2, p. 252-266, 2021.

WILLIAMS, T. N.; THEIN, S. L. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 191, p. 113-147, 2018.

ZHU, X. *et al.* Hydroxyurea differentially modulates activator and repressors of γ -globin gene in erythroblasts of responsive and non-responsive patients with sickle cell disease in correlation with Index of Hydroxyurea Responsiveness. **Haematologica**, v. 102, n. 12, p. 1995-2004, 2017.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS PRODUZIDOS NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL

PHARMACOLOGICAL EVALUATION OF ESSENTIAL OILS PRODUCED IN THE NORTHEAST REGION OF BRAZIL

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.02>

Submetido em: 02/08/2022

Revisado em: 15/10/2022

Publicado em: 03/11/2023

Alice Lima Rosa Mendes

Universidade de Brasília, Pós-graduanda em Nanociência e Nanobiotecnologia,
Brasília-DF

<http://lattes.cnpq.br/0937593399537592>

Mayara Ladeira Coêlho

Centro Universitário UNIFACID, Doutora em Biotecnologia pela Rede Nordeste de
Biotecnologia – RENORBIO – Teresina-Piauí

<http://lattes.cnpq.br/5634589156742478>

Jairelda Sousa Rodrigues

Centro Universitário UNIFACID, Doutora em Biotecnologia pela Rede Nordeste de
Biotecnologia – RENORBIO – Teresina-Piauí

<http://lattes.cnpq.br/9271149529096985>

Resumo

Os óleos essenciais são utilizados em nossos antepassados, como ação terapêutica, extraídos por diversas partes da planta como flor, folha, fruto através de técnicas de arraste a vapor. A indústria farmacêutica utiliza mais de 300 óleos essenciais de diversas plantas no mundo. A presente pesquisa, teve como objetivo, avaliar as principais ações farmacológicas dos compostos extraídos dos óleos essenciais produzidos em cada estado da região nordeste do Brasil. O presente estudo trata-se de uma pesquisa bibliográfica do tipo revisão integrativa da literatura, para o levantamento dos artigos, a coleta de dados foi realizada por meio das bases de dados: MEDLINE, LILACS, SciELO, Science Direct e BDTD. Para a realização do

levantamento de dados da pesquisa, foi usada a combinação das palavras-chave, consideradas Descritores em Ciência e Saúde (DeCS). Os termos foram utilizados palavras com os descritores palavras do título e do resumo. Foram analisadas publicações no período de 2010 a 2020, nos idiomas português, inglês e espanhol. Diante disso, os resultados revelaram que os 23 artigos selecionados apresentaram predominância da abordagem descritiva e quantitativa. Nessa perspectiva, com o que foi analisado, a espécie que mais obteve artigos publicados nas bases de dados foi a *Croton rudolphianus*, seguido por *Citrus aurantium*, *Lippia sidoides*, *Melissa officinalis* e por último *Cymbopogon schoenanthus* e *Hyptis dilatata* Benth. Os OEs apresentaram uma vasta atividade antimicrobiana, frente à várias espécies de bactérias e fungos, assim como, uma diversidade de compostos bioativos entre os seus constituintes fitoquímicos e farmacológicos.

Palavras-Chave: Estados; Atividade bacteriana; Atividade Antifúngica; Atividade Fitoquímica; Plantas.

Abstract

Essential oils are used in our ancestors, as a therapeutic action, extracted by different parts of the plant such as flower, leaf, fruit through steam drag techniques. The pharmaceutical industry uses more than 300 essential oils from different plants in the world. This research aimed to evaluate the main pharmacological actions of compounds extracted from essential oils produced in each state in northeastern Brazil. The present study is a bibliographic research of the integrative literature review type, for the survey of articles, data collection was carried out through the following databases: MEDLINE, LILACS, SciELO, Science Direct and BDTD. To carry out the survey data, a combination of keywords, considered Descriptors in Science and Health (DeCS) was used. The terms were used with the descriptors words of the title and abstract. Publications from 2010 to 2020 were analyzed, in Portuguese, English and Spanish. Therefore, the results revealed that the 23 selected articles presented a predominance of the descriptive and quantitative approach. In this perspective, with what was analyzed, the species that most obtained articles published in the databases was *Croton rudolphianus*, followed by *Citrus aurantium*, *Lippia sidoides*, *Melissa officinalis* and finally *Cymbopogon schoenanthus* and *Hyptis dilatata* Benth. The EOs showed a vast antimicrobial activity, against several species of bacteria and fungi, as well as a diversity of bioactive compounds among their phytochemical and pharmacological constituents.

Keywords: States; Bacterial activity; Antifungal Activity; Phytochemical Activity; Plants.

Introdução

Desde a antiguidade, os egípcios utilizavam esses óleos essenciais como perfumes nos rituais de mumificação e religiosos. Os óleos essenciais (OE) são extraídos através de técnicas de arraste a vapor e prensagem de diversas partes das plantas. (REZENDE, 2020). A indústria alimentícia, cosmética, perfumaria e farmacêutica são as que mais negociam essa matéria-prima para a produção de aromas e fragrâncias. A indústria farmacêutica possui um grande potencial nas pesquisas biotecnológicas.

Os óleos essenciais possuem características naturais como cheiro e sabor. Possuem compostos voláteis naturais, que apresentam compostos como: monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos. Possuem também os compostos que apresentam atividade antiinflamatória; antitumoral; anticoagulante; anticancerígenas; antifúngicas como a terpinen-4-ol, piperidina, cariofileno, D miristicina, germacreno. Esses compostos, são produzidos por plantas que apresentam atração de polinizadores na proteção das plantas e dos ambientes com temperaturas elevadas atuando no ataque e na defesa dos predadores (INACIO, 2014).

Os óleos essenciais possuem atividade farmacológica anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, analgésica, cicatrizantes, hormonais, antissépticos (MAGALHÃES *et al.*, 2015). Nesse sentido, a pesquisa teve como objetivo, avaliar os principais compostos fitoquímicos, extraídos dos óleos essenciais produzidos em cada estado da região nordeste do Brasil e fazer um estudo literário das ações farmacológicas existentes em cada óleo, observando a ação terapêutica.

Metodologia

Trata-se, de uma pesquisa bibliográfica do tipo revisão integrativa da literatura sobre os estudos que identificaram a avaliação farmacológica de óleos essenciais produzidos na região nordeste do Brasil. A coleta de dados foi realizada por meio das bases de dados: MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), LILACS (Literatura Latino-Americana em Ciências de Saúde), SciELO (Scientific Eletronic Library Online) e BDTD (Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações). Foi usada a combinação das seguintes palavras-chave, consideradas nos Descritores em Ciência e Saúde (DeCS): “Plantas” AND “Atividade bacteriana”; “Atividade Antifúngica” AND “Plantas”; “Estados” AND “Plantas”; “Atividade fitoquímica”. Os termos foram utilizados palavras com os descritores palavras do título e do resumo utilizando publicações no período de 2010 a 2020, nos idiomas português, inglês e espanhol.

Os critérios de inclusão consistiram em artigos publicados nos últimos dez anos, disponíveis para acesso gratuito, na íntegra, em idioma português, inglês e espanhol, que abordaram a temática proposta. Foram excluídos da pesquisa os editoriais, resumos, cartas ao editor, artigos repetidos, revisões bibliográficas e estudos que não corresponderam à temática relevante ao alcance do objetivo da revisão.

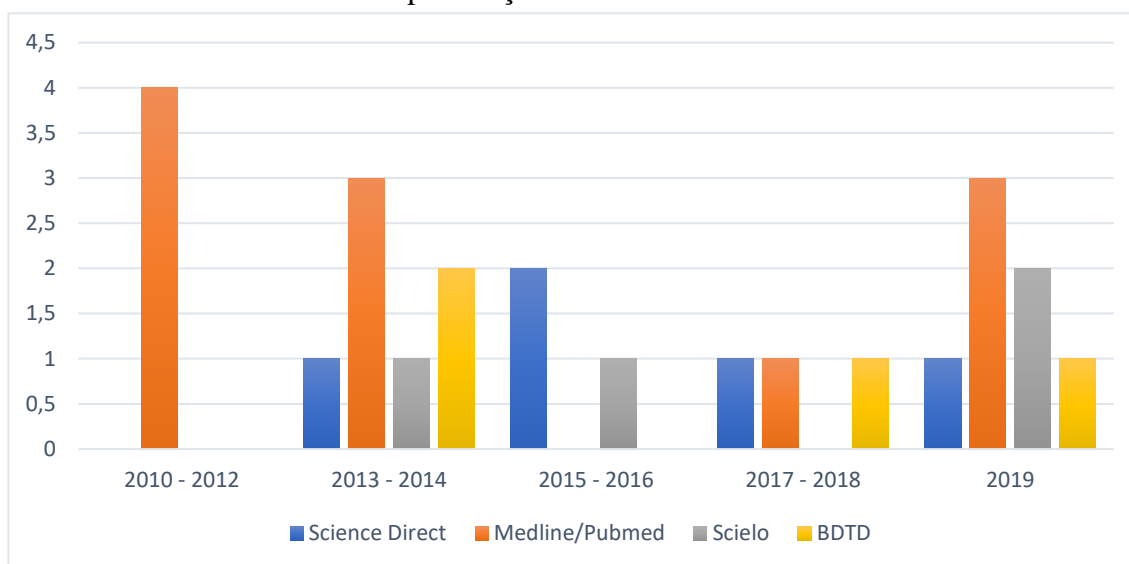
Na primeira etapa foi definida a questão norteadora e formulada a pergunta da pesquisa, sendo a mesma direta e clara; na segunda etapa foram estabelecidos os parâmetros de inclusão e exclusão; na terceira etapa identificaram-se os estudos pré-selecionados e selecionados; quarta etapa categorizou-se os artigos designados; na quinta etapa analisou-se e interpretaram-se os resultados e finalmente na sexta etapa os resultados da revisão foram expostos (BOTELHO; CUNHA; MACEDO, 2011).

A análise dos estudos selecionados em relação ao delineamento da pesquisa, foi realizada de forma descritiva, possibilitando observar, descrever e classificar os dados, com intuito de reunir o conhecimento produzido sobre o tema a ser explorado.

Resultados e Discussão

Dessa forma, foram excluídos artigos em que não citavam as palavras chaves, artigos que não estavam no período em que foi realizado a pesquisa e artigos que não citavam as atividades farmacologia dos óleos essenciais. Os artigos a redação final desta revisão integrativa, foram utilizados 23 estudos referentes aos óleos essenciais de plantas típicas da região nordeste que apresentam atividade antimicrobiana. No Gráfico 1 analisa-se as bases de dados Science Direct, Medline/Pubmed, Scielo e BDTD de acordo com o ano de publicação.

Gráfico 1: Conforme o ano de publicação e as bases de dados.



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Diante disso, verificou-se que a maioria dos estudos entre o período de 2019-2020 (n=6) e 2013-2014 (n=7), uma grande quantidade de estudos examinados em relação aos anos nas bases de dados pesquisadas, há um grande interesse na pesquisa científica em relação aos óleos essenciais, seguido de 2017-2018 (n=3), 2015-2016 (n=3) e 2010-2012 (n=4) um menor interesse de publicações nesses anos. A base de dados em que foi possível encontrar um maior número de publicações foi a Medline/Pubmed, com publicações de natureza internacional, com 40% (n= 25) dos artigos encontrados tiveram atividade fitoquímica, 31% (n=23) em atividade antibacteriana e 29% (n=19) atividade antifúngica. Os óleos essenciais eles possuem uma ação farmacológica contra vários tipos de microrganismo e sua importância para o desenvolvimento de novos bioprodutos. A Tabela 1 mostra plantas medicinais pesquisadas e classificadas por região onde são

encontradas na região nordeste do Brasil, analisando o tipo de método utilizado, parte da planta utilizada para extração do óleo e sua atividade farmacológica.

Tabela 1: Plantas medicinais pesquisadas e sua classificação conforme a região brasileira de ocorrência, quantitativo de menções nos artigos e para obtenção dos óleos essenciais.

Planta Medicinal Nome Popular/Nome Científico	Região Nordeste	Quantidade de artigos	Tipo de extração	Parte da planta utilizada	Atividade farmacológica
Capim-limão / <i>Cymbopogon schoenathus</i>	Alagoas - AL	01	Destilação a vapor d'água	Touceira de capim e folhas	Calmante, antiespasmolítica, analgésico e bom sinergismo com antibióticos.
Pimenta do reino/ <i>Piper nigrum L.</i>	Bahia - BA	04	Arraste com vapor d'água.	Grãos	Analgésico, anti-inflamatório, anticonvulsante e neuroprotetores
Alecrim-da-chapada/ <i>Lippia sidoides</i>	Ceará - CE	02	Vapor d'água.	Folhas	Antibacteriano antifúngico
Hortelã-do-mato/ <i>Hyptis dilatata benth</i>	Maranhão - MA	02	Hidrodestilação	Florais da planta	Antifúngica, antibacteriana e atividade fitoquímica
Laranja da terra/ <i>Citrus aurantiu</i>	Paraíba - PB	04	Prensagem a frio da casca do fruto	Folhas e casca	Insônia, ansiedade, tratamento do nervosismo
Velame/ <i>Cróton pulegiodorus</i>	Pernambuco - PE	03	Hidrodestilação	Flores e folhas	Inseticida, fungicida e bactericida
Erva cidreira/ <i>Melissa officinalis</i>	Piauí - PI	03	Hidrodestilação	Flores e folhas	Antimicrobiana
Eucalipto comum/ <i>Eucalyptus urograndis</i>	Sergipe - SE	02	Vapor d'água.	Caule	Tratamento de infecções causadas por microrganismos
Patchouli/ <i>Patchouli</i>	Rio grande do Norte - RN	02	Vapor d'água.	Flores e folhas	Antibacteriana

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Os tipos de plantas medicinais encontradas na região nordeste do Brasil, que possuem o nome popular e científico da planta, averiguando assim a quantidade de artigos selecionados dentre os 9 estados da região nordeste do Brasil. Desta forma a Tabela 4 a seguir expõe todos os achados referentes a presente pesquisa.

Tabela 4: Levantamento descritivo dos estudos pesquisados, classificados por autor, ano, título do artigo, tipo de estudo e resumo.

Autor /ano	Título do Artigo	Tipo de Estudo	Resumo
GARCIA-RISCO <i>et al.</i> , 2017	Biological activities of Asteraceae (Achillea millefolium and Calendula officinalis) and Lamiaceae (Melissa officinalis and Origanum majorana) plant extracts / Atividades biológicas de extratos vegetais de Asteraceae (Achillea millefolium e Calendula officinalis) e Lamiaceae (Melissa officinalis e Origanum majorana)	Experimental	Os extratos de Asteraceae, e Lamiaceae os extratos foram analisados quanto ao teor total de compostos fenólicos e teor de flavonoides. A composição do óleo volátil dos extratos supercríticos foi analisada por cromatografia gasosa e a toxicidade celular e a capacidade antioxidante. Todavia, os efeitos sobre a toxicidade celular indicam que o efeito na viabilidade celular não está relacionado à atividade antioxidante dos extratos.
POURGHA NBARI <i>et al.</i> , 2016	Antiviral activity of the oseltamivir and Melissa officinalis L. essential oil against avian influenza A virus (H9N2).	Experimental	A erva-cidreira é uma novidade como remédio natural e potente para o tratamento de infecções virais, uma vez que os vírus da gripe estão desenvolvendo amplamente resistência aos antivirais. O óleo essencial de Melissa officinalis e sua eficácia sinérgica contra o vírus da influenza aviária (AIV) inibição da hemaglutinação mostrou que o MOEO não foi capaz de inibir a aglutinação dos glóbulos vermelhos.o aumento do AVI foi suprimida pela concentração diferente de oseltamivir completamente ou perto de 100%.
TAHERPOUR <i>et al.</i> , 2012	Chemical composition analysis of the essential oil of Melissa officinalis L. from Kurdistan, Iran by HS/SPME method and calculation of the biophysicochemical coefficients of the componentes / Análise da composição química do óleo essencial de Melissa officinalis L. do Curdistão, Irã pelo método HS / SPME e cálculo dos coeficientes biofísico- químicos dos componentes	Experimental	Os constituintes voláteis do óleo essencial de Melissa officinalis L. selvagem, foram extraídos por headspace/ microextração em fase sólida e analisados por cromatografia gasosa e cromatografia / espectrometria de massa. De um total de 14 compostos no óleo, 12 (85,7%) foram identificados
ABDELLATIF <i>et al.</i> , 2014	Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian <i>Melissa officinalis</i> L. / Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas da <i>Melissa officinalis</i> L da Argélia	Experimental	O óleo essencial obtido das folhas de Melissa officinalis L. foi investigado quanto à sua composição química e atividade antimicrobiana in vitro. Os resultados do óleo essencial apresentaram alta atividade antimicrobiana contra microrganismos direcionados principalmente contra bactérias patogênicas humanas, uma levedura

			Candida albicans e fungos fitopatogênicos
ALMEIDA <i>et al.</i> , 2017	Estudos químicos e biológicos dos óleos essenciais e extratos de <i>Hyptis dilatata</i> Benth (Lamiaceae), procedentes da Serra do Tepequém-Amajari/Roraimaptis dilatata Benth (Lamiaceae), procedentes da Serra do Tepequém-Amajari/Roraima.	Experimental	A espécie <i>Hyptis dilatata</i> Benth, é encontrada no cerrado do Brasil é bastante conhecida por ser aromática e apresentar propriedades bioativas como antioxidantes, bactericida, fungicida e inseticida. Neste trabalho, estudaram-se os componentes químicos, a atividade biológica do óleo essencial e dos extratos de folhas e flores considerando o período seco e chuvoso.
VIEIRA, 2018	Estudo químico e avaliação da atividade microbiológica do óleo essencial das folhas de <i>Hyptis Dilatata</i> Benth	Experimental	<i>Hyptis dilatata</i> Benth é conhecida popularmente como “Hortelãzinho-do-mato”. O presente estudo apresenta a avaliação química e avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial extraído das folhas através de CG-EM que identificou 10 compostos e seus constituintes majoritários. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela técnica de microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) Concentração Bactericida Mínima (CBM) Concentração Inibitória Mínima (CIM). Diante dos resultados da pesquisa analisou-se que a <i>Hyptis dilatata</i> possui como agente terapêutico complementar aos tratamentos das enfermidades causadas por esses microrganismos
BASTOS <i>et al.</i> , 2020	Encapsulation of black pepper (<i>Piper nigrum</i> L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation / Encapsulação de óleo essencial de pimenta do reino (<i>Piper nigrum</i> L.) com a gelatina e alginato de sódio por coacervação complexa	Experimental	O óleo essencial de pimenta-do-reino no encapsulamento pode proteger o EO e preservar seus terpenos teve como objetivo analisar a composição do OE de pimenta-do-reino, determinando as condições mais adequadas para a formação do complexo entre gelatina e alginato de sódio
ZACARÃO <i>et al.</i> , 2013	Estudo da propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais de alho (<i>Allium sativum</i>), pimenta do reino (<i>Piper nigrum</i>) e pimenta rosa (<i>Schinus molle</i>) para aplicação em cortes de frango temperados.	Experimental	Os óleos essenciais de alho, pimenta rosa e pimenta do reino foram avaliados a fim de verificar e comprovar sua atividade antimicrobiana frente às bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> através do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Obteve como resultados do teste de concentração inibitória mínima comprovaram eficiência bacteriostática para ambos os óleos testados, porém, os óleos essenciais de pimenta rosa e pimenta preta demonstraram maior efeito para a

			bactéria <i>S. aureus</i> em comparação a <i>E. coli</i> . J
LAVINIKI <i>et al.</i> , 2013	Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> dos óleos essenciais de canela da china (<i>Cinnamomum cassia</i>), orégano (<i>Origanum vulgare</i>), pimenta negra (<i>Piper nigrum</i>) e tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>) branco frente a amostras de <i>Salmonella enterica</i> isoladas de aves/ <i>In vitro</i> antimicrobial activity of essential oils of cinnamon (<i>Cinnamomum cassia</i>). Orégano (<i>Origanum vulgare</i>), thyme (<i>Thymus vulgaris</i>) and black pepper (<i>Piper nigrum</i>) against strains of <i>Salmonella enterica</i> isolated from poultry	Experimental	O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> do óleo essencial (<i>Piper nigrum</i>), frente a amostras de <i>Salmonella enterica</i> isolada. O resultado foi possível analisar o efeito inibitório dos óleos no crescimento dos microrganismos com estudo de óleos principalmente orégano, que é uma alternativa natural para a indústria na redução nos produtos.
COSTA <i>et al.</i> , 2020	Nanopartículas poliméricas preenchidas com óleo essencial de <i>Piper nigrum</i> : caracterização química e morfológica	Experimental	Óleo essencial (OE) de <i>Piper nigrum</i> apresentam diversas atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória, antioxidante, antibactericida, antifúngica e inseticida. O presente estudo teve como caracterizar as nanopartículas poliméricas biodegradáveis, sintetizadas no intuito de servirem de nanocarreadores do OE de <i>Piper nigrum</i> esses dados fornecem características das nanopartículas contendo OE, mostrando que a formulação de nanopartículas representa uma alternativa eficaz no uso do OE de <i>Piper nigrum</i>
ESTEVES; ECKER, 2020	Avaliação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i> em cepas padrão de bacilos gram negativos	Experimental	O combate de afecções das vias respiratórias, dores de estômago, diabetes, cistites e diarreia. Sendo primordial a avaliação da composição química, atividades antioxidante e antimicrobiana, uma vez que determinará a bioatividade do óleo essencial de <i>Eucalyptus urograndis</i> em cepas padrão de bacilos gram-negativos que foi extraído pelo método de Clevenger, e o teste de susceptibilidade antibacteriana <i>in vitro</i> . O presente trabalho mostrou-se eficaz como agente antimicrobiano, podendo ser considerado no desenvolvimento de novos antibacterianos
GOLDBECK <i>et al.</i> , 2014	Bioactivity of essential oils from <i>Eucalyptus globulus</i> and <i>Eucalyptus urograndis</i> against planktonic cells and biofilms of <i>Streptococcus mutans</i> . / Bioatividade de óleos essenciais	Experimental	A atividade antimicrobiana de óleos essenciais (Eos) de duas espécies de eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i> e <i>Eucalyptus urograndis</i>) contra células planctônicas e de biofilme. O ensaio de difusão em ágar e determinando as concentrações inibitórias mínimas,

	de <i>Eucalyptus globulus</i> e <i>Eucalyptus urograndis</i> contra células planctônicas e biofilmes de <i>Streptococcus mutans</i>		cinética de ação e capacidade de inibir a formação de biofilme. A produção de biofilme por <i>S. mutans</i> também foi inibida na presença dos óleos testados, o que gerou resultados mais eficazes quando comparado ao NaF (fluoreto de sódio).
CARDOSO <i>et al.</i> , 2019	Potencial Antimicrobiano do Óleo da Folha de <i>Eucalyptus urograndis</i> Frente <i>Stafilococcus aureus</i>	Experimental	Alternativas não invasivas no controle de infecções tornou-se o principal objetivo de muitos grupos de pesquisa voltados para a química medicinal e farmacológica. Diante disso, o objeto da avaliação e determinação do potencial antimicrobiano do óleo essencial extraído do <i>Eucalyptus urograndis</i> obteve como resultado a atividade antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .
TENEVA <i>et al.</i> , 2019	Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial activity of essential oil from <i>Citrus aurantium L</i> zest against some pathogenic microorganisms. / Composição química, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>Citrus aurantium L</i> raspas contra alguns microrganismos patogênicos	Experimental	Atividade antioxidante e atividade antimicrobiana e composição química do óleo essencial de <i>Citrus aurantium</i> apresentou como resultados que os principais componentes do óleo essencial foram limoneno, β -mirceno e α -pineno. Atividade antimicrobiana, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella sp</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i>
HOU <i>et al.</i> , 2019	Extraction of essential oil from <i>Citrus reticulata</i> Blanco peel and its antibacterial activity against <i>Cutibacterium acnes</i> (formerly <i>Propionibacterium acnes</i>). / Extração de óleo essencial da casca de <i>Citrus reticulata</i> Blanco e sua atividade antibacteriana contra <i>Cutibacterium acnes</i> (anteriormente <i>Propionibacterium acnes</i>)	Experimental	A laranja (<i>cítrico</i>) é uma das frutas de maior produção do mundo. Diante desse trabalho foi desenvolvido o método de hidrodestilação para extrair o óleo essencial cítrico (OE) da casca de Blanco. Nesse sentido, o cítrico mostrou notável atividade antibacteriana contra <i>Cutibacterium acnes</i> (<i>C. acnes</i> , Anteriormente <i>P. acnes</i>) e microrganismos comuns, como <i>S aureus</i> , <i>B. subtilis</i> e <i>E. coli</i> .
METOUI <i>et al.</i> , 2015	Activity antifungal of the essential oils; aqueous and ethanol extracts from <i>Citrus aurantium L</i> / Atividade antifúngica dos óleos essenciais; extratos aquosos e etanólicos de <i>Citrus aurantium L</i> .	Experimental	O óleo essencial de <i>Citrus aurantium L</i> através da análise da composição química por GC e GC / MS mostrou que a composição é rica em monoterpenos como α -terpineol, acetato de linalila, linalol e limoneno, possuindo atividade antifúngica e biológicas que são geralmente atribuídas aos quimiotipos de alto teor em monoterpeno oxigenado.
MORAIS <i>et al.</i> , 2012	Chemical constituents of essential oil from <i>Lippia sidoides</i> Cham.	Experimental	O Cerrado brasileiro tem enfatizado o uso popular de muitas espécies aromáticas. O uso de <i>Lippia</i>

	(Verbenaceae) leaves cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. Constituintes Químicos do Óleo Essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (Verbenaceae) Folhas cultivadas em Hidrolândia, Goiás, Brasil.		<i>sidoides</i> Cham., conhecida como “alecrim pimenta”, Possui compostos monoterpenos oxigenados, hidrocarbonetos e sesquiterpenos seguido de isborneol e acetato de bornila.
VERAS <i>et al.</i> , 2014	Antimicrobial effect of <i>Lippia sidoides</i> and thymol on <i>Enterococcus faecalis</i> biofilm of the bacterium isolated from root canals. / Composição química, antioxidante e atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>Citrus aurantium</i>	Experimental	A identificação dos compostos químicos foi feita por análise cromatográfica, a atividade antioxidante e atividade antimicrobiana do óleo essencial contra patógenos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , microrganismos pelo método de difusão em disco. O óleo essencial obtido apresentou resultados promissores para sua aplicação como agente bio preservativo
DÓRIA <i>et al.</i> , 2010	A study of the larvicidal activity of two <i>Croton</i> species from northeastern Brazil against <i>Aedes aegypti</i> . / Um estudo da atividade larvicida de duas espécies de <i>Croton</i> do nordeste do Brasil contra <i>Aedes aegypti</i>	Experimental	O óleo essencial <i>Croton pulegioidorus</i> foi realizar um estudo de avaliação larvicida contra <i>Aedes aegypti</i> L. (Diptera: Culicidae) e estudados qualitativa e quantitativamente por GC e GC-MS. Os resultados da avaliação larvicida sugerem a existência de um efeito sinérgico de componentes menores nos óleos essenciais.
RIBEIRO, 2016	Caracterização química e atividades biológicas do óleo essencial de <i>Croton rudolphianus</i> Müll. Arg. (Euphorbiaceae). / Avaliação da atividade antibacteriana do óleo de <i>patchouli</i>	Experimental.	O óleo essencial (OE) das folhas de <i>Croton rudolphianus</i> , bem como os seus efeitos inseticida e repelente sobre <i>Sitophilus zeamais</i> , e atividade antimicrobiana contra bactérias fitopatogênicas. O OE de <i>C. rudolphianus</i> mostrou atividade antifitopatogênica contra cinco bactérias, <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>Carotovorum</i> , <i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Campestris</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Malvacearum</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Vitícola</i> .
YANG <i>et al.</i> , 2013	Evaluation of the antibacterial activity of <i>patchouli</i> oil. /	Experimental	O óleo de <i>patchouli</i> foi estudado usando a tecnologia de docking molecular e teste antimicrobiano in vitro. A tecnologia de docking molecular e o teste antimicrobiano in vitro informam que o óleo de <i>patchouli</i> tinha fortes efeitos antimicrobianos. Sobretudo, o pogostone e o álcool (-) - <i>patchouli</i> têm uma potente atividade antimicrobiana

COSTA; CARVALH O FILHO; DESCHAM PS, 2013	Rendimento e composição do óleo essencial de <i>patchouli</i> (Pogostemon cablin) conforme o tempo de extração.	Experimental	O <i>patchouli</i> possui óleo essencial nas folhas com utilização principalmente na indústria de perfumaria. O teor de pogostol reduz com o aumento do tempo de extração. O patchoulol, alfa-guaieno, alfa-bulneseno e seicheleno não sofrem influência do tempo de extração.
BANU, <i>et al.</i> , 2018	Effects of <i>patchouli</i> and cinnamon essential oils on biofilm and hyphae formation by <i>Candida</i> species. / Efeitos dos óleos essenciais de <i>patchouli</i> e canela no biofilme e na formação de hifas por espécies de <i>Candida</i> .	Experimental.	O presente trabalho explora os efeitos anti virulentos e antibiofilme de óleos essenciais de folhas sub exploradas de <i>patchouli</i> . O presente achado valida a eficácia dos OEs contra a virulência de <i>Candida</i> spp. Reduzindo a biomassa dos biofilmes pré-formados de todas as três cepas de <i>Candida</i> , o que foi apoiado por microscopia confocal. Interrompendo a camada de exopolissacarídeo das cepas de <i>Candida</i> , conforme mostrado por microscopia eletrônica de varredura.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Esse estudo revelou que estudar as atividades biológicas de representantes das famílias Asteraceae (*Achillea millefolium* e *Calendula officinalis*) e Lamiaceae (*Melissa officinalis* e *Origanum majorana*) Garcia-Risco *et al.* (2017), observaram que a espécie *M. officinalis* é rica em monoterpenos e sesquiterpenos com 7-12% de álcoois cíclicos. Pourghanbari *et al.* (2016) e Taherpour *et al.* (2012) encontraram resultados bem próximos ao observar a composição do óleo essencial de *Melissa officinalis*, chegando à conclusão de que o óleo da planta é composto principalmente por geranial, neral e citronelal.

Os principais compostos presentes nos óleos e extratos obtidos das folhas e flores de *Hyptis dilatata* Benth (Lamiaceae) foram α -pineno, β -pineno, limoneno, 3-careno, β -cariofileno, fenchona e cânfora, e o perfil fitoquímico dos extratos mostraram presença de cumarina, flavonoides, fenóis, saponinas, alcaloides. Em relação às atividades biológicas, tanto os extratos quanto os óleos apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, *Candida albicans* e *Salmonella typhimurium* (ALMEIDA *et al.*, 2017).

No estudo realizado por Bastos *et al.* (2020) ao analisarem a composição química do óleo essencial de *Piper nigrum* L por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (CM-MS), observaram que o *Piper nigrum* L é composto por cerca de 15 componentes, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, dentre eles os majoritários foram o β -cariofileno (28%), limoneno (15%), sabineno (11,4%). Costa *et*

al., (2020) demonstraram após a análise da composição química do óleo essencial in natura que os principais constituintes são o E-cariofileno (34,87%), sabineno (14,96%), silvestreno (14,17%) e α pineno (5,28%). O estudo é crucial uma vez que fornece uma alternativa nova para a utilização do produto natural.

Estudos como o de Esteves e Ecker *et al.* (2020) avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* frente às cepas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, que frequentemente têm sido associadas às infecções em seres humanos. O estudo indica a presença de monoterpenos, citronelal e isopulegol no óleo essencial de *E. urograndis*. A concentração inibitória mínima para as cepas de *E. coli* e *P. aeruginosa* foram de 256 $\mu\text{g/mL}$ e 16 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, indicando uma possível alternativa no tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais.

Em outros estudos realizados por Cardoso *et al.* (2019) e Alcantara *et al.* (2019), o *Eucalyptus urograndis* mostrou bastante efeito também contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* por meio do método de inoculação in vitro do disco de papel de Bauer e o método de difusão em ágar, porém os autores mencionam que a ação da substância é mais efetiva em gram-positivos como o *S. aureus*, sendo observada eficiente inibição do microrganismo em diluições de 1:100.

Ao estudar a composição química do óleo essencial de *Cymbopogon schoenanthus*, encontraram resultados semelhantes posto que a análise da constituição química por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (CG-EM) mostrou alta dominância de monoterpenos oxigenados (62,1%) seguido por sesquiterpenos oxigenados (21,6%), sendo a piperitona (59,1%) e o limoneno (13,7%) os seus constituintes em maior proporção (YAGI *et al.*, 2020).

Além de atividade antibacteriana, Malti *et al.*, (2020) mostraram em seu estudo que o OECS possui atividade antifúngica contra as espécies *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium oxysporum* com halos de inibição que ficaram entre $13,5 \pm 2,1$ mm e $32,5 \pm 0,7$ mm, porém os constituintes químicos principais do óleo encontrados nesse estudo foram o cis-p-mentano-2-en-1-ol (28,5%), trans-p-mentano-2-en-1-ol (16,3%), cis-etran-piperitols (8,5%).

Estudo realizados por Teneva *et al.* (2019) e HOU *et al.* (2019) objetivaram analisar a composição química e outras atividades biológicas do óleo essencial de *Citrus aurantium* e observaram que a os microrganismos gram-positivos (*Staphylococcus*

aureus, *Bacillus subtilis*) foram mais sensíveis quando comparados com os gram-negativos (*Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) testados, pois apresentaram áreas de inibição entre 9 e 21 mm com concentração inibitória mínima acima de 600 ppm.

No estudo realizado por Baldim *et al.* (2019) conseguiram encapsular o óleo essencial de *Lippia sidoides* em nanosistemas lipídicos por meio do processo de emulsificação por inversão de fase. Foram criadas formulações contendo o OE puro, o timol (seu constituinte principal) é a base lipídica carregada com o óleo essencial para a avaliação da atividade antifúngica frente à *Candida albicans*. Foi observado que tanto o óleo puro como a base contendo o óleo carregado apresentaram inibição micelial significativa, com concentrações que variaram entre 156 e 312 µg / mL. Os autores mencionam a importância do estudo como ponto de partida para novas pesquisas para a formação nova de sistemas antimicrobianos promissores, podendo ser empregado em várias áreas da indústria. Moraes *et al.*, (2012) constataram após realizarem a análise dos constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia sidoides*, que o mesmo possui o 1,8 cineol, um monoterpene oxigenado como o principal componente (26,67%), seguido por isoborneol (14,60%) e acetato de bornila (10,77%).

No entanto Rocha *et al.*, (2020) ao fazer a análise da composição química do OECP observaram que o acetato de crisantenila (27,05%), α-terpineno (19,21%) e o-cimeno (12,27%) foram os compostos mais prevalentes, e além disso o composto apresentou atividade antimicrobiana tanto em cepas padronizadas, como em isolados clínicos de *S. aureus*, apresentando concentração inibitória mínima acima de 8.000 µg/mL. De acordo com Ribeiro *et al.*, (2016) o óleo essencial de *Croton rudolphianus* possui o metil chavicol (20,55%), seguido de (E)- cariofileno (11,21%), biciclogermacreno (10,23%), germacreno D (7,51%) como constituintes majoritários e apresentou ação antibacteriana contra *Xanthomonas campestris*, *Pectobacterium carotovorum*, *Xanthomonas campestris*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas campestris*, com valores de concentração inibitória mínima e máxima de de 1,56 e 25 µL/mL (para *Ralstonia solanacearum* e *Pectobacterium carotovorum*, nessa ordem).

Ao estudar a composição química do OEPC e a interferência do tempo de extração na quantificação dos metabólitos secundários, Costa *et al.* (2013) observaram que em todas as frações de tempo observadas, os componentes majoritários foram o patchoulol (55,74% a 64,81%), alfa-bulneseno (5,01% a 8,99%), pogostol (4,20% a 5,11%). Há relato também de atividade antifúngica do óleo essencial de Patchouli (*Pogostemon*

cablin), Banu *et al.*, (2018) mostraram em seu estudo a ação inibitória frente ao biofilme de três espécies de *Candida spp* com atividade totalmente dependente da concentração utilizada.

Considerações Finais

Esse estudo revelou que a ação dos óleos essenciais de várias espécies de plantas no crescimento microbiano frente a várias espécies de bactérias e fungos. Assim como a sua devida composição química com uma diversidade de compostos bioativos entre os seus constituintes químicos e fitoquímicos.

As espécies que foram encontradas na região nordeste (*Cymbopogon schoenathus*, *Piper nigrum L.*, *Lippia sidoides*, *Hyptis dilatata benth*, *Citrus aurantiu*, *Cróton pulegioidorus*, *Melissa officinalis*, *Eucalyptus urograndis e Patchouli*), que foram o foco do trabalho resultando em 23 artigos, em que essas espécies são bastante típicas no nordeste brasileiro, evidenciando que os derivados vegetais podem ser uma grande alternativa em potencial, eficaz para o enfrentamento da resistência aos antimicrobianos, ao tratamento de infecções tópicas e sistêmicas, e seus empregos na indústria de alimentos como agentes conservantes.

Porém ainda são necessários mais estudos em modelos *in vitro* e *in vivo*, para que haja um melhor entendimento em relação aos mecanismos de ação desses produtos e avaliação da segurança e eficácia.

Referências

ALMEIDA, S. P. *et al.* **Estudos químicos e biológicos dos óleos essenciais e extratos de Hyptis dilatata Benth (Lamiaceae), procedentes da Serra do Tepequém-Amajari/Roraima.** 2017.

AZEVEDO, F. L. A. A. **Valor nutricional, capacidade antioxidante e utilização de folhas de espinafre (*Tetragonia tetragonoides*) em pó como ingrediente de pão de forma.** 130 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

BALDIM, I. *et al.* Lippia sidoides essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 73-81, 2019.

BANU, S. F. *et al.* Effects of patchouli and cinnamon essential oils on biofilm and hyphae formation by Candida species. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 28, n. 2, p. 332-339, 2018.

CARDOSO, R. C. *et al.* Potencial Antimicrobiano do Óleo da Folha de *Eucalyptus urograndis* Frente *Stafilococcus aureus*. ID on line **Revista de Psicologia**, v. 13, n. 43, p. 989-1002, 2019.

CAROCHO, M. *et al.* Melissa officinalis L. decoctions as functional beverages: a bioactive approach and chemical characterization. **Food & function**, v. 6, n. 7, p. 2240-2248, 2015.

CRUZ, B. C. *et al.* Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 µg/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 207, n. 3-4, p. 309-317, 2015

ESTEVES, F. M.; ECKER, A. B. S. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em cepas padrão de bacilos gram negativos. **Revista Uningá**, v. 57, n. 1, p. 11-23, 2020.

GOLDBECK, J. C. *et al.* Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 304-309, 2014.

GARCÍA-RISCO, M. R. *et al.* Biological activities of Asteraceae (*Achillea millefolium* and *Calendula officinalis*) and Lamiaceae (*Melissa officinalis* and *Origanum majorana*) plant extracts. **Plant foods for human nutrition**, v. 72, n. 1, p. 96-102, 2017.

HASHIM, G. M. *et al.* Biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 7, p. 1458-1464, 2017.

INÁCIO, M. C.; PAZ, T. A.; BERTONI, B. W.; VIEIRA, M. A. R.; MARQUES, M. O.; PEREIRA, A. M. S. Histochemical investigation of *Cochlospermum regium*(Schrank) Pilg. Leaves and chemical composition of its essential oil. **Natural Product Research**, v. 28, n. 10, p. 727-731, 2014.

MAGALHÃES, C. R. I. *et al.* Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, sup. III, p. 1150 – 1158, 2015.

MALTI, C. E. W. *et al.* Composition, chemical variability and biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil from Central Algeria. **Chemistry & Biodiversity**, 2020.

METOU, N. *et al.* Activity antifungal of the essential oils; aqueous and ethanol extracts from *Citrus aurantium* L. **Natural product research**, v. 29, n. 23, p. 2238-2241, 2015.

PEREIRA, C. T. M. *et al.* Microbiology quality, detection of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and Coalho cheese. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 5, p. 1.957-1.968, set./out. 2018.

POURGHANBARI, G. *et al.* Antiviral activity of the oseltamivir and *Melissa officinalis* L. essential oil against avian influenza A virus (H9N2). **Virus Disease**, v. 27, n. 2, p. 170-178, 2016.

REZENDE, D. A. C. S. **Óleos essenciais de *Satureja montana* L., *Myristica fragrans* H. e *Cymbopogon flexuosus*: extração, caracterização química e avaliação das atividades biológicas.** 125 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020.

RIBEIRO, I. A. T. A. **Caracterização química e atividades biológicas do óleo essencial de *Croton rudolphianus* Müll. Arg.(Euphorbiaceae).** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2016.

ROCHA, R. R. **Estudo comparativo sobre a composição química, atividade antibacteriana e efeito sinérgico dos óleos essenciais de *Croton tetradenius* Baill. e *C. pulegioides* Baill. Contra isolados de *Staphylococcus aureus*.** 2020.

SUNTAR, I.; KHAN, H.; PATEL, S.; CELANO, R.; RASTRELLI, L. An Overview on *Citrus aurantium* L.: Its Functions as Food Ingredient and Therapeutic Agent. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2, may. 2018.

SUNTAR, I. *et al.* An overview on *Citrus aurantium* L.: its functions as food ingredient and therapeutic agent. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, 2018.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D. *et al.* Control of *Staphylococcus aureus* biofilms by the application of single and combined treatments based in plant essential oils. **International journal of food microbiology**, v. 286, p. 128-138, 2018.

VIEIRA, F. A. P. **Estudo químico e avaliação da atividade microbiológica do óleo essencial das folhas de *Hyptis dilatata* Benth.** 2018.

YANG, X. *et al.* Evaluation of the antibacterial activity of patchouli oil. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 12, n. 3, p. 307, 2013.

YANG, X. *et al.* Evaluation of the antibacterial activity of patchouli oil. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 12, n. 3, p. 307, 2013.

CAPÍTULO 3

TESTES ANTIOXIDANTES EM FLAVONOIDES DE RECURSOS NATURAIS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

ANTIOXIDANT TESTS ON FLAVONOIDS OF NATURAL RESOURCES: A INTEGRATIVE REVIEW

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.03>

Submetido em: 06/06/2022

Revisado em: 16/06/2022

Publicado em: 24/06/2022

Manoela Cavalcante Ribeiro

Centro Universitário UNIFACID, Pós-graduanda em Farmacologia Clínica/ Prescrição Farmacêutica e Farmácia Hospitalar– Teresina-Piauí.

<http://lattes.cnpq.br/3883022215150444>

Fernanda Arias de Almeida Macedo

Centro Universitário UNIFACID, Especialização em Farmácia Hospitalar com Ênfase em Farmácia Clínica e Gestão – Teresina-Piauí.

<http://lattes.cnpq.br/2159614718438070>

Anny Louisy de Sousa Macêdo

Centro Universitário UNIFACID, Farmacêutica – Teresina-Piauí.

<http://lattes.cnpq.br/0796150705273237>

Alice Lima Rosa Mendes

Universidade de Brasília, Pós-graduanda em Nanociência e Nanobiotecnologia, Brasília-DF

<http://lattes.cnpq.br/0937593399537592>

Mayara Ladeira Coêlho

Centro Universitário UNIFACID, Doutora em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO – Teresina-Piauí

Resumo

Os flavonoides são compostos de natureza fenólica e são caracterizados por sua forte atividade antioxidante, uma propriedade importante extraída em algumas espécies de plantas, sendo utilizados na proteção dos organismos vivos aos radicais livres, com função fisiológica nos mecanismos de sinalização celular, eliminação de germes, entre outras ações. O trabalho proposto tem como objetivo realizar uma revisão integrativa para analisar as metodologias utilizadas para testar a capacidade antioxidante de flavonoides. A revisão da literatura foi realizada nas bases de dados Scielo, Pubmed e Lilacs, que foi realizada no período de Agosto e Setembro de 2019, selecionando artigos entre os anos de 2015 e 2019 com os descritores “flavonoids” e “antioxidante”. Foram elaboradas tabelas descrevendo o 1ª autor, título, objetivo e a base de dados dos artigos selecionados. As metodologias para o isolamento e atividade antioxidante são diversas, tendo como as mais utilizadas e validadas: cromatografia em camada analítica, HUCSE, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), DPPH, ABTS, FRAP (Poder antioxidante ferro-redutor).

Palavras-chaves: Radicais livres; Oxidação; Cromatografia

Abstract

Activity, an important property extracted in some plant species, being used in the protection of living organisms against free radicals, with physiological function in the mechanisms of cellular signaling, elimination of germs, among other actions. The proposed work aims to carry out a integrative review to analyze the methodologies used to test the antioxidant capacity of flavonoids. The literature review was carried out in the Scielo, Pubmed and Lilacs databases, which was carried out between August and September 2019, selecting articles between the years 2015 to 2019 with the descriptors "flavonoids" and "antioxidant ". Tables were drawn up describing the 1st author, title, objective and the database of the selected articles. The methodologies for isolation and antioxidant activity are diverse, having as the most used and validated: chromatography in analytical layer, HUCSE, high performance liquid chromatography (HPLC), DPPH, ABTS, FRAP (Iron-reducing antioxidant power).

Keywords: Free radicals; Oxidation; Chromatography.

Introdução

Os flavonoides são compostos de natureza fenólica e são caracterizados por sua forte atividade antioxidante, uma propriedade importante presente nas plantas, utilizadas na proteção dos organismos vivos contra os radicais livres, pois possuem as funções fisiológicas nos mecanismos de sinalização celular, eliminação de germes, entre outras ações, mas são instáveis e extremamente reativos, combinados de maneira inespecífica na maioria dos casos, de modo a prejudicar a diversidade de moléculas que integram a estrutura celular (FERRER, 2017).

Polifenóis e flavonoides funcionam como reagentes quimio-preventivos contra espécies reativas de oxigênio induzem a danos oxidativos e inibem as enzimas hidrolisantes de carboidratos. Eles são comumente encontrados em nozes, vegetais, frutas e chás (IBRAHIM, 2017).

Segundo os órgãos de saúde pública como OMS a utilização extensiva de antioxidantes sintéticos e sua ingestão prolongada pode ser associado com aparecimento

de doenças. A pesquisa por antioxidantes naturais é uma nova tendência de mercado fármaco e industrial, pois, além de manter as propriedades organolépticas e químicas de alimentos, também são associados a manutenção de saúde e prevenção de doenças (FERREIRA, 2016).

Atividade de radicais livres, fatores químicos e físicos são responsáveis pelo envelhecimento celular, esse processo fisiológico causa patologias como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, artrite, mal de Parkinson e Alzheimer, entre outros. Os agentes antioxidantes podem servir como fatores defensivos contra radicais livres no corpo humano (ZARATE, 2018).

Dessa forma, o estudo proposto teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica para analisar as metodologias utilizadas para testar a capacidade antioxidante de flavonoides.

Metodologia

Esse trabalho foi elaborado a partir de uma revisão da literatura nas bases de dados Scielo, Pubmed e Lilacs. A pesquisa foi realizada no período de agosto e setembro de 2019. Foram selecionados artigos entre os anos de 2015 e 2019. Os descritores utilizados “flavonoids” e “antioxidant”. Os critérios de inclusão foram: artigos publicados nos periódicos indexados, publicações cuja os termos indexadores constam no título ou resumo das pesquisas e publicações dentro do período estipulado para pesquisa. E os critérios de exclusão foram artigos publicados antes de 2015, artigos em um idioma diferente do inglês, português e espanhol e apenas artigos que possuíssem os descritores no título e resumo.

Os resumos foram lidos e os artigos que atenderam aos critérios na íntegra. Foi desenvolvido um instrumento de coleta de informações para responder à questão de pesquisa desta revisão, composto pelos seguintes itens: autor, ano de publicação, título, objetivo e a base da publicação. Os dados foram apresentados em forma de tabela. Após a leitura dos artigos selecionados, foi realizada uma análise e organização. A análise, categorização e síntese dos temas foi realizado com o propósito de obter a melhor descrição e classificação dos resultados, após a leitura dessas publicações houve a constatação da sua relevância científica para o presente estudo.

Resultados e Discussão

Somando-se todas as bases de dados, foram encontrados 91 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 48 artigos para a leitura completa e exclusão dos que não condizem ao propósito deste estudo, sendo a maior quantidade de exclusões referentes à não coerência do título com o objetivo do estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado da busca nas bases dados e seleção de artigos pertinentes.

<i>Base de dados</i>	Total artigos encontrados	Artigos aceitos após leitura Título e Resumo
<i>SCIELO</i>	18	12
<i>PUBMED</i>	61	29
<i>LILASC</i>	12	7

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Após análise detalhada e minuciosa dos artigos, foi feita uma nova eliminação. Visto que após a leitura dos artigos completos os objetivos relatados destes não coincidiam com o objetivo desta revisão. A (Tabela 2) demonstra os artigos que sobraram para análise detalhada.

Tabela 2. Resultado da análise nas bases dados e seleção de artigos pertinentes após leitura completa.

<i>Base de dados</i>	Artigos aceitos após leitura Título e Resumo	Artigos aceitos após leitura completa
<i>SCIELO</i>	12	2
<i>PUBMED</i>	29	9
<i>LILASC</i>	7	3

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Com a leitura total dos artigos selecionados, elaborou-se a (Tabela 3.1) e (Tabela 3.2) constando autor/ano, título, objetivo e a base de dados onde os artigos foram obtidos.

Tabela 3.1. Artigos selecionados relacionados por autor/ano, título, objetivo e base.

1º AUTOR/ ANO	TÍTULO	OBJETIVO	BASE
HU, 2017	Os flavonoides antioxidantes e anti-inflamatórias das flores de Chuju, um cultivar de Medicina do crisântemo Morifolim Ramat.	Isolamento de 16 tipos de flavonoides e suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias.	Scielo
GONZÁLEZ, 2016	Evaluation of the antioxidant activity of the flavonoids isolated from <i>heliotropium sinuatum</i> resin using orac _{fl} , dpph and esr methodologies	Isolar os flavonoides da <i>Heliotropium sinuatum</i> e posteriormente avaliar a atividade antioxidante dos flavonoides	Scielo
ZHOU, 2019	Simultaneous Optimization for Ultrasound-Assisted Extraction and Antioxidant Activity of Flavonoids from <i>Sophora flavescens</i> Using Response Surface Methodology	Investigar o processo de extração assistida por ultrassom e a atividade antioxidante dos flavonoides de <i>Sophora flavescens</i> .	Pubmed
ZHANG, 2019	Identification and Antioxidant Activity of Flavonoids Extracted from Xinjiang Jujube (<i>Ziziphus jujube</i> Mill.) Leaves with Ultra-High Pressure Extraction Technology	Investigar o potencial do UHPE na extração de flavonoides por XJL, o efeito da extração temperatura, tempo, pressão e a relação líquido / sólido no desempenho dos processos de UHPE, o rendimento de flavonoides e a atividade antioxidante.	Pubmed
LI, 2019	3',8''-Dimerization Enhances the Antioxidant Capacity of Flavonoids: Evidence from Acacetin and Isoginkgetin	Investigar o efeito da degradação de 3',8 nos flavonoides antioxidantes, acacetina e seu dímero de 3',8'' a isoginkgetina. através de ensaios antioxidantes.	Pubmed
BALDIM, 2017	The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids	Investigar se existe uma associação entre uma série de 40 flavonoides e seus antiparasitários, antioxidantes, e propriedades pró-oxidantes.	Pubmed

ZHANG, 2016	Chemical and Cellular Assays Combined with <i>In Vitro</i> Digestion to Determine the Antioxidant Activity of Flavonoids from Chinese Bayberry (<i>Myrica rubra</i> Sieb. et Zucc.).	Investigar os antioxidantes e anti-câncer propriedades dos flavonoides das folhas de louro chinês (<i>Myrica rubra</i> Sieb. et Zucc.).	Pubmed
--------------------	---	--	--------

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Tabela 3.2. Artigos selecionados relacionados por autor/ano, título, objetivo e base.

1º AUTOR/ ANO	TÍTULO	OBJETIVO	BASE
LIU, 2019	Application of a combined homogenate and ultrasonic cavitation system for the efficient extraction of flavonoids from <i>cinnamomum camphora</i> leaves and evaluation of their antioxidant activity <i>in vitro</i>	Realizar a extração de flavonoides das folhas de <i>c. Camphora</i> e posteriormente avaliar a atividade antioxidante <i>in vitro</i> .	Pubmed
TIAN, 2019	Extraction technology, component analysis, antioxidant, antibacterial, analgesic and anti-inflammatory activities of flavonoids fraction from <i>Tribulus terrestris</i> L. leaves	Otimizar a extração de flavonoides da <i>Tribulus terrestris</i> L. e avaliar seus efeitos antioxidantes, antibacteriano, analgésico e antiinflamatório	Pubmed
ZHU, 2015	Analysis of Flavonoids in Lotus (<i>Nelumbo nucifera</i>) Leaves and Their Antioxidant Activity Using Macroporous Resin Chromatography Coupled with LC-MS/MS and Antioxidant Biochemical Assays	Análise minuciosa dos flavonoides dos flavonoides extraídos de folhas de Lotus (<i>Nelumbo nucifera</i>) e avaliar a atividade antioxidante	Pubmed
ZHANG, 2016	Antioxidant Activities and Chemical Constituents of Flavonoids from the Flower of <i>Paeonia ostii</i>	Isolar os principais flavonoides da <i>P. ostii</i> e avaliar atividade antioxidante	Pubmed
ALVES, 2017	Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits	Avaliar o teor de compostos de ácido ascórbico e fenólicos no total para correlacionar a capacidade antioxidante e	Lilacs

		identificar o teor de flavonoides.	
GWATIDZO, 2018	TLC separation and antioxidant activity of flavonoids from <i>Carissa bispinosa</i> , <i>Ficus sycomorus</i> , and <i>Grewia bicolor</i> fruits	Isolar flavonoides <i>Carissa bispinosa</i> , <i>Ficus sycomorus</i> , <i>grewia bicolor</i> fruits e determinar sua atividade antioxidante	Lilacs
BUSTAMANTE, 2015	TLC separation and antioxidant activity of flavonoids from <i>Carissa bispinosa</i> , <i>Ficus sycomorus</i> , and <i>Grewia bicolor</i> fruits	Avaliar comparando a quantidade de fenóis totais, flavonoides e a capacidade antioxidante dos extratos de etanol (EETs) de folhas de murtilla	Lilacs

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

No estudo realizado por (HU, 2015) foi feito o isolamento de 16 tipos de flavonoides presente na flor de *Chrysanthemum morifolium* cv. Chuju através de um estudo químico dirigido, que se caracterizaram como: uercetina (1), isorhamnetina 3-O-b-D-glucósido (2), eriodictyol (3), piracantósido (4), apigenina (5), apigetrina (6), acacetina (7), acacipetalina (8), luteolina (9), diosmetina (10), espinacetina (11), axilarina (12), bonanzina (13), cirsiolol (14), crisossplenol D (15) e artemetina (16). Onde os flavonoides de 11 a 16 foram descritos pela primeira vez nesta espécie. Demonstraram alta capacidade antioxidante através do teste de captação do radical 2,2- difenil- 1-picrilhidrazilo (DPPH).

Estudos relatam metodologias para testes antioxidantes em flavonoides através dos métodos de (CU,2017) DPPH, assay and the 2,2'-azino bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic Acid (ABTS+). Através do teste ABTS foi constatado que tanto o flavonoide acacetina quanto o isoginkgetina aumentam significativamente a capacidade antioxidante. Os ensaios relataram boa atividade antioxidante realizados em ambos os testes descritos (GONZÁLEZ,2016) e (ZHOU, 2019).

No artigo de González (2016), os flavonoides foram isolados utilizando dois meios de reação, através do método de DPPH (sistema homogêneo) e uma solução micelar de Triton X-100 (sistema micro heterogêneo). E a capacidade antioxidante foi avaliada através da técnica de ESR, ORAC e branqueamento do radical DPPH. O composto *7-o-methyleriodictiol* teve a maior capacidade antioxidante. Essa característica é constituída por causa da quantidade do grupo hidroxila e uma ligação dupla entre as posições C2 e C3 do anel C.

Nos trabalhos de Gwatidzo (2017), Liu (2019), Zhu (2015) e Zhang (2019), os flavonoides foram isolados por diversos métodos, como por exemplo, cromatografia em camada analítica, HUCSE, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a partir dos isolados foram realizados os testes para atividade antioxidante através de ABTS, DPPH, FRAP (Poder antioxidante ferro-redutor). Com sua capacidade antioxidante, podem contribuir significativamente para a saúde humana, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, além de seus efeitos biológicos como antibacteriano, antiviral, anti-inflamatório, antialérgico e vasodilatador.

Considerações Finais

Esta revisão confirma a atividade antioxidante atribuída aos radicais fenólicos presentes na estrutura dos compostos flavonoides obtidos através dos extratos vegetais, substâncias essas atribuídas a grande importância benéfica para o organismo dos seres vivos pela sua capacidade de combater os radicais livres, que geram processos fisiológicos responsáveis pelo envelhecimento celular, causando diversas patologias. Não podem ser avaliados por apenas um método devido à sua natureza complexa, e todas as metodologias utilizadas demonstraram eficácia e validação ao comprovarem a alta atividade antioxidante dos flavonoides isolados e sua importância como fonte potencial em recursos naturais.

Referências

- ALVES AM, DIAS T, HASSIMOTTO NM, NAVES MMV et al. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food. S. Ci. Technol.** 2017;37(4):564-569.
- BALDIM J, Alcântara BGV, Domingos OS, Soares MG, Caldas IS, Novaes RD. et al. The Correlation between Chemical Structures and Antioxidant, Prooxidant, and Antitrypanosomatid Properties of Flavonoids. **Oxid. Med. Cell. Longev.** 2017;2017:3789856.
- BUSTAMANTE PDV. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *Ugni molinae* Turcz [thesis]. **Chile: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular;** 2015. 83 p.
- FEFER G, Muñoz REO, Llanos BR, Zúñiga RJR, Cárdenas JLV, Contreras J. et al. Flavonoide de trece especies del género *Bursera* com potencial antioxidante. **Rev Polibotanica.** 2017;(44):185-196.

FERREIRA TS, HELDWEIN AB, SANTOS CO, SOMAVILLA JC, SAUTTER CK. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erveiras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Rev. Bras. Pl. Med.** 2016;18 Suppl 2:S588-596.

GONZÁLEZ GB, Chamorro E, Salinas M, Modak B, Olea-Azar C. Evaluation of the antioxidant activity of the flavonoids isolated from *Heliotropium sinuatum* resin using ORACFL, DPPH and ESR methodologies. **J. Chil. Chem. Soc.** 2016;61(3):3125-3129.

GWATIDZO L, DZOMBA P, MANGENA M. TLC separation and antioxidante activity of flavonoids from *Carissa bispinosa*, *Ficus sycomorus*, and *Grewia bicolor* fruits. **Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.** 2018;43:1020.

HU J, Ma W, Li N, Wang KJ. Antioxidant and Anti-Inflammatory Flavonoids from the Flowers of Chuju, a Medical Cultivar of *Chrysanthemum Morifolium* Ramat. **J. Mex. Chem. Soc.** 2017;61(4):282-289.

IBRAHIM S, Abdulrahman A, Amgad K, Gamal M. Antioxidant-amylase inhibitors flavonoids from *Iris germanica* rhizomes. **Rev. Bras. Farmacogn.** 2017:170-174.

LI X, Ouyang X, Cai R, Chen D. 3',8"- Dimerization Enhances the Antioxidant Capacity of Flavonoids: Evidence from Acacetin and Isoginkgetin. **Molecules.** 2019;24(1):2039.

LIU Z, Kong L, Lu S, Zou Z. Application of a Combined Homogenate and Ultrasonic Cavitation System for the Efficient Extraction of Flavonoids from *Cinnamomum camphora* Leaves and Evaluation of Their Antioxidant Activity In Vitro. **J. Anal. Methods. Chem.** 2019;2019:4892635.

TIAN C, Chang Y, Zhang Z, Wang H, Xiao S, Cui S et al. Extraction technology, component analysis, antioxidant, antibacterial, analgesic and anti-inflammatory activities of flavonoids fraction from *Tribulus terrestris* L. leaves. **Heliyon.** 2019;5(8):02234.

ZARATE MSH, JUÁREZ MRA, GARCÍA AC, LÓPEZ CO, CHÁVEZ AJG, GARFIAS JJN, RAMOS FA. Flavonoids, phenolic content, and antioxidante activity of própolis from various áreas of Guanajuato, Mexico. **Food Sci. Technol.** 2018:201-215.

ZHANG Y, Chen S, Wei C, Gong H, Li L, Xingqian Y. Chemical and Cellular Assays Combined with In Vitro Digestion to Determine the Antioxidant Activity of Flavonoids from Chinese Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) Leaves. **PLOS ONE.** 2016;11(12):0167484.

ZHANG H, Wu K, Wang M, Liu P, Wang X, Deng R et al. Antioxidant Activities and Chemical Constituents of Flavonoids from the Flower of *Paeonia ostii*. **Molecules.** 2016;22(1):5.

ZHANG L, Li L, Huang Y, Yunfeng P, Hou X, Song L et al. Identification and Antioxidant Activity of Flavonoids Extracted from Xinjiang Jujube (*Ziziphus jujube* Mill.) Leaves with Ultra-High Pressure Extraction Technology. **Molecules.** 2019;24(1):122.

ZHOU J, Zhang L, Li Q, Jin W, Chen W, Han J, Zhang Y. Simultaneous Optimization for Ultrasound-Assisted Extraction and Antioxidant Activity of Flavonoids from *Sophora flavescens* Using Response Surface Methodology. **Molecules**. 2019;24(1):112.

ZHU MZ, Wu W, Jiao L, Yang PF, Guo MQ et al. Analysis of Flavonoids in Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaves and Their Antioxidant Activity Using Macroporous Resin Chromatography Coupled with LC-MS/MS and Antioxidant Biochemical Assays. **Molecules**. 2015;20:10553-10565.

CAPÍTULO 4

EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DA *Arrabidaea chica*
(Humb. & Bonpl.) B. Verl

ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF *Arrabidaea chica*
(Humb. & Bonpl.) B. Verl

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.04>

Submetido em: 14/02/2022

Revisado em: 16/06/2022

Publicado em: 24/06/2022

Silvânia Narielly Araújo Lima

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Cuité-PB

<http://lattes.cnpq.br/4848390450941924>

Amanda Geovana Pereira de Araújo

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Cuité-PB.

<http://lattes.cnpq.br/3946322725458190>

Tainá Oliveira de Araújo

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Cuité-PB

<http://lattes.cnpq.br/8031037065925876>

Anne Wirginne de Lima Rodrigues

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Cuité-PB

<http://lattes.cnpq.br/0355598894423144>

Igor Luiz Vieira de Lima Santos

Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Cuité-PB

<http://lattes.cnpq.br/6976858979875527>

Resumo

O uso de anti-inflamatórios está aumentando a cada dia, no entanto, muitos deles são formulados com base sintética, causando diversos efeitos colaterais. Com isso, vê-se a importância da utilização de produtos naturais, os quais apresentam diversas propriedades e causam menos efeitos colaterais. Dentre os produtos

naturais destaca-se a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl devido às suas diversas propriedades benéficas, especialmente pelo efeito anti-inflamatório do seu extrato. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a potente atividade anti-inflamatória do extrato da *A. chica*. Para tal, foram utilizados diferentes bancos de dados, como SciELO, MEDLINE, PubMed, dentre outros, para seleção dos trabalhos em diferentes idiomas. Diversos estudos demonstraram que as antocianinas, que são flavonoides, presentes na *A. chica* fazem com que essa planta apresente diversas propriedades, em especial, uma potente atividade anti-inflamatória, por diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias enquanto aumenta a produção da citocina anti-inflamatória e imunossupressora. Além disso, estudos também revelaram que o extrato dessa planta tem um maior efeito anti-inflamatório, confirmando o que vem sendo descrito na medicina popular. Portanto, os resultados obtidos neste trabalho estimulam o desenvolvimento de futuros estudos sobre plantas medicinais, especialmente sobre a *A. chica*, a fim de elucidar os mecanismos de ação envolvidos nas atividades anti-inflamatórias identificadas, além de reforçar suas potentes ações terapêuticas.

Palavras-Chave: Anti-inflamatórios, Atividade; Fitoquímico; Plantas.

Abstract

The use of anti-inflammatories is increasing every day, however, many of them are formulated with a synthetic base, causing several side effects. With this, we see the importance of using natural products, which have different properties and cause fewer side effects. Among the natural products, *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) stands out due to its many beneficial properties, especially the anti-inflammatory effect of its extract. Therefore, the objective of this work was to carry out a literature review on the potent anti-inflammatory activity of the extract of *A. chica*. To this end, different databases were used, such as SciELO, MEDLINE, PubMed, among others, to select works in different languages. Several studies have shown that anthocyanins, which are flavonoids, present in *A. chica* make this plant have several properties, in particular, a potent anti-inflammatory activity, by decreasing the production of pro-inflammatory cytokines while increasing the production of the anti-inflammatory cytokine. -inflammatory and immunosuppressive. In addition, studies have also revealed that the extract of this plant has a greater anti-inflammatory effect, confirming what has been described in folk medicine. Therefore, the results obtained in this work stimulate the development of future studies on medicinal plants, especially on *A. chica*, in order to elucidate the mechanisms of action involved in the identified anti-inflammatory activities, in addition to reinforcing their potent therapeutic actions.

Keywords: Anti-inflammatories, Activity; Phytochemical; Plants.

Introdução

A resposta inflamatória é um dos primeiros mecanismos de proteção da homeostase, envolvendo células e moléculas secretadas, que visam eliminar agentes invasores que causam danos iniciais teciduais, eliminação de células e tecidos necróticos. Embora as inúmeras vantagens ao corpo, quando desregulada torna-se prejudicial para o meio interno e pode ser fatal se perdurar por muito tempo (UBIERA, 2021).

Os principais participantes da inflamação são as células imunes que possuem uma infundável margem de ação biológica e fisiológica, que segue regendo e mediando a interação entre os organismos e o meio externo (SCRIVO *et al.*, 2011; UBIERA, 2021). As células imunes e não imunes podem expressar proteínas de uma família conhecida como Receptores de Reconhecimento de Padrões (do inglês *Pattern Recognition Receptors*, ou *PRRs*) que participam ativamente da patogênese de diversas doenças e promovem o início da cascata de eventos da resposta inflamatória (SCRIVO *et al.*, 2011).

Os PRRs identificam antígenos não próprios e outras mensagens nocivas ao organismo, sendo assim, possuem finalidade de manter equilíbrio e proteger hospedeiros contra a ampla diversidade de microrganismos aos quais os seres humanos estão expostos (SCRIVO *et al.*, 2011).

Quando um antígeno não-próprio ou um sinal resultante de uma interação patológica atinge o meio interno, passa a ser exposto às estratégias de reconhecimento. Na primeira estratégia, as células e moléculas da imunidade atuam na eliminação de um antígeno reconhecido como não-próprio, na ativação do complemento, fagocitose, netose e degradação proteolítica (GROH *et al.*, 2018).

Por diferentes mecanismos, a imunidade inata tem um papel essencial na montagem da resposta imune, com a participação de moléculas e células, sendo as células centrais os neutrófilos e macrófagos. As moléculas secretadas no processo inflamatório comandam a migração e a resposta das células, dentre elas estão as citocinas, as principais são IL-10 (Interleucina-10), IL-1 β , IL-6 e TNF α (Fator de Necrose Tumoral), que apresentam características anti-inflamatórias e pró-inflamatórias, e diferentes vias de liberação que controlam a secreção dessas moléculas (KIRIPOLSKY; MCCABE; KRAMER, 2017; MESHKANI; VAKILI, 2016).

Existem vastos relatos sobre a gama de aplicações dos produtos naturais devido aos seus efeitos antioxidantes, antibióticos e anti-inflamatórios (KISHORE, *et al.* 2019; UBIERA, 2021). Além disso, muitas drogas importantes desenvolvidas na medicina moderna foram derivadas de produtos naturais, como a aspirina, quinina, vincristina, vimblastina, dentre outros (PATEL, PATEL, 2017).

O uso terapêutico de plantas ao longo da história baseou-se no conhecimento intuitivo e especulativo dos seres humanos, que aprenderam a diferenciar com o passar do tempo as ervas benéficas daquelas tóxicas à saúde (FERREIRA *et al.*, 2019). No Brasil, cerca de 82% da população brasileira emprega produtos à base de plantas medicinais nos seus cuidados com a saúde, tanto por meio da medicina tradicional quanto popular, com a transmissão entre gerações, ou até mesmo nos sistemas oficiais de saúde, como prática de cunho científico, orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2012; DRESCH; LIBÓRIO; CZERMAINSKI, 2021).

Dentre as plantas medicinais, a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. tem se destacado devido às suas diversas propriedades benéficas e ao crescente aumento da

sua utilização na medicina tradicional. Como mostrado na Figura 1, de forma geral, essa planta pertence à classe Magnoliopsida e subclasse *Asteridae*, sendo da família *Bignoniaceae* e é nativa da Amazônia. A *Arrabidaea chica* recebe diferentes nomes regionais, como crajiru, capiranga, cajuru, chica, cipó-pau, crajiru, etc. (CORTEZ DE SÁ *et al.*, 2016; JORGE *et al.*, 2008; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Figura 1: Taxonomia da *Arrabidaea chica*.

***Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verl.**

Taxonomic Serial No.: 34330

[Download TWB](#) [Download Dwc-A](#) [\(Download Help\)](#) *Arrabidaea chica* TSN 34330

Taxonomy and Nomenclature	
Kingdom:	Plantae
Taxonomic Rank:	Species
Synonym(s):	
Common Name(s):	cricketvine [English]
Taxonomic Status:	
Current Standing:	accepted
Data Quality Indicators:	
Record Credibility Rating:	verified - standards met
Taxonomic Hierarchy	
Kingdom	Plantae – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	Viridiplantae – green plants
Infrakingdom	Streptophyta – land plants
Supradivision	Embryophyta
Division	Tracheophyta – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	Spermatophytina – spermatophytes, seed plants, phanerogames
Class	Magnoliopsida
Superorder	Asteranae
Order	Lamiales
Family	Bignoniaceae – bignonias
Genus	Arrabidaea DC.
Species	<i>Arrabidaea chica</i> (Humb. & Bonpl.) Verl. – cricketvine

Fonte: IRTIS - REPORTER, 2022.

Apesar de ser uma planta comum na região da Amazônia, é bastante utilizada na medicina popular em diversas regiões brasileiras, tanto por meio de chás e banhos, quanto por compressas de suas folhas, para ajudar na cicatrização de feridas, tratar inflamações, doenças gastrointestinais, leishmanias, enterocolites, anemias e infecções ginecológicas, (SIRAICHI *et al.*, 2013; SANTOS, 2015). Ela também é muito utilizada em rituais, principalmente como corante para pele e árvores (SIRAICHI *et al.*, 2013).

A *Arrabidaea chica* é rica em antocianinas, que são flavonoides estruturalmente relacionados com a flavona. Os flavonoides são metabólitos secundários encontrados em plantas e frutas coloridas, flores, raízes e folhas com pigmentos hidrossolúveis, os quais são responsáveis pela proteção contra microrganismos e radiação ultravioleta (UV) (MARTÍNEZ; MIJARES; DE SANCTIS, 2019; SPAGNUOLO; MOCCIA; RUSSO, 2018). Esses flavonoides possuem uma potente capacidade anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena e estão associadas à redução do risco cardiovascular (LEE *et al.*, 2017; MARTÍNEZ; MIJARES; DE SANCTIS, 2019; PAULA *et al.*, 2013). Logo,

devido à presença desses flavonoides em sua composição, a *Arrabidaea chica* apresenta um grande efeito anti-inflamatório.

Podem ser obtidos diferentes extratos e frações desta planta, variando apenas o solvente utilizado e o método de preparação. No entanto, devido à construção do conhecimento sobre esta planta nas últimas décadas, sabe-se que o extrato aquoso apresenta atividade anti-inflamatória, por diminuir a produção de citocinas pró-inflamatórias enquanto aumenta a produção da citocina anti-inflamatória e imunossupressora (UBIERA, 2021).

Diante disto, este trabalho tem como objetivo reunir as informações científicas que foram expostas por pesquisas anteriores sobre a atividade anti-inflamatória do extrato da *Arrabidaea chica*. Para tal, realizou-se uma revisão bibliográfica em diferentes idiomas, bancos de dados e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS).

Metodologia

Este trabalho trata-se da revisão integrativa de literatura, que tem como finalidade realizar um levantamento de dados bibliográficos sobre a atividade anti-inflamatória pela presença de flavonoides no extrato da *Arrabidaea chica*, fazendo uma síntese dos resultados e apresentando conclusões atualizadas acerca da temática.

O processo metodológico do presente trabalho seguiu cinco etapas: 1) formulação da questão de pesquisa; 2) busca na literatura; 3) identificação dos estudos elegíveis; 4) análise crítica dos estudos selecionados; 5) apresentação dos resultados (CROSSETTI, 2012).

A busca na literatura foi realizada nas seguintes bases de dados: *Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line* (MEDLINE), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e no Banco de Dados de Teses e Dissertações (BDTD). Foram consideradas as seguintes palavras-chaves: "anti-inflamatório", "plantas medicinais", "*Arrabidaea chica*" e "antocianinas", onde se escolheu os textos disponíveis de forma online nos idiomas: inglês, português e espanhol. Na seleção foram considerados os seguintes critérios de inclusão: artigos originais, revisões da literatura e relatos de experiência, redigidos em português ou inglês. Foram excluídos os de literatura cinzenta e aqueles que não responderam aos objetivos deste trabalho.

Dessa forma, a seleção dos trabalhos ocorreu, inicialmente, a partir da leitura de títulos e resumos, de acordo com os critérios de elegibilidade descritos anteriormente. Após as análises, selecionou-se os 40 trabalhos mais relevantes para a pesquisa. Em seguida, foram excluídos 17 dos 40 artigos, pois estes apresentavam duplicidade e/ou não tinham enfoque no tema proposto.

Resultados e Discussão

Uma inflamação aguda quando progride por má resolução, exposição contínua ou prolongada aos desencadeantes nocivos, prolongando-se descontroladamente é definida como inflamação crônica (ALINDA *et al.*, 2018). Ativada nos últimos estágios da resposta inflamatória normal, as principais células de uma resposta inflamatória crônica são os linfócitos e macrófagos (NATHAN; DING, 2010; SCRIVO *et al.*, 2011; KUMAR, ABUL K. ABBAS, 2013).

O uso de anti-inflamatórios está aumentando mundialmente a cada dia, no entanto, muitos deles são formulados com base sintética para atingir diferentes componentes da cascata inflamatória. Com isso, os anti-inflamatórios causam diversos danos à mucosa gástrica e comprometimento dos néfrons, por tanto essas drogas vêm sendo acompanhadas por seus efeitos adversos proeminentes (KISHORE *et al.*, 2019; LATRUFFE, 2017).

Existem produtos naturais com capacidade de regular a resposta imune através das citocinas, sendo este um dos mecanismos para combater a inflamação, como é o caso da *Arrabidaea chica*, que têm atividade anti-inflamatória, embora não esteja evidente como esses efeitos são conduzidos molecularmente (HODGE; HODGE; HAN, 2000; PAULA *et al.*, 2013). Essa capacidade se dá principalmente devido a presença de compostos fenólicos, como antocianinas (Figura 2), pertencentes à família dos flavonoides (Figura 2) (PAULA *et al.*, 2013). Estudos farmacológicos destacam o alto poder antioxidante das antocianinas em doenças metabólicas, dentre as quais podemos destacar a atividade anti-inflamatória e anticâncer (ZAFRA-STONE *et al.*, 2007; TAFFARELLO, *et al.*, 2013).

Os flavonoides são conhecidos por sua capacidade de sequestrar radicais livres *in vivo* e *in vitro* e pelas propriedades de estabilização da membrana celular (ADEDAPPO *et al.*, 2008). Como apresentado na Figura 2, quimicamente, essas substâncias caracterizam-

se por apresentarem em seu esqueleto básico 15 carbonos, com dois anéis benzênicos aromáticos unidos por uma ponte de três átomos de carbono, que pode ou não formar um terceiro anel (Figura 2) (LOPES *et al.*, 2010; KALLEGARI, 2009). Os flavonoides naturais têm pelo menos três hidroxilas fenólicas e são encontrados geralmente combinados com açúcares na forma de glicosídeos, embora também ocorram com relativa frequência como agliconas livres (LOPES *et al.*, 2010; OLLIS, 2013). Vários subgrupos de flavonoides são classificados conforme a substituição do anel C (Figura 2).

Como apresentado na Figura 2, as antocianinas apresentam estruturas muito similares a dos flavonoides, sendo antocianidinas encontradas na sua forma glicosada (ligadas a uma porção de açúcar). Elas consistem em um anel aromático (A) ligado a um anel heterocíclico (C) que contém um átomo de oxigênio, o qual é também ligado, por uma ligação carbono-carbono, a um terceiro anel aromático (B) (SANTOS, 2015). Na figura 3 é possível verificar as classes de flavonoides conhecidas e suas respectivas subclasses além de identificar as inúmeras fontes naturais de cada uma destas moléculas tão importantes para a saúde.

Figura 2: Estrutura esquelética básica geral de um flavonoide e de suas classes entre elas as antocianinas. **Fonte:** PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016, licença CC BY 4.0.

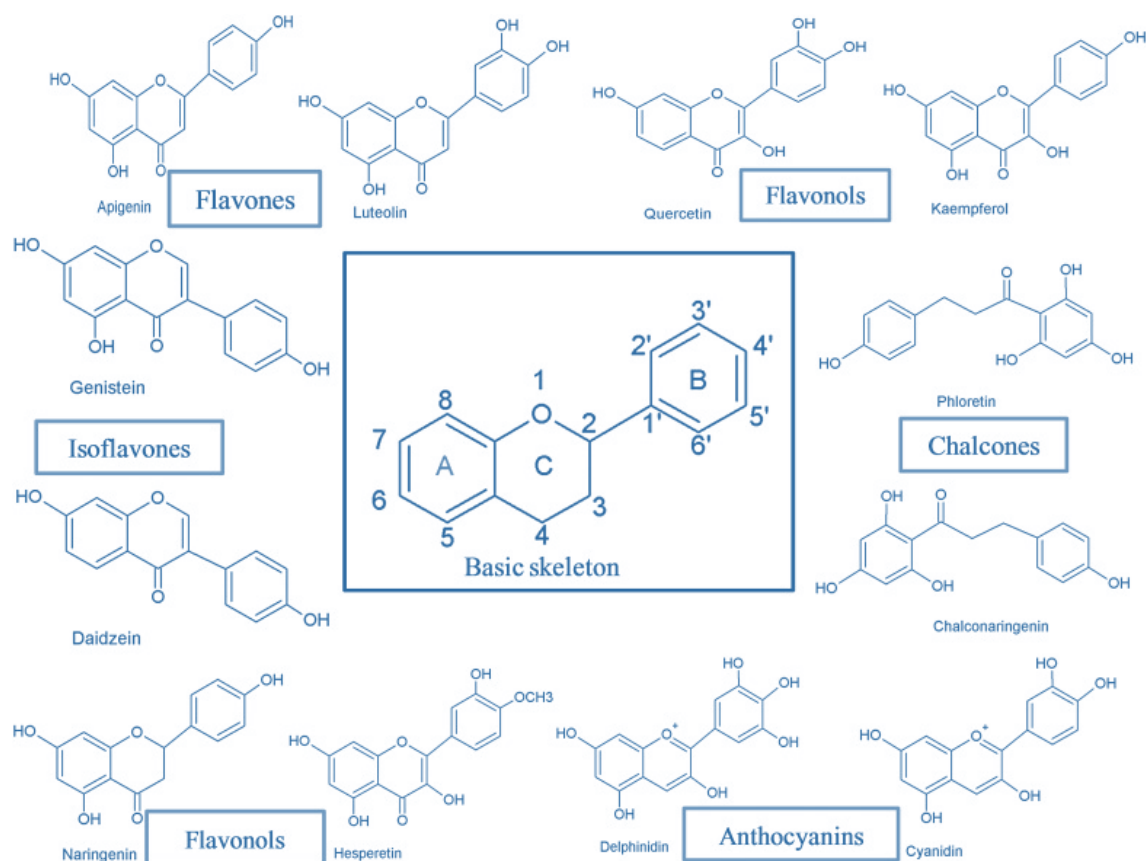
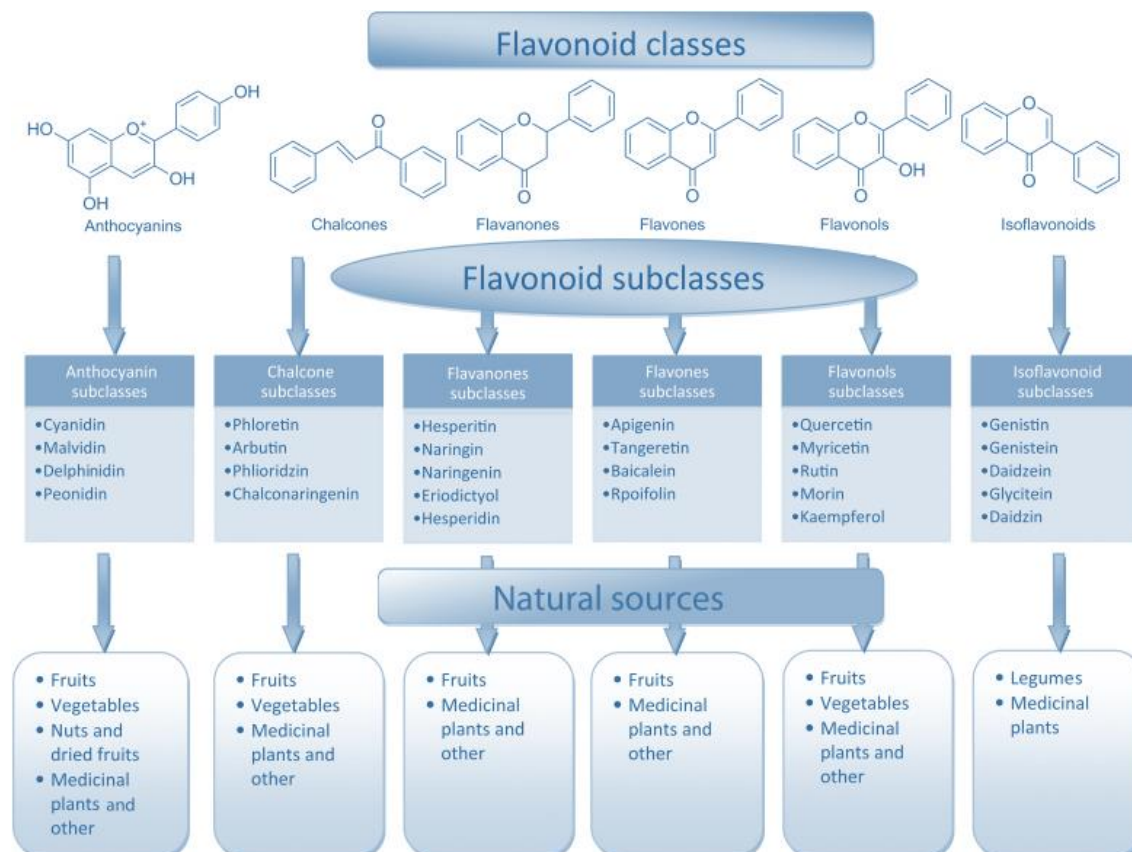


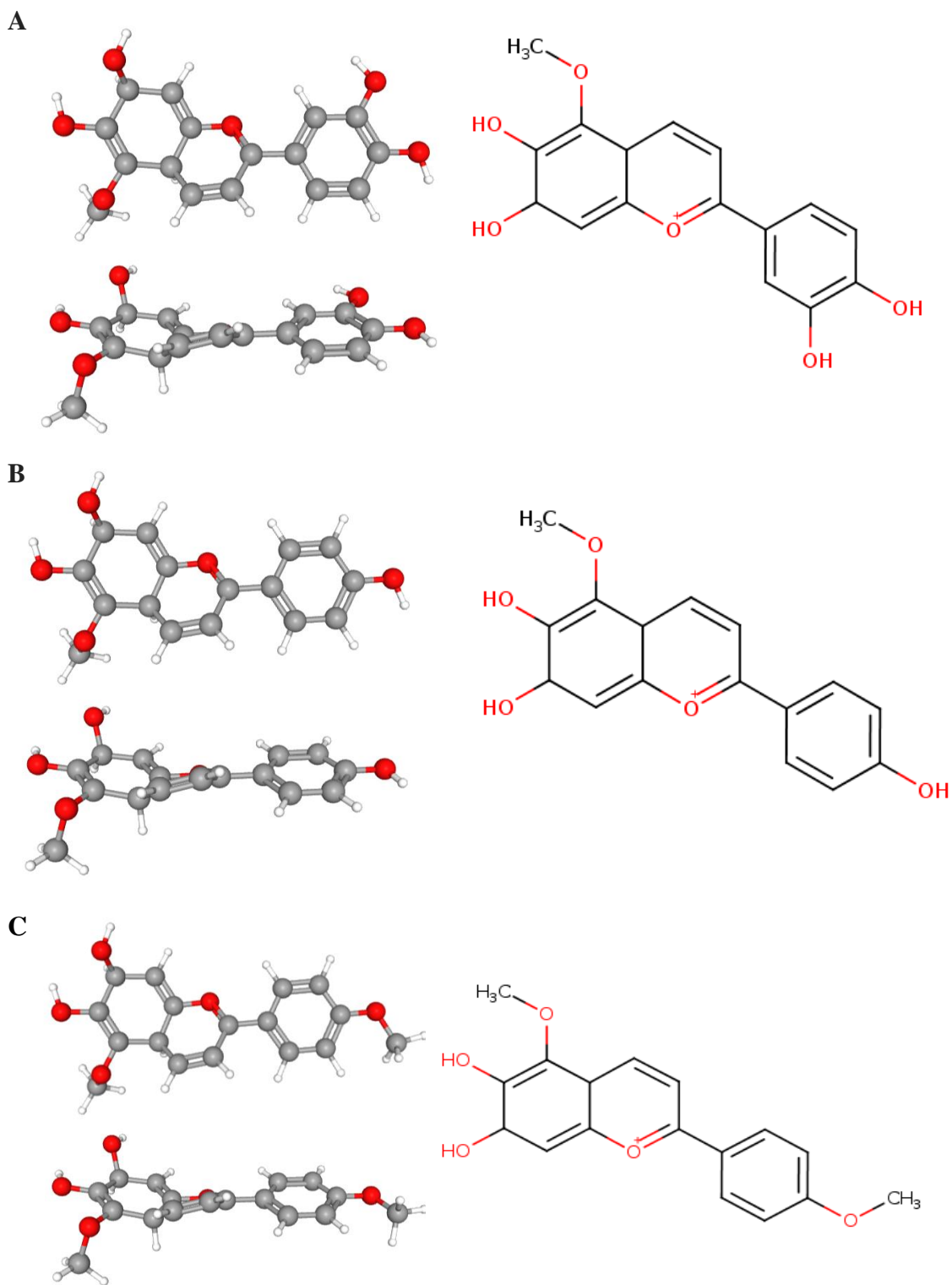
Figura 3: Classes, subclasses e fontes naturais de flavonoides.

Fonte: PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016, licença CC BY 4.0.

As folhas de *Arrabidaea chica* são ricas em três antocianinas do tipo 3-desoxi antocianinas, as quais são responsáveis pelas propriedades de coloração dessa planta (PAULA *et al.*, 2013). A fórmula estrutural dessas três antocianinas está apresentada na Figura 4 – A – B – C. Dentre essas antocianinas encontradas na *Arrabidaea chica* destaca-se a 6,7-dihidroxi-5,4'- dimetoxi-flavilium, popularmente conhecido como carajurina (Figura 4 - C), por ser o principal pigmento dessa planta. A Carajurina foi o primeiro composto isolado da *Arrabidaea chica* durante estudos das folhas dessa planta realizados por Chapman *et al.* (1927). Anos depois, sua fórmula molecular foi determinada como 6,7-dihidroxi-5,4'- dimetoxi-flavilium (ZORN *et al.*, 2001), cuja fórmula estrutural está apresentada na Figura 4 - C.

Os flavonoides presentes na *Arrabidaea chica* têm sido considerados como responsáveis por várias atividades desta planta, inclusive a atividade anti-inflamatória (ALCARAZ, HOLUT, 1985; MORS *et al.*, 2000). A atividade anti-inflamatória desta planta vem sendo observada *in vitro*, *in vivo* e relatadas nas crenças populares dos povos amazônicos (BRUNETTI *et al.*, 2013).

Figura 4: Fórmula estrutural das principais antocianinas presentes na *Arrabidaea chica*:
(a) 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxi-flavilium; **(b)** 6,7,4'-trihidroxi-5-metoxi-flavilium (Carajurona); **(c)** 6,7-dihidroxi-5,4'-dimetoxi-flavilium (Carajurina).



Fonte:

PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 44257042, 6,7,3',4'-Tetrahydroxy-5-methoxy-flavylium; [cited 2022 June 22]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6_7_3_4_-Tetrahydroxy-5-methoxy-flavylium

PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 44257041, 6,7,4'-Trihydroxy-5-methoxy-flavylium; [cited 2022 June 22]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6_7_4_-Trihydroxy-5-methoxy-flavylium

PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 44257040, 6,7-Dihydroxy-5,4'-dimethoxy-flavylium; [cited 2022 June 22]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6_7-Dihydroxy-5_4_-dimethoxy-flavylium

Em estudos realizados por Oliveira *et al.* (2008), foi investigado em camundongos albinos o efeito anti-inflamatório do extrato aquoso da *Arrabidaea chica* sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*, por via oral, intraperitoneal e subcutânea. Para o gênero *Bothrops*, o efeito inibitório pelas vias subcutânea e intraperitoneal (12 horas) foi de 55,87% e 65,70%, respectivamente. No gênero *Crotalus* o efeito inibitório do extrato pela via subcutânea após 3 horas foi de 33,55% e após 6 horas de 79,81%, na via intraperitoneal após 3 horas foi de 48,02% e após 6 horas de 92,52%. Na realização da análise histopatológica, os efeitos inflamatórios inibidos mais significativamente foram o infiltrado de granulócitos e a miocitólise (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos por Oliveira *et al.* (2008) sugerem, portanto, a presença de substâncias no extrato aquoso de *Arrabidaea chica* que são capazes de inibir as toxinas dos venenos das serpentes *Bothrops atrox* e *Crotalus durissus ruruima*, que induzem o processo inflamatório. Ou ainda substâncias no extrato capazes de inibir fatores endógenos que estimulam os processos pró-inflamatórios sobre os efeitos inflamatórios. Porém, o extrato não apresenta efeito anti-inflamatório em nenhuma das doses testadas pela via oral (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Pesquisas realizadas por Zorn *et al.* (2001) também revelaram que o extrato da *Arrabidaea chica* inibe o fator nuclear kappa B (NF- κ B). Essa inibição interfere na expressão de genes cujos produtos mediam as respostas imune e inflamatória (ZORN *et al.*, 2001). O NF- κ B atua em genes pró-inflamatórios gerando mediadores da inflamação

e moléculas de adesão importantes para o recrutamento de leucócitos, no local da inflamação (BARNES; KARIN, 1997). Dentre os leucócitos, os neutrófilos desempenham um papel importante na angiogênese pela liberação de quimiocinas que causam a invasão de células endoteliais e formação de vasos sanguíneos (ALBINI *et al.*, 2005). Sendo assim, quanto menor a migração de neutrófilos, maior a inibição do NF- κ B e conseqüentemente a expressão do gene para o fator de necrose tumoral- α (TNF α) importante para o recrutamento e ativação de neutrófilos (ZORN *et al.*, 2001).

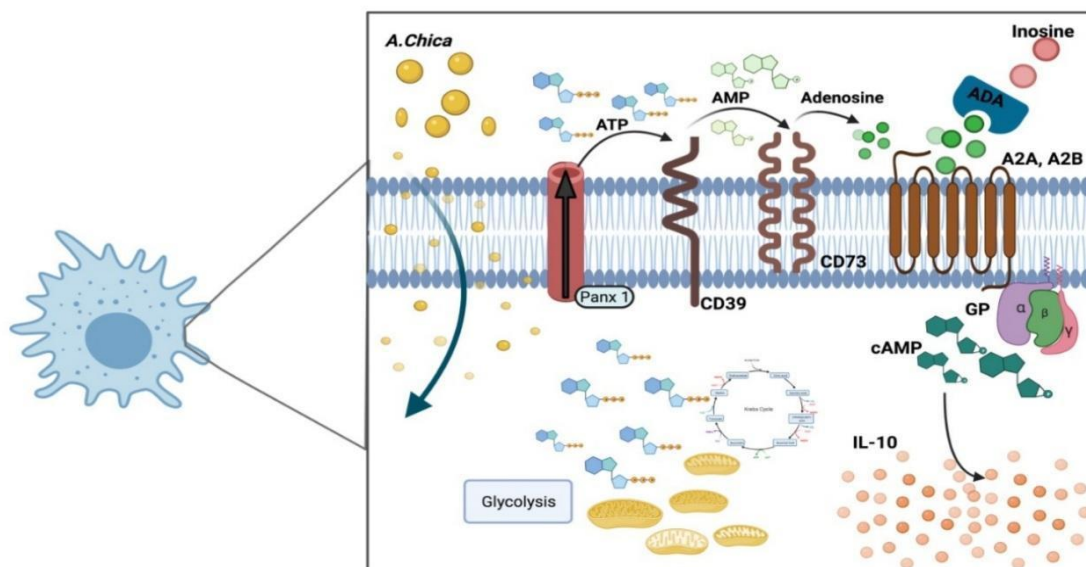
Estudos *in vivo* realizados por Takemura *et al.* (1995), testaram em neutrófilos de coelho a atividade anti-inflamatória da luteolina isolada do extrato da *Arrabidaea chica*. Os neutrófilos estimulados, geram espécies reativas de oxigênio (ROS) quase exclusivamente pelo NADPH oxidase, formado na membrana do fagolisossomo e o produto desta reação é o superóxido, que pode ser convertido em outros metabólitos, incluindo peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso (LEE; HARRISON; GRINSTEIN, 2003; MAYER-SCHOLL, 2004). A luteolina apresentou alta atividade de inibição da liberação de enzimas e produção de superóxido por neutrófilos estimulados por peptídeo formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP), que ativa a NADPH oxidase (FILHO, 2006).

Em pesquisas recentes realizadas por Ubiera (2021), observou-se que a produção da IL-10 nos macrófagos que foram pré-incubados com o extrato aquoso de *Arrabidaea chica*, aumentou a produção de IL-10, que foi maior que a estimulada pelo próprio LPS. Pelas propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias da IL-10 pode-se explicar a capacidade anti-inflamatória do *Arrabidaea chica* (UBIERA, 2021). A IL-10 é uma das mais importantes citocinas anti-inflamatórias e a principal na manutenção da homeostase imunológica, sendo secretada principalmente pelos macrófagos (MANNINO *et al.*, 2015). Nos macrófagos, sua síntese é regulada por diferentes mecanismos, sendo um deles o sistema purinérgico, ativado no estresse metabólico, representado pela adenosina que é um nucleosídeo sinalizador (Figura 4) (SARAIVA; O'GARRA, 2010).

Como apresentado na Figura 4, a síntese extracelular, segue a partir da desfosforilação da adenosina trifosfato (do inglês, *Adenosine Triphosphate*, ou ATP) devido à ação das endo e ectonucleotidases, o ATP sai das células principalmente pelos canais de pannexin, mas também há liberação vesicular de ATP. No espaço extracelular, o ATP é convertido no monofosfato de adenosina (do inglês, *Adenosine Monophosphate*, ou AMP) pela ação do trifosfato de ectonucleosídeo difosfo-hidrolase-1 (CD39) na

membrana extracelular, sendo posteriormente convertido em adenosina pela ecto-5'-nucleotidase (CD79) (UBIERA,2021).

Figura 4: Esquema que mostra a interação do extrato aquoso da *Arrabidaea Chica* VERLOT com as células, aumentando a taxa na qual o ATP extracelular é convertido em adenosina para parecer ainda mais na membrana citoplasmática e aumentar a produção da citocina anti-inflamatória IL-10.



Fonte: Ubiera, 2021, licença CC BY-NC-ND 4.0.

A adenosina pode sofrer os efeitos da enzima adenosina desaminase (ADA), que converte adenosina em inosina, a qual posteriormente se torna ácido úrico e é eliminada pelos rins (KUMAR; SHARMA, 2009). Os receptores de adenosina são um dos pontos essenciais da via, pois sem eles, a adenosina não pode ser reconhecida pela célula. Evidenciando que o receptor A_{2A} é essencial para os efeitos anti-inflamatórios de *Arrabidaea chica* e a participação de A_{2B} receptor apresentam um efeito importante neste fenômeno (UBIERA, 2021).

Portanto, os estudos apresentados indicaram que, de fato, a *Arrabidaea chica* tem potentes efeitos anti-inflamatórios, especialmente no seu extrato.

Considerações Finais

A *Arrabidaea chica* está dentre as várias espécies de plantas empregadas na medicina tradicional. A ocorrência expressiva de flavonoides, como as antocianinas, especialmente a Carajurina, explica em grande medida a ampla gama de ações

terapêuticas desta espécie. Dentre as ações terapêuticas dessa planta destaca-se a aceleração de cicatrização de feridas, no tratamento de doenças gastrointestinais, leishmanias, enterocolites, anemias e infecções ginecológicas e, especialmente, a atividade anti-inflamatória.

A atividade imunofarmacológica testada pelos autores nesta revisão de literatura, permitiu evidenciar o grande potencial terapêutico de *A. chica*, confirmando a atividade anti-inflamatória, descrita no uso popular dessa planta. Os experimentos realizados pelas pesquisas citadas também sugerem a atividade imunorreguladora para os constituintes químicos desta espécie. Entretanto, é necessário garantir a eficácia e segurança da planta medicinal com o uso para a constância de sua qualidade. A validação científica poderá contribuir para a redução dos custos no sistema público de saúde mediante o emprego racional e seguro de insumos e produtos desta espécie vegetal.

Portanto, os resultados obtidos neste estudo estimulam o desenvolvimento de futuros trabalhos e a realização de novos estudos sobre plantas medicinais, especialmente sobre a *A. chica*, a fim de elucidar os mecanismos de ação envolvidos nas atividades anti-inflamatória identificadas. Além disso, esse estudo reforça as potentes ações terapêuticas e anti-inflamatórias da *A. chica*,

Referências

ALBINI, A. *et al.* Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention. **Cancer research**, v. 65, n. 23, p. 10637-10641, 2005.

ALCARAZ, M. J.; HOULT, J. R. S. Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation. **Biochemical pharmacology**, v. 34, n. 14, p. 2477-2482, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRUNETTI, C. *et al.* Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. *International journal of molecular sciences*, v. 14, n. 2, p. 3540-3555, 2013.

DRESCH, R. R.; LIBÓRIO, Y. B.; CZERMAINSKI, S. B. C. Compilação de levantamentos de uso de plantas medicinais no Rio Grande do Sul. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, p. e310219, 2021.

CORTEZ DE SÁ, J. *et al.* Leishmanicidal, cytotoxicity and wound healing potential of *Arrabidaea chica* Verlot. **BMC Complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2015.

CROSSETTI, Maria da Graça Oliveira. Revisão integrativa de pesquisa na enfermagem o rigor científico que lhe é exigido. **Revista gaúcha de enfermagem**, v. 33, n. 2, p. 8-9, 2012.

FERREIRA, E. T. *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.

FILHO, G. B. **Bogliolo - Patologia**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GROH, L. *et al.* Monocyte and macrophage immunometabolism in atherosclerosis. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2018. p. 203-214.

HODGE, G.; HODGE, S.; HAN, P. Increased levels of apoptosis of leukocyte subsets in cultured PBMCs compared to whole blood as shown by Annexin V binding: relevance to cytokine production. **Cytokine**, v. 12, n. 12, p. 1763-1768, 2000.

IRTIS - REPORTER. *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verl. Taxonomic Serial No.: 34330. 2022. Disponível em: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=34330#null. Acesso em: 20 de março de 2022.

JORGE, M. P. *et al.* Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, n. 3, p. 361-366, 2008.

KALEGARI, M. **Composição fitoquímica e atividades biológicas de *Rourea induta* Planch, Connaraceae**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

KIRIPOLSKY, J.; MCCABE, L. G.; KRAMER, Jill M. Innate immunity in Sjögren's syndrome. **Clinical immunology**, v. 182, p. 4-13, 2017.

KISHORE, N. *et al.* Human disorders associated with inflammation and the evolving role of natural products to overcome. **European journal of medicinal chemistry**, v. 179, p. 272-309, 2019.

KUMAR, V. *et al.* **Robbins patologia básica**. Elsevier Brasil, 2013.

KUMAR, V.; SHARMA, A. Adenosine: an endogenous modulator of innate immune system with therapeutic potential. **European journal of pharmacology**, v. 616, n. 1-3, p. 7-15, 2009.

LATRUFFE, N. Natural products and inflammation. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 120, 2017.

LEE, Y. *et al.* Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1089, 2017.

LEE, W. L.; HARRISON, R. E.; GRINSTEIN, Sergio. Phagocytosis by neutrophils. **Microbes and infection**, v. 5, n. 14, p. 1299-1306, 2003.

LOPES, R. M. *et al.* Flavonoides. **Biotecnologia Ciência& Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2010.

MANNINO, M. H. *et al.* The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. **Cancer letters**, v. 367, n. 2, p. 103-107, 2015.

MARTÍNEZ, G.; MIJARES, M. R.; DE SANCTIS, J. B. Effects of flavonoids and its derivatives on immune cell responses. **Recent patents on inflammation & allergy drug discovery**, v. 13, n. 2, p. 84-104, 2019.

MAYER-SCHOLL, A.; AVERHOFF, P.; ZYCHLINSKY, A. How do neutrophils and pathogens interact?. **Current opinion in microbiology**, v. 7, n. 1, p. 62-66, 2004.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 428-435, 2008.

MESHKANI, R.; VAKILI, S. Tissue resident macrophages: Key players in the pathogenesis of type 2 diabetes and its complications. **Clinica chimica acta**, v. 462, p. 77-89, 2016.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. Medicinal plants of Brazil. **Reference Publications**, Inc. 2000.

NATHAN, C.; DING, A. Nonresolving inflammation. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 871-882, 2010.

OLLIS, W. David (Ed.). **Recent Developments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds: Proceedings of the Plant Phenolics Group Symposium**. Elsevier, 2013.

PANCHE, A.N.; DIWAN, A.D.; CHANDRA, S.R. Flavonoids: an overview. **J Nutr Sci**. v.5: e47, 2016, doi: 10.1017/jns.2016.41

PATEL, K.; PATEL, D. K. Medicinal importance, pharmacological activities, and analytical aspects of hispidulin: A concise report. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 7, n. 3, p. 360-366, 2017.

PAULA, J. T. *et al.* Extraction of anthocyanins from *Arrabidaea chica* in fixed bed using CO₂ and CO₂/ethanol/water mixtures as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 81, p. 33-41, 2013.

SANTOS, R. P. **Extração, caracterização e avaliação bioativa do extrato de *Arrabidaea chica***. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

SARAIVA, M.; O'GARRA, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. **Nature reviews immunology**, v. 10, n. 3, p. 170-181, 2010.

SCRIVO, R. *et al.* Inflammation as “common soil” of the multifactorial diseases. **Autoimmunity reviews**, v. 10, n. 7, p. 369-374, 2011.

SIRAICHI, J. T. G. *et al.* Antioxidant capacity of the leaf extract obtained from *Arrabidaea chica* cultivated in Southern Brazil. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72733, 2013.

SPAGNUOLO, C.; MOCCIA, S.; RUSSO, G. L. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. **European journal of medicinal chemistry**, v. 153, p. 105-115, 2018.

TAFFARELLO, D. *et al.* Atividade de extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot obtidos por processos biotecnológicos sobre a proliferação de fibroblastos e células tumorais humanas. **Química Nova**, v. 36, p. 431-436, 2013.

TAKEMURA, O. S. *et al.* A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. *cuprea*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1299-1300, 1995.

UBIERA, R. D. **Adenosine Dependent Anti-Inflammatory Effects of *Arrabidaea Chica* VERLOT**. 2021. 80 f. Tese (Doutorado em Imunologia Básica e Aplicada) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021.

VASCONCELOS, C. C. *et al.* Effects of extract of *Arrabidaea chica* Verlot on an experimental model of osteoarthritis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4717, 2019.

ZAFRA-STONE, S. *et al.* Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, n. 6, p. 675-683, 2007.

ZORN, B. *et al.* 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, 2001.

CAPÍTULO 5

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COCRISTAIS FARMACÊUTICOS: UMA REVISÃO SOBRE A COMPLEXIDADE DESSA ABORDAGEM

ACQUISITION AND CHARACTERIZATION OF PHARMACEUTICAL COCRYSTALS: A REVIEW ON THE COMPLEXITY OF THIS APPROACH

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.05>

Submetido em: 04/01/2024

Revisado em: 16/01/2024

Publicado em: 25/01/2024

Isabela Fanelli Barreto Biscaia

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/4913569775975331>

Patrícia Bubna Biscaia

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Farmácia, Ponta Grossa-PR

<http://lattes.cnpq.br/9373722894116587>

Luiza Stolz Cruz

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/1794921152056259>

Camila Nogueira Pacentchuk

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/2703438736320965>

Samantha Nascimento Gomes

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/0069997200153496>

Larissa Sakis Bernardi

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/4786154799567952>

Paulo Renato de Oliveira

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/3167101952781896>

Resumo

As moléculas com solubilidade aquosa limitada têm sido alvo de diversas pesquisas, pois apresentam dissolução lenta em fluídos biológicos e absorção gastrointestinal limitada, o que compromete as aplicações clínicas dos medicamentos. A formação de cocrystal é um método confiável para melhorar propriedades como solubilidade e estabilidade, sem modificar sua ação. Os cocrystal são materiais cristalinos estruturalmente homogêneos, formados por, no mínimo, dois compostos neutros que se encontram em quantidades estequiométricas definidas e são sólidos à temperatura ambiente. Um cocrystal farmacêutico é composto por um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) e por um coformador, que pode ser outro fármaco ou uma molécula não tóxica. Eles podem ser produzidos por diferentes técnicas, como mecanoquímica, evaporação do solvente, método de cristalização por reação, entre outros. Sua caracterização é indispensável para confirmar a nova estrutura cristalina, e é feita por meio de técnicas de caracterização do estado sólido. Os cocrystal aumentam a solubilidade de fármacos ao fornecer supersaturação, estado termodinamicamente metaestável. A presença de polímeros prolonga o estado de supersaturação, inibindo a precipitação do fármaco. Os estudos de dissolução não-sink são os mais relevantes para avaliar a dissolução de sistemas supersaturados de liberação de fármaco, do inglês “Supersaturating Drug Delivery Systems” (SDDS), pois estimam a formação e manutenção do estado supersaturado, entretanto os cocrystal também podem ser avaliados por métodos termodinâmicos, no qual um estado de equilíbrio entre o fármaco e o coformador é alcançado.

Palavras-Chave: cocrystal, solubilidade, fármaco, caracterização.

Abstract

Molecules with limited aqueous solubility have been the focus of numerous studies as they exhibit slow dissolution in biological fluids and limited gastrointestinal absorption, compromising the clinical applications of drugs. The formation of cocrystal is a reliable method to enhance properties such as solubility and stability without altering their action. Cocrystal are structurally homogeneous crystalline materials formed by at least two neutral compounds in defined stoichiometric quantities and are solid at room temperature. A pharmaceutical cocrystal comprises an active pharmaceutical ingredient (API) and a coformer, which can be another drug or a non-toxic molecule. They can be produced by various techniques such as mechanochemistry, solvent evaporation, reaction crystallization method, among others. Characterization is indispensable to confirm the new crystalline structure and is carried out through solid-state characterization techniques. Cocrystal enhance drug solubility by providing supersaturation, a thermodynamically metastable state. The presence of polymers extends the state of supersaturation, inhibiting drug precipitation. Dissolution studies under non-sink conditions are the most relevant for evaluating the dissolution of supersaturated drug delivery systems (SDDS), as they estimate the formation and maintenance of the supersaturated state. However, cocrystal can also be evaluated by thermodynamic methods, in which an equilibrium state between the drug and the coformer is achieved.

Keywords: cocrystal, solubility, drug, characterization.

Introdução

Os fármacos pertencentes à classe II do SCB Sistema de Classificação Biofarmacêutica, desenvolvido por Amidon e colaboradores em 1995, representam mais de 30% dos medicamentos comercializados. Esses fármacos correm o risco de serem retirados do desenvolvimento de medicamentos devido à sua fraca solubilidade aquosa (ALHALAWEH *et al.*, 2012). Portanto, é fundamental desenvolver estratégias que aumentem a solubilidade desses fármacos.

O aprimoramento das propriedades essenciais de um Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA) – por exemplo: biodisponibilidade, solubilidade, propriedades de fluxo e estabilidade térmica - são essenciais para novos desenvolvimentos tecnológicos na indústria farmacêutica (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017). Fármacos com solubilidade aquosa limitada apresentam dissolução lenta em fluidos biológicos e, conseqüentemente, exposição sistêmica insuficiente e eficácia reduzida (BLAGDEN *et al.*, 2007; GUO *et al.*, 2021).

O desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas visa melhorar o manuseio de ingredientes durante o processamento, melhorar a estabilidade e aumentar a dissolução de fármacos (IZUTSU *et al.*, 2016). Alterações químicas, como modificação de ligações covalentes, são muito comuns em moléculas no estado sólido, pois permitem alterações nas propriedades físicas de um fármaco sem alterar seu mecanismo de ação (BERRY; STEED, 2017).

A adição de um segundo componente à formulação, gerando um sal ou cocrystal, é capaz de alterar as propriedades do IFA (BERGE; BIGHLEY; MONKHOUSE, 1977). No entanto, a necessidade de que o fármaco possua um grupo ácido ou básico ionizável limita a formação dos sais, enquanto os cocrystal não necessitam tais grupos, pois formam compostos a partir de interações reversíveis e não covalentes (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009). Nos últimos anos, a percepção da engenharia farmacêutica dos cocrystal ganhou grande visibilidade (DOUROMIS; ROSS; NOKHODCHI, 2017) e houve aumento do interesse pelos cocrystal farmacêuticos, que representam um método robusto para aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis (QIAO *et al.*, 2011).

Metodologia

Este capítulo apresenta uma abordagem de pesquisa qualitativa com características descritivas e explicativas. O levantamento bibliográfico foi conduzido por meio da busca, obtenção e análise de documentos, avaliando o conteúdo de materiais relevantes para contextualizar e embasar o tema desta pesquisa. A revisão da literatura abrangeu fontes renomadas, como Pubmed, Scielo, Mendeley e Google Acadêmico, utilizando termos-chave específicos: "Cocristais", "Cocristais farmacêuticos", "métodos de obtenção de cocristais" e "métodos de caracterização de cocristais".

Resultados e Discussão

Os cocristais são compostos orgânicos que contêm duas ou mais moléculas orgânicas neutras, sólidas à temperatura ambiente (AAKERÖY; SALMON, 2005), em quantidades estequiométricas dentro da mesma rede cristalina (QIAO *et al.*, 2011). Eles são compostos por um IFA e um agente cocrystalizador (coformador), tipicamente um composto orgânico (BATZDORF *et al.*, 2017), que pode ser outro fármaco ou uma molécula não tóxica (QIAO *et al.*, 2011). São utilizados para melhorar a solubilidade, taxa de dissolução *in vitro* e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis (MCNAMARA *et al.*, 2006), podendo aumentar sua solubilidade em até 100 vezes ou mais (BAGHEL *et al.*, 2009). De acordo com a Tabela 1, alguns medicamentos já comercializados, contêm cocristais na formulação, o que demonstra o interesse da indústria farmacêutica por essa estratégia de desenvolvimento de novos sólidos cristalinos (KAVANAGH *et al.*, 2019).

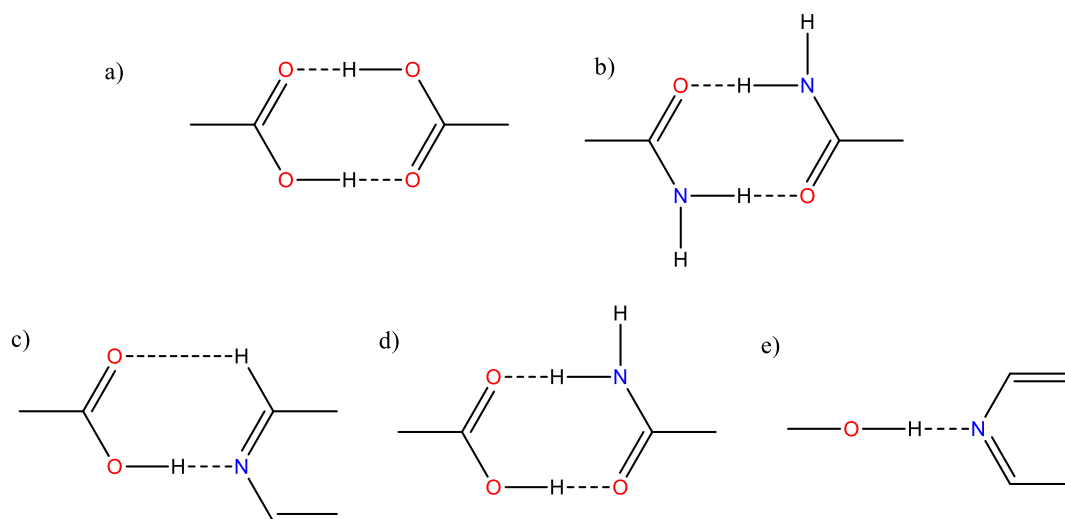
Entre as vantagens dos cocristais estão: design que não requer um grupo funcional específico para sua composição, metodologia acessível, a capacidade de alterar as formas cristalinas de um fármaco e o desenvolvimento de novas formas de cristal, que podem ser patenteadas como novos medicamentos (SHANG; ZAWOROTKO, 2008). Em comparação com o sal, que é obtido pela adição de um segundo componente à rede cristalina (BERGE; BIGHLEY; MONKHOUSE, 1977), os cocristais tem a vantagem de não requerer um grupo básico ou ácido ionizável, pois são formados a partir de ligações de hidrogênio (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009).

Tabela 1: Produtos comercializados que possuem cocrystalais.

Nome comercial	Cocrystal	Ano de registro
Depakote®	Ácido Valpróico- Valproato de Sódio	1983
Lexapro®	Escitalopram – Ácido Oxálico	2002
Suglat®	Ipragliflozin – L-prolina	2014
Entresto®	Valsartana – Scubitril	2015
Steglatro®	Ertuglifozin – Ácido Piroglutâmico	2017

As interações entre o IFA e o coformador são baseadas em complementaridade molecular e podem ocorrer por interações entre dois grupos funcionais iguais (homosynthons): ácido carboxílico-ácido carboxílico (Figura 1, a) e amida-amida (Figura 1, b) (AAKERÖY; SALMON, 2005); ou por interações entre dois grupos funcionais diferentes (heterosynthons): ácido carboxílico-nitrogênio aromático (Figura 1, c), ácido carboxílico-amida (Figura 1, d) e álcool-piridina (Figura 1, e) (DOUROUMIS; ROSS; NOKHODCHI, 2017).

Figura 1: Ligações de hidrogênio entre grupos funcionais que formam cocrystalais. a) ácido carboxílico-ácido carboxílico, b) amida-amida, c) ácido carboxílico-nitrogênio aromático d) ácido carboxílico-amida, e) álcool-piridina.



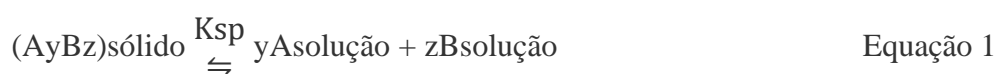
Como os cocrystalais têm um grande potencial para a indústria farmacêutica (BRITAIN, 2013), o centro de pesquisa e avaliação da FDA emitiu uma orientação para a indústria sobre a classificação regulatória de cocrystalais farmacêuticos (FDA, 2013). Neste documento, o FDA define cocrystalais como sólidos cristalinos compostos por duas

ou mais moléculas na mesma rede cristalina, sendo um complexo molecular dissociável de IFA-excipientes, onde o coformador é o excipiente. A fim de provar a existência do cocrystal, a FDA exige evidências de que tanto o IFA como o coformador existam em seus estados neutros e que nenhuma interação iônica foi usada para associar as duas substâncias.

A European Medicines Agency (EMA) também produziu um documento de discussão sobre o uso de cocrystal em produtos medicinais, definindo-os como ferramentas versáteis, utilizadas para obtenção de melhores propriedades de estado sólido. O documento define os cocrystal como estruturas cristalinas homogêneas constituídas por dois ou mais componentes em uma relação estequiométrica definitiva, onde o arranjo na rede cristalina não é baseado em ligações iônicas e requer que a formação do cocrystal seja demonstrada por meio de técnicas analíticas adequadas (EMA, 2014).

A ANVISA, emitiu uma nota técnica em fevereiro de 2017 intitulado “Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocrystal como insumo farmacêutico ativo” (ANVISA, 2017). Este documento afirma que o cocrystal: deve ser tratado como um IFA; deve ser caracterizado quimicamente; deve ser colocada a equivalência da base livre na bula e na rotulagem do medicamento; e deve ter a estequiometria definida e controlada por meio de testes de controle de qualidade.

A formação do cocrystal é caracterizada como a cristalização de uma única fase, em uma razão estequiométrica, de acordo com a seguinte reação de equilíbrio para um cocrystal binário A_yB_z (KUMINEK *et al.*, 2016a; RODRÍGUEZ-HORNEDO *et al.*, 2006a):



onde A e B representam fármaco e coformador, e z e y representam seus respectivos coeficientes estequiométricos. A reação descreve a formação do cocrystal (da direita para a esquerda) e a dissolução (da esquerda para a direita).

O produto de solubilidade (K_{sp}) é a constante de equilíbrio termodinâmico da reação e é dado pelo produto dos coeficientes de atividade (γ) dos componentes A e B multiplicados pelas concentrações dos componentes (KUMINEK *et al.*, 2016a)

$$K_{sp,a} = \gamma_A[A]^y \gamma_B[B]^z \approx K_{sp} = [A]^y [B]^z \quad \text{Equação 2}$$

onde [A] e [B] são as concentrações molares de cada componente cocrystal em equilíbrio. Em condições ideais, γ é igual a 1 e o produto de solubilidade baseado na atividade é substituído pelo produto de concentração K_{sp} .

Agente cocrystalizador (coformador)

A escolha do coformador é de grande importância para a formação do cocrystal, pois este deve apresentar-se seguro em relação à sua toxicidade, ser altamente solúvel, e possuir regiões de complementaridade molecular com o fármaco (KUMAR; NANDA, 2021). A interação fármaco:coformador nos cocristais compreende especialmente as ligações de hidrogênio intermoleculares, contudo, interações de Van der Waals, empilhamento π e ligações de halogênio também se demonstram significativas (ROCHA *et al.*, 2016). Existem diversos materiais sólidos reconhecidos como seguros pelo GRAS (Generally Recognized as Safe) do FDA, dentre eles, aditivos alimentares e outras substâncias. Quantidades subterapêuticas de fármacos como paracetamol e ácido acetilsalicílico também podem ser utilizadas como coformadores.

Além de interações baseadas em complementaridade molecular, a estereoquímica dos componentes e características intrínsecas do fármaco, como a polaridade e o pK_a , também devem ser considerados durante a seleção do coformador para a síntese do cocrystal. Para reações em solução, $\Delta pK_a < 0$ indica a formação de um cocrystal, enquanto que $\Delta pK_a > 3$ designa a produção de um sal, enquanto que na região de ΔpK_a entre 0 e 3, a previsão do material resultante é limitada (JOHNSON; RUMON, 1965).

A seleção do coformador modula a solubilidade aquosa do cocrystal, pois este qual pode reduzir a barreira de solvatação em uma extensão proporcional à sua solubilidade. Dependendo de quão solúvel o coformador é, a razão da solubilidade do cocrystal pode variar em relação ao fármaco (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010; KUMINEK *et al.*, 2016b).

Métodos de obtenção de cocristais

Várias estratégias foram relatadas por pesquisadores para preparar cocristais (AAKERÖY; SALMON, 2005). Uma técnica clássica para a obtenção de cocristais é a cristalização em solução. Este método é realizado com um solvente adequado em que todos os componentes são solúveis, o que promove a formação dos cocristais.

Quantidades estequiométricas dos componentes são dissolvidas em um solvente, que pode ser aquecido para facilitar a dissolução e, em seguida, evaporado (ROCHA *et al.*, 2016). Uma das desvantagens do método é o grande número de possíveis solventes, o que requer vários experimentos de triagem (TRASK *et al.*, 2005).

Outra abordagem é a técnica solvo-térmica, onde a supersaturação do cocrystal ocorre por meio de mudanças de temperatura (YU *et al.*, 2011; YU; CHOW; TAN, 2010). Para este método obter sucesso, é necessária uma triagem de solvente, na qual as substâncias possuem solubilidades a fim de minimizar a cristalização individual (KUMINEK *et al.*, 2016a).

O método anti-solvente também pode ser utilizado, no qual um solvente, em que o composto é menos solúvel, é adicionado a outra solução, gerando supersaturação e favorecendo a precipitação de sólidos (OBER; GUPTA, 2012).

Na metodologia de mecanoquímica, a cristalização ocorre através da ativação mecânica por moagem. Este método pode reduzir a triagem (TRASK; JONES, 2005) e é capaz de gerar cocristais que não são possíveis por meio de solução (ETTER; ADMOND, 1990). A eficiência da cocrystalização por moagem pode ser melhorada pela adição de pequenas quantidades de solventes (SHAN; JONES, 2003), que leva à formação do cocrystal por alteração das interações em solução, e possibilita maior rendimento e grau de cristalinidade do que a moagem simples (WOUTERS; QUERE, 2011).

A formação de cocristais pelo método de fusão, também conhecida como técnica de Kofler, consiste em fusão simultânea de dois compostos em uma lâmina, seguida de solidificação. Este procedimento gera um complexo molecular com ambos os componentes, que sob condições apropriadas forma o cocrystal (BERRY *et al.*, 2008; STAHLY, 2007).

Também é possível sintetizar cocristais através do Sonic Slurry™ (CHILDS; MOUGIN; STAHLY, 2005), uma técnica de alto rendimento, realizada em placas de poços (CHILDS *et al.*, 2008). É realizada a dispersão de partículas sólidas em uma fase líquida que compreende um ou mais solventes em que a substância química não é completamente solúvel. Em seguida, a pasta de reagentes é submetida a pulsos de ultrassom que aceleraram a formação de cocristais (APSHINGEKAR *et al.*, 2017; FRISCIC *et al.*, 2009).

Existe também um método baseado em calor que não utiliza solvente: o método de extrusão de fusão à quente. O calor utilizado permite que apenas a matriz seja derretida,

e utiliza um agente catalítico para melhorar a formação de cocristais. A desvantagem desta metodologia é que não pode ser utilizado para substâncias termicamente instáveis (CROWLEY *et al.*, 2007).

O aquecimento também é utilizado na técnica de secagem por pulverização, um método que transforma um líquido em uma substância seca pela utilização de gás e temperaturas elevadas. O processo é vantajoso porque é contínuo, controlável e rápido (VEHRING, 2008).

Enquanto, a técnica de cocrystalização de solvente supercrítico é baseada no poder solvente de CO₂ supercrítico. Primeiramente o IFA e o coformador são dissolvidos, e em seguida a solução é despressurizada rapidamente, diminuindo o poder do solvente e produzindo supersaturação, o que leva à cristalização. A desvantagem do processo é o baixo rendimento (PADRELA *et al.*, 2015).

O método de cristalização por reação (MCR), foi descrito pela primeira vez por Rodríguez-Hornedo *et al.*, 2006. Este método é baseado na redução da solubilidade do complexo molecular que forma o cocrystal, gerando condições para sua nucleação e cristalização ocorrer. A força motriz para cocrystalização é a supersaturação, resultante da adição excessiva dos componentes individuais (fármaco e coformador) em solução, resultando em concentrações não estequiométricas (RODRÍGUEZ-HORNEDO *et al.*, 2006b).

Técnicas de caracterização de cocristais

Para a confirmação da formação de um cocrystal e diferenciação em relação a outros cristais multicomponentes, diversas técnicas de caracterização no estado sólido podem ser empregadas, como a difração de Raios X (HARRIS; TREMAYNE; KARIUKI, 2001), análise térmica (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009), microscopia (CHADWICK; DAVEY; CROSS, 2007), espectroscopia vibracional (ALLESØ *et al.*, 2008), espectroscopia do estado sólido (VOGT *et al.*, 2009) e análise de sorção de umidade (NEWMAN; REUTZEL-EDENS; ZOGRAFI, 2008).

A difração de raios X de pó (DRXP) é uma das ferramentas analítica mais importantes na química do estado sólido, com aplicações que vão desde a caracterização detalhada da estrutura molecular e cristalina (difração de monocristal) até a detecção de ordem de longo alcance em materiais cristalinos (difração de pó) (REUTZEL-EDENS, 2012). A DRXP permite realizar a determinação da estrutura usando dados de difração de pó. É utilizado quando o material não apresenta formato de cristais individuais de

tamanho ou qualidade suficiente para o uso de difração de raios X de cristal único (HARRIS; TREMAYNE; KARIUKI, 2001). Esta análise fornece detalhes de novos grupamentos químicos encontrados nas formações dos cocristais, como as ligações de hidrogênio (BOLLA; CHERNYSHEV; NANGIA, 2017).

A análise térmica compreende técnicas em que uma alteração física ou química é medida em função da temperatura, enquanto um material é submetido a um programa de aquecimento ou resfriamento predefinido. Entre as técnicas mais comuns utilizadas em indústrias farmacêuticas estão a calorimetria exploratória diferencial, do inglês Differential scanning calorimetry (DSC), que mede a energia necessária para estabelecer uma diferença de temperatura próxima de zero entre a amostra e uma referência inerte, e a termogravimetria (TG), uma técnica em que a variação de massa de uma substância é medida em função da temperatura ou do tempo em uma atmosfera controlada (REUTZEL-EDENS, 2012). Estes parâmetros são alterados pela formação dos cocristais e são avaliados com base na comparação entre o material cristalino obtido e os componentes individuais (SCHULTHEISS; NEWMAN, 2009).

A utilização de microscopia para avaliar a formação de cocristais é menos utilizada em comparação à técnicas espectroscópicas, que realizam análise química (REUTZEL-EDENS, 2012). Entretanto, as microscopias óptica, eletrônica e de força atômica podem apresentar informações sobre a estrutura cristalina e composição de materiais, sais e cocristais, sendo úteis para identificação da homogeneidade e caracterização dessas estruturas, de forma concomitante à outras técnicas (CHADWICK; DAVEY; CROSS, 2007; ETTER; REUTZEL, 1991).

A espectroscopia vibracional é utilizada para caracterizar as vibrações das moléculas orgânicas, por absorção de radiação infravermelha na faixa de 4000-400 cm^{-1} ou por espalhamento inelástico de radiação (produzindo mudanças Raman) de 3500 a 50 cm^{-1} (JOHNSON; RUMON, 1965). Os espectros vibracionais fornecem características das moléculas e permitem a caracterização de estruturas químicas.

Para as quantificações individuais, das concentrações do fármaco e do coformador presentes no cocrystal, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é utilizada, pois permite a separação e a quantificação de compostos químicos em solução. Já o método espectrofotométrico UV-VIS (ultravioleta visível) só é possível ser utilizado por meio da espectrofotometria derivada, que permite a análise simultânea de mais de uma substância sem procedimentos de extração (SVERSUT *et al.*, 2017). Esse método apresenta poucos relatos na literatura, mas obteve êxito na determinação de fármacos em

cocristais (SOPYAN *et al.*, 2016), além de oferecer vantagens práticas e econômicas sobre o método CLAE e ser uma boa alternativa para o controle de qualidade (BISCAIA *et al.*, 2020; GARCIA *et al.*, 2006; MALESUIK *et al.*, 2010).

Conclusão

Este capítulo abrangeu a importância dos cocristais farmacêuticos para a melhora da solubilidade de fármacos poucos solúveis. O desenvolvimento de cocristais pode ser obtido por diversos métodos, alguns são considerados fáceis, práticos e econômicos de implementar. Pode ser realizado em diversos laboratórios e não requer procedimentos caros e específicos.

Nos últimos anos, uma pluralidade de investigações tem atestado a eficácia do emprego de cocristais farmacêuticos como uma técnica de destaque no âmbito da engenharia cristalina, sinalizando a perspectiva de inúmeras pesquisas com resultados promissores em um horizonte próximo.

Referências

AAKERÖY, C. B.; SALMON, D. J. Building co-crystals with molecular sense and supramolecular sensibility. **CrystEngComm**, v. 7, n. 72, p. 439, 2005.

ALLESØ, M. et al. Near-infrared spectroscopy for cocrystal screening. A comparative study with Raman spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 20, p. 7755–7764, 2008.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **NOTA TÉCNICA 02/2017 Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocristais como insumo farmacêutico ativo**, 2017.

APSHINGEKAR, P. P. et al. Synthesis of Caffeine/Maleic Acid Co-crystal by Ultrasound-assisted Slurry Co-crystallization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 1, p. 66–70, 2017.

BAGHEL, S. et al. An investigation into the crystallization tendency/kinetics of amorphous active pharmaceutical ingredients: A case study with dipyrindamole and cinnarizine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 9, n. 3, p. 1621–1637, 2009.

BATZDORF, L. et al. Make and break - Facile synthesis of cocrystals and comprehensive dissolution studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1133, p. 18–23, 2017.

BERGE, S. M.; BIGHLEY, L. D.; MONKHOUSE, D. C. Pharmaceutical Salts. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 66, n. 1, p. 1–19, 1977.

BERRY, D. J. et al. Applying hot-stage microscopy to co-crystal screening: A study of nicotinamide with seven active pharmaceutical ingredients. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 5, p. 1697–1712, 2008.

BERRY, D. J.; STEED, J. W. Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 3–24, 2017.

BISCAIA, I. F. B. et al. Development of a First-Order Derivative UV Spectrophotometric Method for the Assay and Solubility Evaluation of Lamotrigine and Nicotinamide Cocrystals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 12, p. 2561–2568, 2020.

BLAGDEN, N. et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 617–630, 2007.

BOLLA, G.; CHERNYSHEV, V.; NANGIA, A. Acemetacin cocrystal structures by powder X-ray diffraction. **International Union of Crystallography**, v. 4, p. 206–214, 2017.

BRITTAIN, H. G. Pharmaceutical cocrystals: The coming wave of new drug substances. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 2, p. 311–317, 2013.

CERREIA VIOGLIO, P.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 86–110, 2017.

CHADWICK, K.; DAVEY, R.; CROSS, W. How does grinding produce co-crystals? Insights from the case of benzophenone and diphenylamine. **CrystEngComm**, v. 9, n. 9, p. 732–734, 2007.

CHILDS, S. L. et al. Screening strategies based on solubility and solution composition generate pharmaceutically acceptable cocrystals of carbamazepine. **CrystEngComm**, v. 10, n. 7, p. 856, 2008.

CHILDS, S. L.; MOUGIN, P.; STAHLY, B. C. -. **Screening for Solid Forms By Ultrasound Crystallization and Cocrystallization Using Ultrasound**, 2005.

CROWLEY, M. M. et al. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part I. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 9, p. 909–926, 2007.

DOUROUMIS, D.; ROSS, S. A.; NOKHODCHI, A. Advanced methodologies for cocrystal synthesis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, n. 178–195, 2017.

EMA. European Medicines Agency - Reflection paper on the use of cocrystals of active substances in medicinal products. v. 44, n. May, p. 1–10, 2014.

ETTER, M. C.; ADSMOND, D. A. The Use of Cocrystallization as a Method of studying Hydrogen Bond Preferences of 2-Aminopyrimidine Margaret. **Journal of the American Chemical Society**, v. 589, n. 8, p. 589–591, 1990.

ETTER, M. C.; REUTZEL, S. M. Hydrogen Bond Directed Cocrystallization and Molecular Recognition Properties of Acyclic Imides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, n. 7, p. 2586–2598, 1991.

FDA. Food and Drug Administration - Guidance for Industry Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals. n. April, p. 1–5, 2013.

FRISCIC, T. et al. The role of solvent in mechanochemical and sonochemical cocrystal formation: a solubility-based approach for predicting cocrystallisation outcome. **The Royal Society of Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 388–403, 2009.

GARCIA, C. V. et al. Development and validation of derivative spectrophotometric method for determination of rabeprazole sodium in pharmaceutical formulation. **Analytical Letters**, v. 39, n. 2, p. 341–348, 2006.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal eutectic constants and prediction of solubility behavior. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 3, p. 1028–1032, 2010.

GUO, M. et al. Pharmaceutical cocrystals: A review of preparations, physicochemical properties and applications. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, n. xxx, 2021.

HARRIS, K. D. M.; TREMAYNE, M.; KARIUKI, B. M. Contemporary Advances in the Use of Powder X-Ray Diffraction for Structure Determination. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 40, n. 9, p. 1626–1651, 2001.

IZUTSU, K. et al. Characterization and Quality Control of Pharmaceutical Cocrystals. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 64, n. 10, p. 1421–1430, 2016.

JOHNSON, S. L.; RUMON, K. A. Infrared Spectra of Solid 1:1 Pyridine-Benzoic Acid Complexes; the Nature of the Hydrogen Bond as a Function of the Acid-Base Levels in the Complex ¹. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 74–86, 1965.

KAVANAGH, O. N. et al. Pharmaceutical cocrystals: from serendipity to design to application. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 3, p. 796–804, 2019.

KUMAR, A.; NANDA, A. In-silico methods of cocrystal screening: A review on tools for rational design of pharmaceutical cocrystals. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, n. April, p. 102527, 2021.

KUMINEK, G. et al. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 143–166, 2016a.

KUMINEK, G. et al. How cocrystals of weakly basic drugs and acidic cofomers might modulate solubility and stability. **Chem. Commun.**, v. 52, n. 34, p. 5832–5835, 2016b.

MALESUIK, M. D. et al. Development of a simple, rapid and validated spectrophotometric method for nitazoxanide in pharmaceutical formulations and comparison with HPLC. **Quim. Nova**, v. 33, n. 9, p. 14–18, 2010.

MCNAMARA, D. P. et al. Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, p. 1888–1897, 2006.

NEWMAN, A. W.; REUTZEL-EDENS, S. M.; ZOGRAFI, G. Characterization of the “Hygroscopic” Properties of Active. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 3, p. 1047–1059, 2008.

OBER, C. A.; GUPTA, R. B. Formation of itraconazole-succinic acid cocrystals by gas antisolvent cocrystallization. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 4, p. 1396–1406, 2012.

PADRELA, L. et al. Insight into the Mechanisms of Cocrystallization of Pharmaceuticals in Supercritical Solvents. **Crystal Growth and Design**, v. 15, n. 7, p. 3175–3181, 2015.

QIAO, N. et al. Pharmaceutical cocrystals: An overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, n. 1–2, p. 1–11, 2011.

REUTZEL-EDENS, S. M. **Drug Discovery Series - Pharmaceutical Salts and Cocrystals**. 16. ed. Indianapolis, USA: Royal Society of Chemistry, 2012.

ROCHA, A. B. O. et al. Cocristais: Uma Estratégia Promissora Na Área Farmacêutica. **Quim. Nova**, v. 39, n. 9, p. 1112–1125, 2016.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. et al. Reaction crystallization of pharmaceutical molecular complexes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, n. 3, p. 362–367, 2006.

SCHULTHEISS, N.; NEWMAN, A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 6, p. 2950–2967, 2009.

SHAN, N.; JONES, W. A green chemistry approach to the synthesis of a crystalline organic inclusion compound. **Green Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 728–730, 2003.

SHANG, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 13, n. 9/10, p. 440–446, 2008.

SOPYAN, I. et al. A novel of derivative spectrophotometry as rapid and accurate method in application of simvastatin co-crystal assay. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 301–306, 2016.

STAHLY, G. P. Diversity in single- and multiple-component crystals. the search for and prevalence of polymorphs and cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 7, n. 6, p. 1007–1026, 2007.

SVERSUT, R. A. et al. Simultaneous determination of gatifloxacin and prednisolone acetate in ophthalmic formulation using first-order UV derivative spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 604–610, 2017.

TRASK, A. V. et al. Achieving polymorphic and stoichiometric diversity in cocrystal formation: Importance of solid-state grinding, powder X-ray structure determination, and seeding. **Crystal Growth and Design**, v. 5, n. 6, p. 2233–2241, 2005.

TRASK, A. V.; JONES, W. Crystal engineering of organic cocrystals by the solid-state grinding approach. **Topics in Current Chemistry**, v. 254, p. 41–70, 2005.

VEHRING, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 5, p. 999–1022, 2008.

VOGT, F. G. et al. Solid-State NMR Analysis of Organic Cocrystals and Complexes. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 2, p. 921–937, 2009.

WOUTERS, J.; QUERE, L. **Pharmaceutical Salts and Co-crystals**. 16. ed. Cambridge, UK: RSC Drug Discovery Series, 2011.

YU, Z. Q. et al. Supersaturation Control in Cooling Polymorphic Co-Crystallization of Caffeine and Glutaric Acid. **Crystal Growth & Design**, v. 11, p. 4525–4532, 2011.

YU, Z. Q.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Operating regions in cooling cocrystallization of caffeine and glutaric acid in acetonitrile. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 5, p. 2383–2387, 2010.

CAPÍTULO 6

COCRISTAIS FARMACÊUTICOS NO APRIMORAMENTO DE FÁRMACOS: UMA REVISÃO DA AVALIAÇÃO TERMODINÂMICA E CINÉTICA

PHARMACEUTICAL COCRYSTALS IN DRUG
ENHANCEMENT: A REVIEW OF THERMODYNAMIC AND
KINETIC EVALUATION

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.06>

Submetido em: 17/01/2024

Revisado em: 24/01/2024

Publicado em: 25/01/2024

Isabela Fanelli Barreto Biscaia

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/4913569775975331>

Patrícia Bubna Biscaia

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Farmácia, Ponta Grossa-PR

<http://lattes.cnpq.br/9373722894116587>

Luiza Stolz Cruz

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/1794921152056259>

Camila Nogueira Pacentchuk

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/2703438736320965>

Samantha Nascimento Gomes

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/0069997200153496>

Larissa Sakis Bernardi

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/4786154799567952>

Paulo Renato de Oliveira

Universidade Estadual do Centro Oeste, Departamento de Farmácia, Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/3167101952781896>

Resumo

Os cocristais farmacêuticos são formados por um ingrediente farmacêutico ativo e um coformador, uma molécula atóxica, de alta solubilidade. Eles podem ser uma solução para a indústria farmacêutica, para resolver problemas com fármacos pouco solúveis. Existem diferentes metodologias para avaliação do aumento desta solubilidade, como o método termodinâmico, no qual é determinado a solubilidade do cocrystal no ponto eutético, e o método cinético, no qual é quantificado a quantidade de fármaco presente em uma solução em função do tempo. Apesar da vantagem dos cocristais em aumentar a solubilidade e dissolução de fármacos, dificilmente seria possível tirar vantagem disso em uma formulação devido à conversão rápida dos cocristais em fármaco cristalizado. Os excipientes têm um grande impacto na solubilidade dos cocristais e na estabilidade da solução. A utilização de polímeros como excipientes, pode auxiliar no desenvolvimento de formulações de formas farmacêuticas sólidas com cocristais, pois a supersaturação pode ser mantida por um tempo relevante para que ocorra a absorção.

Palavras-Chave: Cocristais Farmacêuticos, Dissolução, Polímeros, Avaliação de Cocristais.

Abstract

Pharmaceutical cocrystals are formed by an active pharmaceutical ingredient and a coformer, a non-toxic, highly soluble molecule. They can be a solution for the pharmaceutical industry to address issues with poorly soluble drugs. There are different methodologies for evaluating the increase in solubility, such as the thermodynamic method, in which the solubility of the cocrystal at the eutectic point is determined, and the kinetic method, in which the amount of drug present in a solution is quantified over time. Despite the advantage of cocrystals in enhancing the solubility and dissolution of drugs, it would be challenging to capitalize on this in a formulation due to the rapid conversion of cocrystals into crystallized drug. Excipients have a significant impact on the solubility of cocrystals and the stability of the solution. The use of polymers as excipients can assist in the development of formulations for solid pharmaceutical forms with cocrystals, as supersaturation can be maintained for a relevant time to allow absorption.

Keywords: Pharmaceutical Cocrystals, Dissolution, Polymers, Evaluation of Cocrystals

Introdução

Os cocristais, assim como os sais e dispersões sólidas amorfas, são utilizados com sucesso para melhorar as características físico-químicas e propriedades biofarmacêuticas dos fármacos a partir da formação de soluções supersaturadas (KUMINEK *et al.*, 2016). A solução supersaturada é definida como aquela em que a concentração da solução excede

a concentração da solução de equilíbrio da forma cristalina mais estável, em temperaturas e solventes específicos (SUN; WEN; TAYLOR, 2016).

Os Sistemas Supersaturados de Liberação de Fármaco (SDDS – do inglês Supersaturating Drug Delivery Systems) são capazes de aumentar a concentração do fármaco em níveis acima da solubilidade de saturação (BEVERNAGE *et al.*, 2013). Experimentos *in vitro*, utilizando membranas artificiais e biológicas comprovaram que o fluxo através de uma membrana aumenta linearmente com um aumento na concentração de fármaco livre e continua a aumentar à medida que a solução se torna progressivamente mais supersaturada (PELLETT *et al.*, 1997; RAINA *et al.*, 2015).

Uma vez que os cocristais são compostos por um IFA e um coformador conectado por uma ligação fraca, esta ligação se dissocia em um curto período de tempo após a dissolução (FRIŠČIĆ; JONES, 2010). Quanto mais solúvel o coformador for, mais facilmente a barreira de solvatação será rompida, permitindo a retirada do coformador da rede cristalina para o meio aquoso. Assim, as moléculas de fármaco hidrofóbicas tornam-se supersaturadas no meio aquoso e por ser a forma de maior energia (metaestável), tende a precipitar (BAVISHI; BORKHATARIA, 2016).

Os polímeros têm a capacidade de inibir cineticamente a precipitação de fármacos, mantendo assim o estado de supersaturação da solução por mais tempo (ALHALAWEH; ALI; VELAGA, 2014).

Os inibidores de precipitação podem atuar para diminuir a nucleação: i) aumentando a solubilidade, reduzindo o grau de supersaturação; ii) aumentando a viscosidade, reduzindo a mobilidade molecular; iii) aumentando a energia interfacial aglomerados-solvente. Também pode atuar no crescimento do cristal: i) aumentando a viscosidade, reduzindo o coeficiente de difusão; ii) alterando a camada de adsorção na interface do meio cristalino; iii) alterando o nível de solvatação na interface cristal-líquido, afetando a integração das moléculas do fármaco no cristal (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

A avaliação adequada da supersaturação e, possivelmente da inibição da precipitação, é essencial para o desenvolvimento de formas farmacêuticas contendo cocristais e polímeros na formulação. Como a avaliação *in vivo* de SDDS envolve dificuldades práticas, esforços têm sido direcionados ao desenvolvimento de ensaios preditivos de precipitação *in vitro*.

Metodologia

Este capítulo apresenta uma abordagem de pesquisa qualitativa com características descritivas e explicativas. O levantamento bibliográfico foi conduzido por meio da busca, obtenção e análise de documentos, avaliando o conteúdo de materiais relevantes para contextualizar e embasar o tema desta pesquisa. A revisão da literatura abrangeu fontes renomadas, como Pubmed, Scielo, Mendeley e Google Acadêmico, utilizando termos-chave específicos: "Cocristais", "Cocristais farmacêuticos", "métodos de avaliação de cocristais" e "polímeros em associação com cocristais".

Resultados e Discussão

- **Técnicas de avaliação dos cocristais**

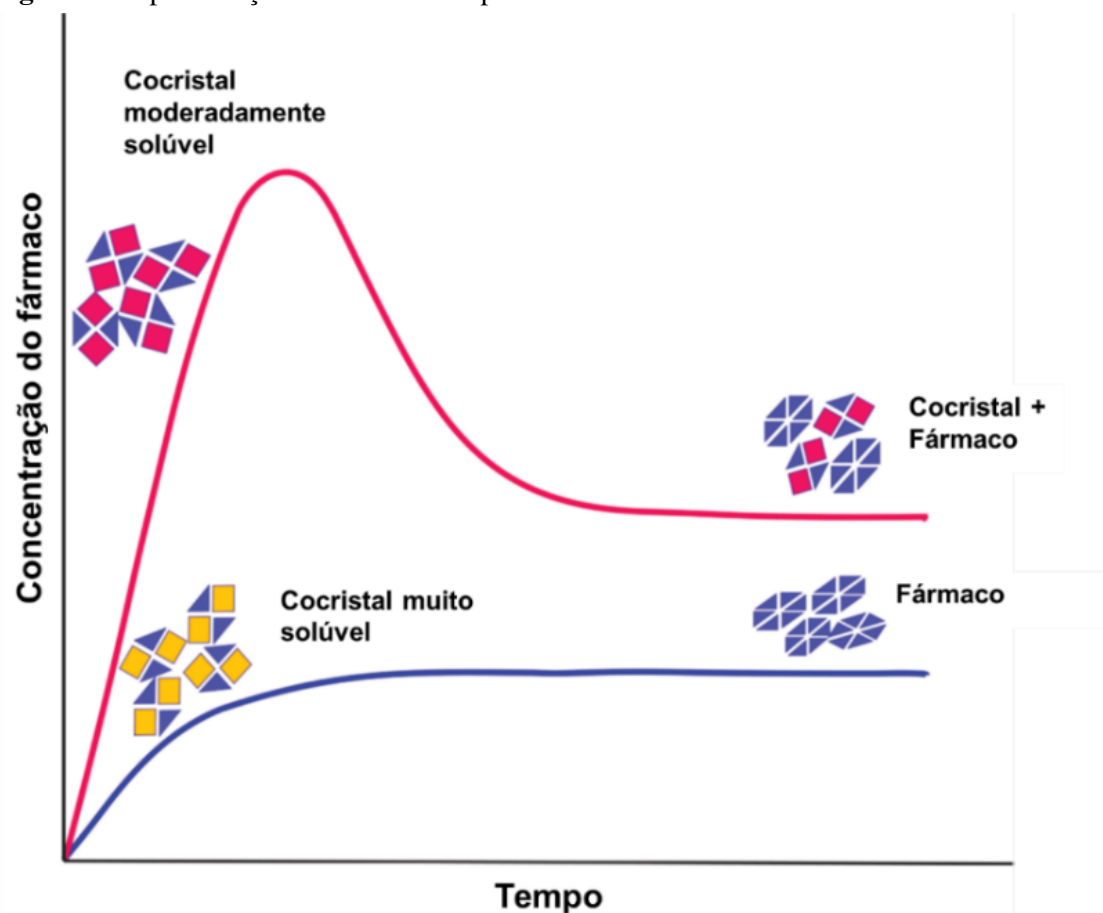
Solubilidade

A avaliação da solubilidade dos cocristais pode ser realizada por meio de métodos cinéticos e termodinâmicos.

Os métodos cinéticos (Figura 1) determinam a dissolução de um cocrystal em relação ao tempo, porém a medida que o cocrystal dissolve e o máximo de concentração em solução é atingido, ocorre a cristalização do fármaco estável, então o pico de concentração não deve ser considerada a solubilidade total do cocrystal (MARTIN *et al.*, 2013). Em relação aos cocristais muito solúveis, quando submetidos à testes de dissolução, a precipitação pode ocorrer de forma imediata, resultando muitas vezes em valores subestimados ou errôneos (ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

O método termodinâmico avalia a solubilidade e a estabilidade dos cocristais, a partir de concentrações no ponto eutético, e é considerado mais seguro, confiável e de simples acesso (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

Figura 1: Representação da solubilidade por método cinético.



Fonte: Adaptado de Roy; Lipert; Rodríguez-Hornedo (2012).

Método termodinâmico

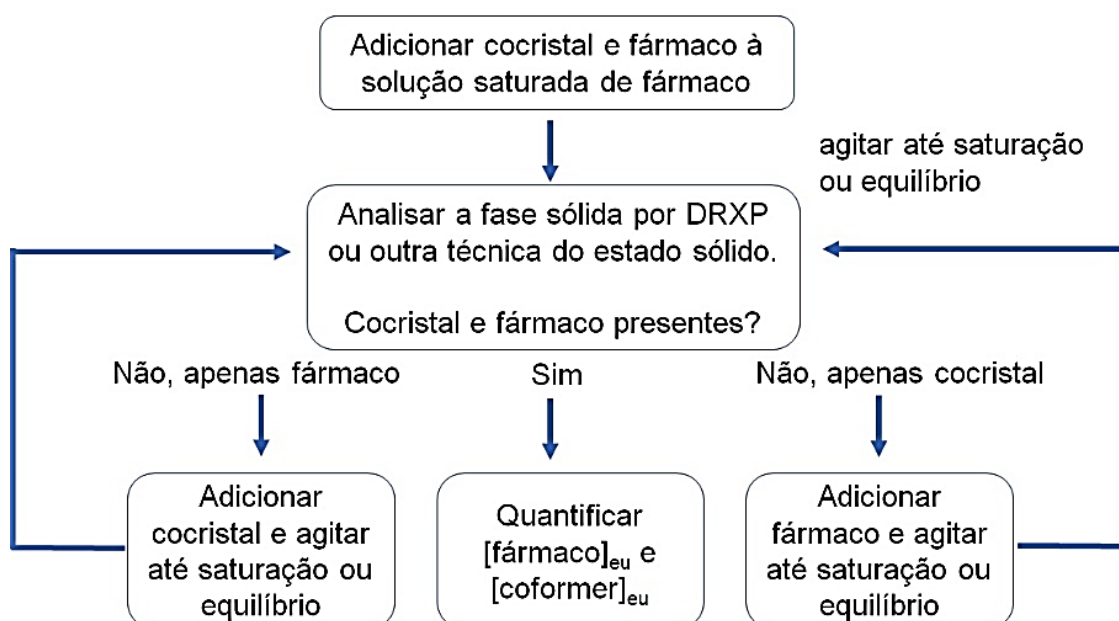
Para avaliação do cocrystal pelo método termodinâmico deve-se atingir o ponto eutético da solução. O ponto eutético (Peu) depende de fatores como temperatura, pH, solvente e presença de agentes solubilizantes, e é definido como aquele em que a solução encontra-se saturada em relação ao fármaco e ao cocrystal. Esse ponto é expresso pelas concentrações de fármaco e coformador e apresenta os mesmos valores de solubilidade para o fármaco e o cocrystal (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009). Portanto, comparando-se as curvas de solubilidade do fármaco e do cocrystal, o Peu é caracterizado pela interseção das curvas de solubilidade (RODRÍGUEZ-HORNEDO *et al.*, 2006).

A constante eutética (Keu) indica a estabilidade do cocrystal e é representada pela razão das atividades (a) do coformador e do fármaco no ponto eutético, as quais podem ser aproximadas à razão das concentrações (ROCHA *et al.*, 2016). Valores de $Keu > 1$ ou $Keu > 0,5$, para cocrisais 1:1 e 2:1, respectivamente, indicam instabilidade termodinâmica do cocrystal, mas maior solubilidade em relação ao fármaco. Enquanto valores de $Keu < 1$

ou $<0,5$ para cocristais 1:1 e 2:1, respectivamente, indicam maior estabilidade termodinâmica e menor solubilidade do cocristal em relação ao fármaco (GOOD; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2009).

O ponto eutético pode ser medido experimentalmente a partir da suspensão de pequenas quantidades de fármaco e cocristal em uma solução, até que seja alcançada a saturação. As concentrações dos componentes do cocristal da fase líquida devem ser avaliadas por CLAE, e da fase sólida por DRXP e DSC para assegurar a presença de cocristal e fármaco (HUANG; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010). A Figura 2 apresenta um fluxograma para auxiliar nas determinações do P_{eu} .

Figura 2: Esquema das etapas envolvidas na determinação das concentrações dos componentes do cocristal no P_{eu} .



Fonte: Adaptado de Good e Rodríguez-Hornedo (2010).

A partir da utilização do P_{eu} é possível determinar a solubilidade estequiométrica do cocristal pelas concentrações da solução eutética do fármaco e do coformador para um cocristal 1:1 e 2:1. As concentrações utilizadas são dadas pela soma de todas as espécies de fármaco e coformador em solução, incluindo espécies ionizadas e não ionizadas, bem como aquosas e solubilizadas (KUMINEK *et al.*, 2016).

A solubilidade do cocristal no P_{eu} é calculada pelas concentrações da solução eutética do fármaco e do coformador para um cocristal 1:1:

$$S^{1:1} = \sqrt{[\text{fármaco}]P_{eu}[\text{coformador}]P_{eu}} \quad \text{Equação 5}$$

A K_{eu} do cocrystal é calculada pela razão das atividades (a) do coformador e do fármaco no ponto eutético, as quais podem ser aproximadas à razão das concentrações:

$$K_{eu} \equiv \frac{a_{coformador,eu}}{a_{fármaco,eu}} \approx \frac{[coformador]_{eu}}{[fármaco]_{eu}} \quad \text{Equação 6}$$

Método cinético

Os testes de dissolução *in vitro* são métodos cinéticos de avaliação do desempenho de cocristsais, que correlacionam o perfil de concentração do fármaco versus o tempo. São os métodos mais encontrados na literatura, entretanto devem ser analisados com cautela devido à precipitação do fármaco (CHENEY *et al.*, 2010; ROY; LIPERT; RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2012).

Na indústria farmacêutica os testes de dissolução *in vitro* garantem o desempenho, a qualidade e a estabilidade do produto, por meio da definição de especificações para diferentes lotes de produção e condições de armazenamento. Na pesquisa os testes de dissolução *in vitro* são necessários para avaliar a solubilidade e o aumento da dissolução de fármacos. A dissolução *in vitro* permite a quantificação em tempo real das concentrações de fármacos e pode ser feito em condições sink e não-sink (SUN; WEN; TAYLOR, 2016).

A condição sink consiste em um método que resulta em uma dissolução total do fármaco, com curvas de concentração atingindo 100%. O volume do meio utilizado deve ser pelo menos três vezes o volume necessário para formar uma solução saturada do fármaco (USP, 2014). Neste método não há confirmação da capacidade da formulação em obter uma solução supersaturada do fármaco.

Os métodos de dissolução em condições não-sink utilizam um volume de meio de dissolução menor do que o necessários para dissolver todo o sólido adicionado ao experimento. Esse método proporciona a avaliação do desempenho real de SDDS, avaliando a extensão e a capacidade de atingir e manter a supersaturação de fármacos (SUN; WEN; TAYLOR, 2016). As especificações deste método não são pré-estabelecidas, deste modo, diferentes condições são consideradas não-sink, desde que estejam acima da saturação do fármaco, de acordo com a definição da Farmacopeia dos EUA (USP, 2014).

A utilização de condições não-sink em pesquisas para formulações supersaturantes é baseada em uma correlação *in vitro/in vivo* significativa, conforme demonstrado por estudos comparativos das dissoluções. Em um estudo com diferentes formulações de fenofibrato, a avaliação dos resultados *in vivo*, apresentaram similaridade com os resultados da condição não-sink e divergência com os da condição sink (VAN SPEYBROECK *et al.*, 2010). Em um outro estudo que avaliou micropartículas de carbamazepina, os resultados farmacocinéticos *in vivo* também apresentaram melhores correlações com a dissolução não-sink (DONG; MAINCENT; BODMEIER, 2007).

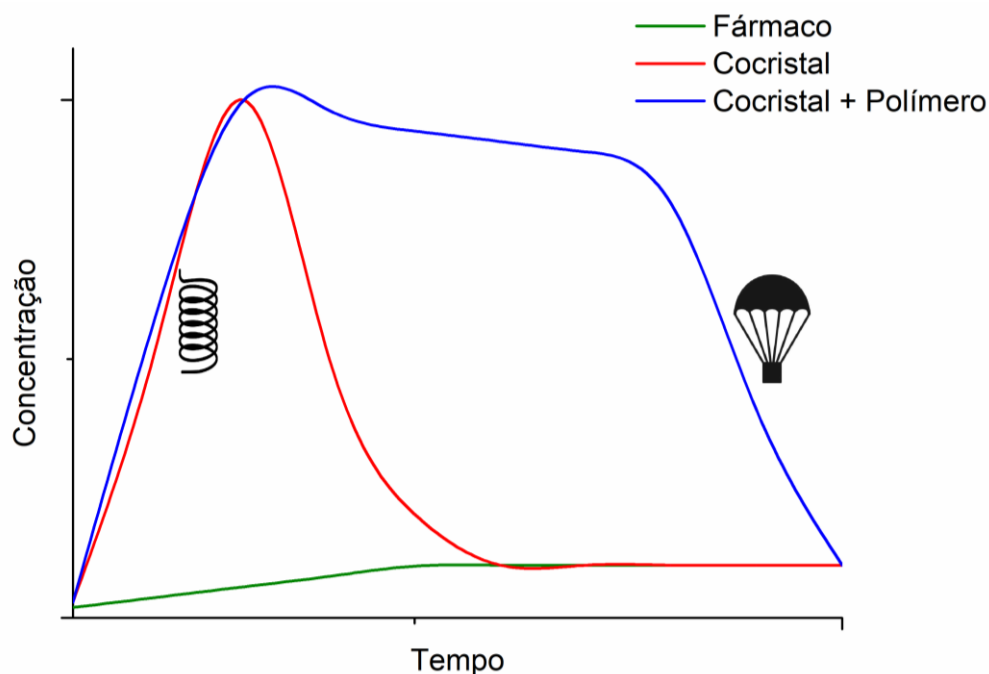
Até o momento, o teste de dissolução é a ferramenta de avaliação *in vitro* mais significativa que possibilita a comparação com o desempenho *in vivo* dos SDDS (BAGCHI; MUKHERJEE; PLAKOGIANNIS, 2012).

- **Influência de polímeros na dissolução dos cocristais**

Os SDDS são capazes de aumentar a biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis aumentando a concentração do fármaco em níveis acima da solubilidade de saturação, formando uma solução supersaturada que pode favorecer a absorção, se esta for mantida por tempo suficiente no trato gastrointestinal (BEVERNAGE *et al.*, 2013). Tal fenômeno pode ser explicado pelo conceito mola e paraquedas (do inglês *spring and parachute*), ilustrado da Figura 3 (GUZMAN *et al.*, 2007).

O cocrystal gera uma solução supersaturada (representada pela linha vermelha na Figura 3) que é comparado à uma mola. Esta condição possui alta instabilidade termodinâmica quando comparada à solução saturada (condição de equilíbrio). Por esse motivo, a solução supersaturada não permanece nesse estado e tende a atingir o estado menos energético, levando a recristalização do fármaco (BORBA, 2019).

Figura 3: Dissolução de fármaco, cocrystal e do cocrystal + polímero. O cocrystal gera uma solução supersaturada comparado à uma mola, que possui alta instabilidade termodinâmica e tende a recristalização do fármaco. A utilização de polímero inibe a precipitação e representa o “paraquedas”, que prolonga o estado supersaturado.



Fonte: Adaptado de (BAVISHI; BORKHATARIA, 2016; GUZMAN *et al.*, 2007)).

Para que os SDDS sejam efetivos, o estado de supersaturação deve ser mantido por um tempo fisiologicamente suficiente para que possa promover a melhor absorção de fármacos pouco solúveis. Polímeros e tensoativos são geralmente aplicados nos SDDS para aumentar a estabilidade por meio da inibição da recristalização do fármaco durante a dissolução (BORBA, 2019). A utilização desses inibidores de precipitação representa o “paraquedas” da Figura 8, que prolongam o estado supersaturado por tempo suficiente para absorção (120–300 min) (BAVISHI; BORKHATARIA, 2016).

A precipitação do fármaco a partir de um SDDS ocorre por dois processos, o primeiro é a nucleação, que consiste em aglomerados/agregados de moléculas dissolvidas, que podem crescer em cristais macroscópicos atingindo o segundo processo, denominado crescimento de cristais. A etapa de nucleação requer uma energia de ativação, devido à alta tensão interfacial entre os aglomerados e o solvente. Enquanto a energia não é alcançada, nenhum novo cristal pode ser formado e uma solução supersaturada metaestável aparece. A inibição da precipitação visa estabilizar essa

supersaturação, pelo maior tempo possível (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009).

Após a energia de nucleação ser superada, os cristais macroscópicos crescem por difusão das moléculas da solução supersaturada para a interface do cristal e pela integração da molécula na rede cristalina (KASHCHIEV; VAN ROSMALEN, 2003).

Como a supersaturação é uma condição termodinamicamente instável, ela precisa ser estabilizada por um período de tempo suficiente para absorção.

A recristalização de fármacos (ou precipitação) envolve duas etapas: nucleação e crescimento dos cristais. A primeira etapa ocorre com a aglomeração de moléculas do soluto em aglomerados bi ou tridimensionais (clusters) na solução, devido à alta tensão interfacial entre o solvente aquoso e o composto. Assim, quando os clusters atingem tamanhos macroscópicos, segue-se para a segunda etapa, onde as moléculas se arranjam de forma periódica para formar a estrutura cristalina e conseqüentemente ocorre a precipitação do fármaco (ERDEMIR; LEE; MYERSON, 2009).

Os polímeros possuem a capacidade de inibir a precipitação de fármacos, mantendo por maior tempo o estado de supersaturação da solução. Eles podem atuar no processo de nucleação, por meio da formação de ligações de hidrogênio entre o polímero e o fármaco, o que aumenta a energia de ativação da nucleação, retardando e diminuindo a espontaneidade desta etapa. Também atuam no crescimento de cristais pela capacidade de serem adsorvidos na superfície cristalina, o que impede que as moléculas do soluto atinjam esta superfície (XU; DAI, 2013).

Outros mecanismos que os polímeros podem apresentar para inibir a precipitação incluem: o aumento da viscosidade, resultando numa mobilidade molecular reduzida; redução do coeficiente de difusão; e redução do grau de supersaturação pelo aumento da solubilidade da solução (BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009)

Para o uso bem-sucedido na formação farmacêutica de comprimidos, é necessário que os cocrists sejam estabilizados pelos componentes da formulação. (ULLAH; HUSSAIN; SUN, 2015) *et al.*, 2015, obtiveram cocrists de carbamazepina e ácido succínico pelo MCR e desenvolveram formulações utilizando três polímeros (Soluplus®, Kollidon e HPMC). Os resultados mostraram uma melhoria de 16% na taxa de dissolução *in vitro* no fluido intestinal simulado, e a biodisponibilidade foi significativamente melhor do que o comprimido comercial.

Em outro estudo, avaliou-se que uma formulação adequada era necessária para obter vantagem do aumento da solubilidade do cocrystal 1:1 danazol: vanilina obtido por

MCR. Os pesquisadores observaram que a suspensão aquosa do cocrystal apresentou área sob a curva *in vivo* 1,7 vezes maior, enquanto a suspensão aquosa formulada contendo 1% de vitamina E-TPGS e 2% de hidroxipropilcelulose melhorou a biodisponibilidade do fármaco em mais de dez vezes (CHILDS; KANDI; LINGIREDDY, 2013).

Dai *et al.*, 200 avaliaram a cinética da precipitação de um composto pouco solúvel em água, com potenciais aplicações no tratamento da obesidade. Os autores avaliaram a dissolução *in vitro* em meio biorrelevante e compararam com a absorção *in vivo* em estudos farmacocinéticos caninos. Os resultados mostraram que a formulação de precipitação rápida apresentou menor biodisponibilidade, enquanto as formulações de precipitação lenta e sem precipitação obtiveram uma biodisponibilidade melhor.

Também se observou vantagem na utilização de polímeros em uma pesquisa que avaliou o cocrystal de lamotrigina em uma mistura em pó com polímero, em meio biorrelevante FaSSIF, detectando-se um aumento de até 3,7 vezes na dissolução do fármaco com o polímero HPMC E6 na proporção 1:0,1 (m/m cocrystal:polímero) (BISCAIA *et al.*, 2022).

Conclusão

Neste capítulo, foram abordados os métodos de avaliação de cocristsais farmacêuticos, buscando verificar de maneira conclusiva se houve, de fato, aprimoramento na solubilidade de fármacos pouco solúveis mediante o seu desenvolvimento. A diversidade de metodologias utilizadas para a avaliação de cocristsais é notável, revelando uma falta de padronização nesse contexto, o que por sua vez cria uma lacuna na comparação dos resultados obtidos por distintos pesquisadores.

Destaca-se, no entanto, que a associação de cocristsais com polímeros demonstrou ser altamente vantajosa, conforme evidenciado por diversos estudos científicos. Essa abordagem representa uma perspectiva promissora para otimizar a solubilidade de fármacos, oferecendo contribuições valiosas para o desenvolvimento futuro de formulações farmacêuticas mais eficazes e estáveis.

Referências

ALHALAWEH, A.; ALI, H. R. H.; VELAGA, S. P. Effects of polymer and surfactant on the dissolution and transformation profiles of cocrystals in aqueous media. **Crystal Growth and Design**, v. 14, n. 2, p. 643–648, 2014.

- BAGCHI, S.; MUKHERJEE, T.; PLAKOGIANNIS, F. Re-evaluation of in vitro dissolution techniques for supersaturating drug delivery systems. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 17, n. 4, p. 477–482, 2012.
- BAVISHI, D. D.; BORKHATARIA, C. H. Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 62, n. 3, p. 1–8, 2016.
- BEVERNAGE, J. et al. Evaluation of gastrointestinal drug supersaturation and precipitation: Strategies and issues. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 25–35, 2013.
- BISCAIA, I. F. B. et al. Effects of Polymers on the Supersaturation Studies of Lamotrigine - Nicotinamide Cocrystals in Water and Biorelevant Medium. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 73, n. 103451, 2022.
- BORBA, A. A. **Desenvolvimento e investigação de sistemas supersaturados de liberação do fármaco telmirsatana**. [s.l: s.n.].
- BROUWERS, J.; BREWSTER, M. E.; AUGUSTIJNS, P. Supersaturating Drug Delivery Systems: The Answer to Solubility-Limited Oral Bioavailability? **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 98, n. 8, p. 2049–2072, 2009.
- CHENEY, M. L. et al. Effects of crystal form on solubility and pharmacokinetics: A crystal engineering case study of lamotrigine. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 1, p. 394–405, 2010.
- CHILDS, S. L.; KANDI, P.; LINGIREDDY, S. R. Formulation of a Danazol Cocrystal with Controlled Supersaturation Plays an Essential Role in Improving Bioavailability. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 8, p. 3112–3127, 2013.
- DAI, W. et al. Evaluation of Drug Precipitation of Solubility-Enhancing Liquid Formulations Using Milligram Quantities of a New Molecular Entity (NME). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 11, p. 2957–2969, 2007.
- DONG, W. Y.; MAINCENT, P.; BODMEIER, R. In vitro and in vivo evaluation of carbamazepine-loaded enteric microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 331, n. 1, p. 84–92, 2007.
- ERDEMIR, D.; LEE, A. Y.; MYERSON, A. S. Nucleation of crystals from solution: Classical and two-step models. **Accounts of Chemical Research**, v. 42, n. 5, p. 621–629, 2009.
- FRIŠČIĆ, T.; JONES, W. Benefits of cocrystallisation in pharmaceutical materials science: An update. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, n. 11, p. 1547–1559, 2010.
- GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Solubility Advantage of Pharmaceutical Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 9, n. 5, p. 2255–2264, 2009.

GUZMAN, H. R. et al. Combined Use of Crystalline Salt Forms and Precipitation Inhibitors to Improve Oral Absorption of Celecoxib from Solid Oral Formulations. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 96, n. 10, p. 2686–2702, 2007.

HUANG, N.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Effect of micellar solubilization on cocrystal solubility and stability. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 5, p. 2050–2053, 2010.

KASHCHIEV, D.; VAN ROSMALEN, G. M. Review: Nucleation in solutions revisited. **Crystal Research and Technology**, v. 38, n. 7–8, p. 555–574, 2003.

KUMINEK, G. et al. Cocrystals to facilitate delivery of poorly soluble compounds beyond-rule-of-5. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 143–166, 2016.

MARTIN, F. A. et al. Ketoconazole salt and co-crystals with enhanced aqueous solubility. **Crystal Growth and Design**, v. 13, n. 10, p. 4295–4304, 2013.

PELLETT, M. A. et al. The penetration of supersaturated solutions of piroxicam across silicone membranes and human skin in vitro. **Journal of Controlled Release**, v. 46, n. 3, p. 205–214, 1997.

RAINA, S. A. et al. Impact of Solubilizing Additives on Supersaturation and Membrane Transport of Drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 32, n. 10, p. 3350–3364, 2015.

ROCHA, A. B. O. et al. Cocristais: Uma Estratégia Promissora Na Área Farmacêutica. **Quim. Nova**, v. 39, n. 9, p. 1112–1125, 2016.

RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. et al. Reaction crystallization of pharmaceutical molecular complexes. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, n. 3, p. 362–367, 2006.

ROY, L.; LIPERT, M. P.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Co-crystal Solubility and Thermodynamic Stability. **Pharmaceutical salts and co-crystals**, p. 247–279, 2012.

SUN, D. D.; WEN, H.; TAYLOR, L. S. Non-Sink Dissolution Conditions for Predicting Product Quality and In Vivo Performance of Supersaturating Drug Delivery Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 9, p. 2477–2488, 2016.

ULLAH, M.; HUSSAIN, I.; SUN, C. C. The development of carbamazepine-succinic acid cocrystal tablet formulations with improved in vitro and in vivo performance formulations with improved in vitro and in vivo performance. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 9045, n. October, 2015.

USP. United States Pharmacopeia. **The Dissolution Procedure: Development and Validation**, USP 36, n. 735, 2014.

VAN SPEYBROECK, M. et al. Enhanced absorption of the poorly soluble drug fenofibrate by tuning its release rate from ordered mesoporous silica. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 5, p. 623–630, 2010.

CAPÍTULO 7

PROCEDIMENTOS QUE RETARDAM O ENVELHECIMENTO CUTÂNEO E MODELOS EXPERIMENTAIS PARA ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIENVELHECIMENTO

PROCEDURES THAT DELAY SKIN AGING AND EXPERIMENTAL MODELS FOR ANALYSIS OF ANTI-AGING ACTIVITY

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.07>

Submetido em: 15/01/2024

Revisado em: 22/01/2024

Publicado em: 25/01/2024

Natan Cordeiro da Silva

Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Departamento de Histologia e Embriologia – Recife, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/5861102020265570>

Bruno José da Silva Bezerra

Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica – Recife, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/5524038913919195>

Eliandra de Andrade Santos

Faculdade Santíssima Trindade – Nazaré da Mata, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/8406652015335811>

Alyce Gabrielle de Araújo Oliveira

Faculdade Santíssima Trindade – Nazaré da Mata, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/3672804570727587>

Aureliany da Conceição Patricio

Faculdade Santíssima Trindade – Nazaré da Mata, Pernambuco, Brasil.

<https://lattes.cnpq.br/4961901146283930>

José Manoel do Nascimento

Faculdade Santíssima Trindade – Nazaré da Mata, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/4868187494735855>

Luciana Ângelo Bezerra

Faculdade Santíssima Trindade – Nazaré da Mata, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/1514594071254110>

Noemia Pereira da Silva Santos

Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Departamento de Histologia e Embriologia – Recife, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/1521392734944183>

Maria Tereza dos Santos Correia

Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica – Recife, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/7863845087003953>

Fernanda Miguel de Andrade

Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Departamento de Histologia e Embriologia – Recife, Pernambuco, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/8915203118340030>

Resumo

Apesar de fisiológico, as consequências do envelhecimento da pele são indesejadas por boa parte da população. Principalmente se esse processo for acelerado por fatores externos como a poluição e os raios solares, levando os sinais característicos do envelhecimento a aparecerem precocemente. O prelúdio de

rugos, flacidez e manchas na pele leva cada vez mais pessoas a procurarem profissionais capazes de tratar esses problemas e revertê-los. O objetivo deste trabalho é descrever os procedimentos utilizados atualmente para retardar o envelhecimento da pele e explicar os modelos experimentais disponíveis para a análise de atividade antienvelhecimento. Existem diversos métodos utilizados para retardar o envelhecimento da pele ou revertê-lo, boa parte deles estão voltados para induzir a produção de colágeno, como o microagulhamento e os bioestimuladores de colágeno. Existem alguns problemas relacionados a utilização dos produtos atuais, como reações adversas graves, procedimentos invasivos e baixa durabilidade. Por isso, existe a necessidade da busca de novos compostos estimulantes da produção de colágeno, assim como a análise dos métodos experimentais utilizados para a análise de atividade antienvelhecimento. Entre os métodos experimentais utilizados para esse tipo de análise, existem os testes em animais, que vem cada vez menos sendo utilizados e os *in vitro*, com a utilização de células, que hoje, são mais indicados por questões éticas e terem boa comparabilidade com o organismo humano.

Palavras-chave: Envelhecimento da pele. Colágeno. Matriz Extracelular.

Abstract: Despite being physiological, the consequences of skin aging are unwanted by a large part of the population. Especially if this process is accelerated by external factors such as pollution and sunlight, causing the characteristic signs of aging to appear prematurely. The prelude to wrinkles, sagging and blemishes on the skin leads more and more people to look for professionals capable of treating these problems and reversing them. The objective of this work is to describe the procedures currently used to delay skin aging and explain the experimental models available for the analysis of anti-aging activity. There are several methods used to stop skin aging or reverse it, most of them are aimed at inducing collagen production, such as microneedling and collagen bio-stimulators. There are some problems related to the use of current products, such as serious adverse reactions, invasive procedures and low durability. Therefore, there is a need to search for new compounds that stimulate collagen production, as well as the analysis of experimental methods used to analyze anti-aging activity. Among the experimental methods used for this type of analysis, there are animal tests, which are being used less and less, and *in vitro* tests, using cells, which today are more recommended for ethical reasons and have good comparability with the organism. human.

Keywords: Skin aging. Collagen. Extracellular Matrix.

Introdução

O envelhecimento da pele é um processo fisiológico que acomete todos os indivíduos humanos no decorrer da vida. Estima-se que aproximadamente aos vinte e cinco anos de idade inicia-se o declínio das atividades biológicas da pele e conseqüentemente o início do desgaste natural. Ignorando os fatores externos que induzem esse processo, a pele levaria anos para apresentar marcas de expressões características do envelhecimento, pois esse processo é lento (Csekes; Racková, 2021).

O problema, é que existem diversos agentes externos que aceleram a degradação desse tecido, como o tabaco, má alimentação, raios solares e até mesmo a poluição. Quanto maior o nível de exposição, mais rápido torna-se a deterioração de substâncias importantes para a pele e inicia-se o aparecimento precoce das rugas e flacidez (Cui *et al.*, 2021).

A pele é subdividida em epiderme e derme, sendo a derme a parte mais profunda desse tecido. Nela está presente a matriz extracelular (MEC), composta por fibras

colágenas e elásticas, ácido hialurônico (AH) e outros componentes. A MEC possui várias funcionalidades e entre elas, é responsável pelo preenchimento da pele, pela elasticidade e sustentação do tecido (Nguyen; Soulika, 2019; Shin *et al.*, 2019).

Com o envelhecimento, temos uma degradação desordenada dos componentes da MEC sem substituição. Os fatores extrínsecos que levam a essa degradação, basicamente induzem a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e esses compostos provocam diversas cascatas de reações que degradam substâncias. Um exemplo é que as EROs induzem a produção de enzimas metaloproteinases (MMPs), que degradam as fibras de colágeno, além disso, também inibem diretamente a síntese de colágeno pelos fibroblastos (Ho; Dreesen, 2021).

Existem diversos métodos utilizados para tentar retardar o envelhecimento da pele. A maioria voltado para a renovação das fibras de colágeno, onde os mais eficazes tendem a ter baixa durabilidade, serem invasivos e em alguns casos apresentam efeitos colaterais graves. Por esse motivo, diversos estudos buscam métodos alternativos e novas substâncias que possam ser mais eficazes e seguras para retardarem o envelhecimento da pele (Csekes; Racková, 2021).

Com base no descrito, o objetivo deste trabalho é descrever os procedimentos utilizados atualmente para retardar o envelhecimento da pele e explicar os modelos experimentais disponíveis para a análise de atividade antienvhecimento.

Revisão Bibliográfica

• Estratégias para retardar o envelhecimento da pele

Com o aumento da valorização da aparência pela sociedade como um todo, tem-se buscado cada vez mais procedimentos e substâncias que retardem o envelhecimento da pele. A utilização de processos mecânicos, como o microagulhamento, e de bioestimuladores de colágeno, como a hidroxiapatita de cálcio, são exemplos de procedimentos que induzem a produção de colágeno e logo retardam ou reverterem a flacidez da pele (Zouboulis *et al.*, 2019).

A busca por produtos antienvhecimento da pele tende a focar principalmente no colágeno. Vendo que após o início do envelhecimento existe um ciclo de destruição das fibras de colágeno de forma mais acentuada, onde a degradação se torna maior que a reposição. (Dayan *et al.*, 2019). Uma das possibilidades é a busca de agentes que inibam as enzimas degradadoras de colágeno, as (MMPs) MMP-1, MMP-8 e MMP-13

(colagenases). Essa inibição faria com que essas enzimas ficassem impedidas de degradar as fibras de colágeno existentes, logo a pele permaneceria com os espaços da MEC bem preenchidos. Porém, esse mecanismo não levaria em consideração a renovação dos componentes da MEC, e se os fibroblastos pararem ou reduzirem a liberação de colágeno, com o passar do tempo a pele continuará envelhecendo por falta de renovação (Shin *et al.*, 2019).

Outra opção, seria inibir a produção EROs ou degradá-las, como a vitamina C atua. Com isso, existiria uma redução da formação de MMPs e logo uma menor degradação das fibras de colágeno. Porém, inibir a produção das EROs se torna algo muito improvável, levando em consideração que vários mecanismos celulares liberam essas espécies e que ações extrínsecas ao corpo promovem a formação dessas espécies, como os hábitos alimentares e a própria exposição aos raios solares, por exemplo (Boo, 2022).

Atualmente, sabe-se que um fator muito importante para a estimulação da produção de colágeno pelos fibroblastos é a indução da inflamação da região. Essa indução controlada faz com que os fibroblastos voltem a sua atividade normal e comecem a sintetizar colágeno (Taub; Pham, 2018). Fica claro que entre as possibilidades de mecanismos, a indução da reativação da produção do colágeno pelos fibroblastos seria a ideal. Essa indução faz com que os espaços intercelulares sejam novamente preenchidos e que a ligação entre os fibroblastos e a MEC seja retomada (Shin *et al.*, 2019).

- **Retinóides**

Os retinóides, são a vitamina A e seus derivados, normalmente utilizados para o tratamento da acne, manchas e rugas. De forma geral, para o tratamento de rugas esses medicamentos atuam através de receptores do ácido retinóico (RARs) e receptores X (RXRs) e acabam aumentando a quantidade de procolágeno e conseqüentemente colágeno do tipo I, III e VII, além de estimular a produção, eles também contribuem para a organização das fibras colágenas (Shin *et al.*, 2019).

A principal utilização dessas substâncias é para o tratamento de acne. A isotretinoína, o medicamento mais famoso dessa classe é utilizado com muita frequência para a redução da oleosidade da pele e conseqüentemente o fim das acnes. Possui uma grande efetividade e atua basicamente provocando uma descamação da camada córnea, afinando a pele e atrofiando as glândulas sebáceas, impedindo a produção de oleosidade (Fallah; Rademaker, 2021).

Apesar da sua eficácia, esses produtos apresentam efeitos colaterais bem incômodos. A isotretinoína, por exemplo, por ser utilizada de forma sistêmica provoca um ressecamento em toda a pele, os lábios ressecam, aparecem rachaduras e podem apresentar sangramento. A pele fica sensível ao sol, podendo os usuários apresentarem irritações e existem várias evidências de casos de depressão relacionados ao uso (Huang; Cheng, 2017).

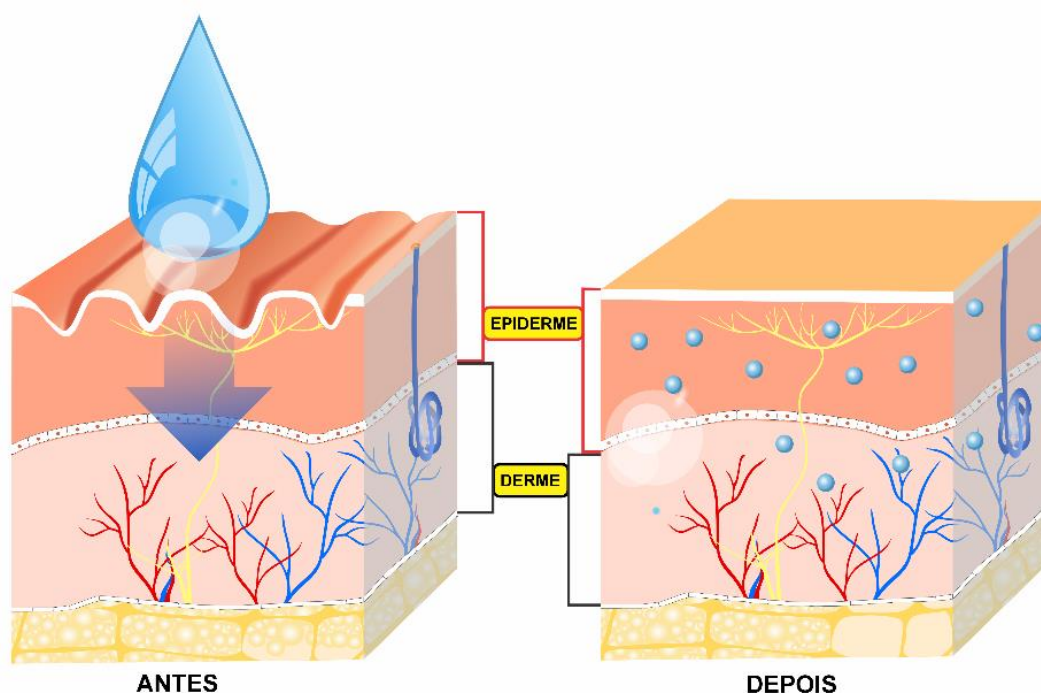
Já um dos efeitos colaterais mais graves acontece em mulheres que fazem uso desses produtos na gestação, pois podem provocar abortos espontâneos além de teratogênias graves aos bebês. Por esse motivo, retinóides de uso sistêmico fazem parte das substâncias de controle especial e existe todo um protocolo estabelecido por lei para que se autorize a utilização dessas substâncias (Alvarenga, 2015).

- **Ácido Hialurônico**

Outra estratégia antienvhecimento bastante utilizada é o preenchimento, que consiste em utilizar um produto, por exemplo o (AH) para preencher os espaços da MEC, o que leva a uma interação melhorada entre os fibroblastos e a MEC. Além disso, o AH induz a produção de colágeno pelos fibroblastos através da via de sinalização TGF- β (Scarano *et al.*, 2021).

O AH é um glicosaminoglicano, polissacarídeos de preenchimento da MEC de vários tecidos, que também está presente na derme, sofre redução com aumento da idade e sua ausência também contribui para o aparecimento de rugas. Essa molécula consegue reter uma grande quantidade de água, mantém a região preenchida e a pele bem hidratada (Figura 1). O preenchimento com o gel de AH na pele se dá de forma invasiva por administração com agulhas diretamente na derme (Cui *et al.*, 2021).

Figura 1 – Efeito de preenchimento do ácido hialurônico.



Fonte: Autoria própria (2023).

Existem alguns cosméticos que utilizam outras formas de administração, como na forma de sal, o hialuronato de sódio. Quando o sal tem baixo peso molecular como no caso do Oligo AH ele consegue penetrar com maior facilidade e chegar à derme. Já quando tem um peso molecular elevado só penetra a primeira camada da pele, absorve grande quantidade de água e dá um preenchimento temporário de algumas horas. Um exemplo de utilização desse tipo de AH é a utilização em gloss ou batons que dão um inchaço temporário aos lábios (Wohlrab; Hilpert; Wolff, 2016; Dayan *et al.*, 2019).

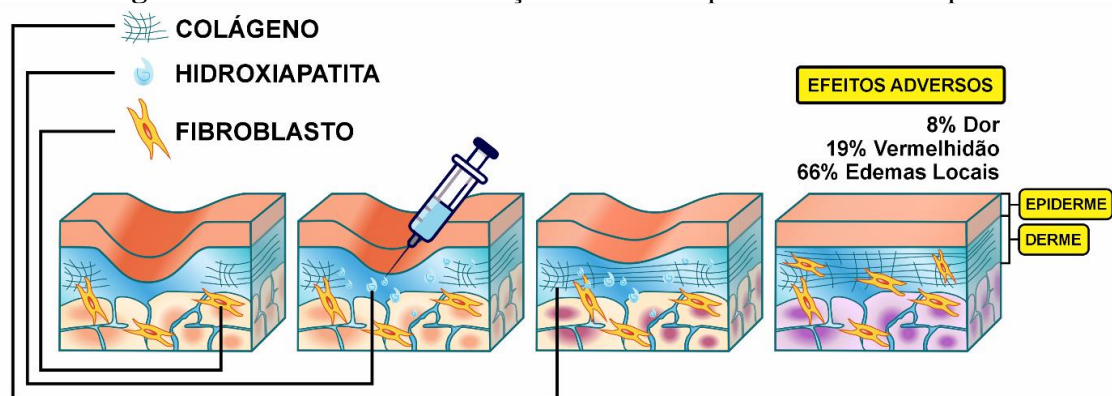
- **Hidroxiapatita de cálcio**

Os bioestimuladores de colágeno são também produtos utilizados com a finalidade antienvhecimento que tem uma ótima aceitação comercial. Entre esses produtos, destaca-se a hidroxiapatita de cálcio como um dos mais utilizados. Consiste em uma molécula sintética biocompatível composta por fosfato de cálcio cristalino, são pequenas esferas que possuem a capacidade de serem biodegradáveis com o tempo (Csekes; Racková, 2021).

Logo após a administração, ele provoca um preenchimento imediato e momentâneo da região da aplicação, removendo assim as rugas. Devido a uma reação inflamatória provocada de forma controlada, os fibroblastos se dirigem a região da aplicação e são estimulados a produzir colágeno tipo I e III. Com o passar do tempo essas esferas começam a ser degradadas e fagocitadas lentamente e ao mesmo tempo o colágeno

tipo I vai sendo produzido e substituindo o espaço dessas esferas no tecido (Figura 2). Esse processo é lento, inicia-se dentro de um mês e pode durar até um ano, já os efeitos da aplicação, podem ter uma durabilidade de três anos (Wohlrab; Hilpert; Wolff, 2016).

Figura 2 – Efeito da administração de hidroxiapatita de cálcio na pele.



Fonte: Autoria própria (2023).

Esses bioestimuladores são normalmente seguros, e raramente apresentam efeitos adversos graves. No caso da hidroxiapatita de cálcio são comuns edemas e pequenas manchas pós aplicação, mas que desaparecem em alguns dias. Pode acontecer a formação de granulomas na região da aplicação devido à má aplicação e eles podem ser revertidos com massagem (Dayan *et al.*, 2019).

• Ácido ascórbico

Uma substância que tem um papel essencial na síntese do colágeno é o ácido ascórbico (Vitamina C), uma molécula natural importante na promoção da bioestimulação do colágeno pelos fibroblastos. Ele é um excelente antioxidante, impede a oxidação de duas enzimas precursoras do colágeno, a prolil e a lisil hidroxilase, duas enzimas férricas que oxidam facilmente na ausência da vitamina C. Além de contribuir com essa síntese, contribui também na desativação de EROs, provocando a sua redução e logo uma redução na formação das MMPs (Gref *et al.*, 2020).

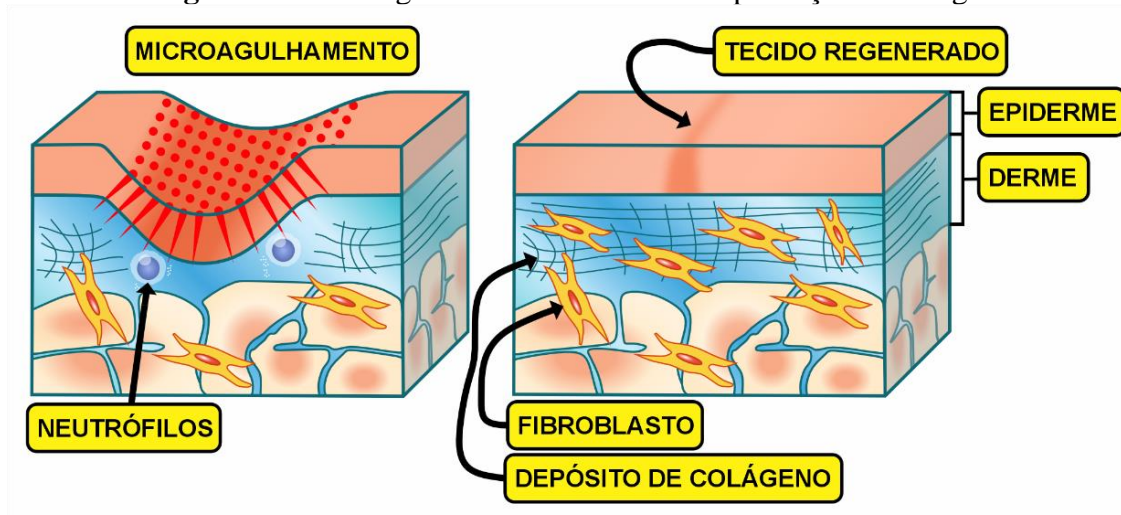
Existem vários cosméticos a base de vitamina C no mercado que tem como foco especial a pele. Como a biodisponibilidade do ácido ascórbico na pele não é efetiva quando ele é administrado por via oral, os produtos voltados para essa finalidade são normalmente tópicos. Um problema enfrentado para essa administração é a permeabilidade da Vitamina C à camada córnea, devido a sua baixa lipofilicidade, o que faz com que esse composto tenha que ser conjugado com agentes lipofílicos para facilitar a passagem por essa barreira (Boo, 2022).

Além da dificuldade de permeabilidade, a vitamina C apresenta uma instabilidade em condições normais de temperatura e ambiente. Existe todo um cuidado e cautela com os produtos cosméticos a base desse produto e ainda assim, muitos podem perder a qualidade devido às más condições de armazenamento (Dayan *et al.*, 2019).

- **Microagulhamento**

O microagulhamento ou indução percutânea de colágeno é uma técnica simples que busca provocar pequenos furos (lesões) com várias agulhas para estimular a inflamação e conseqüentemente a produção de colágeno e elastina pelos fibroblastos de forma natural (Figura 3). É uma técnica minimamente invasiva que apresenta ótimos resultados, provoca a redução das rugas, da flacidez da pele, estrias e até de melasma. Essa técnica pode ser associada ao uso de alguns cosméticos após as microperfurações, como por exemplo a vitamina C para potencializar o estímulo (Albano; Pereira; Assis, 2018).

Figura 3 – Microagulhamento e estímulo da produção de colágeno.



Fonte: Autoria própria (2023).

O estímulo de produção ocorre por essas micro-lesões provocarem a liberação de citocinas, fatores de crescimento e neutrófilos, que por sua vez sinalizam e estimulam os fibroblastos a migrarem e iniciarem a produção das fibras elásticas e de colágeno na região lesionada. No início a produção de colágeno é principalmente do tipo III e em menor quantidade tipo I, essa conformação dura alguns meses até um processo de remodelação do tecido, onde o colágeno tipo III é convertido no tipo I e esse permanece por vários anos (Albano; Pereira; Assis, 2018).

- **Colágeno**

Além de vários produtos voltados para o estímulo da produção de colágeno, existe ainda também o próprio colágeno, que é comercializado em diversas formas. Entre esses produtos, alguns se apresentam como moléculas de colágeno inteiras e outras como moléculas de colágeno fragmentadas, ditos peptídeos de colágeno. Para isso, é realizado uma reação de hidrólise da molécula para que aconteça a quebra dos peptídeos, resultando no famoso colágeno hidrolisado. As diferentes formas de apresentação modificam apenas o tempo de absorção, onde o colágeno hidrolisado será absorvido mais rapidamente (Porfírio; Fanaro, 2016).

O colágeno administrado por via oral é considerado um nutracêutico seguro, sua suplementação principalmente para idosos é muito bem recomendada, pois contribui para uma revitalização da pele, o fortalecimento das cartilagens e prevenção da osteoporose ou da sua progressão, doença essa que atinge principalmente a população idosa (Zouboulis *et al.*, 2019).

Uma das desvantagens da administração oral do colágeno é que a sua molécula não é absorvida inteira, antes que aconteça a absorção, quando não hidrolisado, ela precisa ser hidrolisada e esse processo ocorre quase que por completo no duodeno e no jejuno pelo suco pancreático, viram pequenos peptídeos ou aminoácidos. Depois de absorvidos essas substâncias são distribuídas para diversas reações, uma quantidade infinitesimal pode ser direcionada para a formação de colágeno, o restante se perde em outras reações ou são excretadas (Porfírio; Fanaro, 2016).

- **Modelos experimentais que buscam analisar atividades antienvhecimento**

Na ciência, existem diversos métodos experimentais para a realização de testes sobre eficácia de fármacos. Sabe-se que nada substitui os testes realizados diretamente no ser humano, porém para esses testes são levantadas diversas questões éticas devido à possibilidade de que substâncias desconhecidas podem levar ao surgimento de sequelas graves e até a morte (Williams, 2006). Por isso, antes das testagens em humanos, são buscadas possibilidades de estudos em outras formas e modelos semelhantes, que possam trazer resultados fidedignos e representem teoricamente o que aconteceria no homem. Só depois de vários estudos que comprovem a eficácia e a sua segurança é que esses protótipos podem ser testados nos seres humanos (Moon *et al.*, 2021).

Dentre esses métodos utilizados que possam ser confiáveis existem a utilização de animais como cobaias para testes de toxicidade e eficácia, esse é um dos métodos mais

utilizados, mas vem perdendo espaço gradativamente por também envolver vidas (Monteiro *et al.*, 2013). O avanço da ciência tem permitido que a utilização dos animais em pesquisas científicas possa ser reduzida. Com a pressão da sociedade e os avanços tecnológicos várias indústrias têm buscado métodos alternativos espontaneamente para a realização de experimentos, com a finalidade de abolir a utilização de animais. Recentemente, o Senado Brasileiro aprovou o projeto de lei PLC 70/2014 que proíbe a utilização de animais em pesquisas e testes para a produção de cosméticos, produtos de higiene pessoal e perfumes; a lei entrou em vigor em 24 de fevereiro de 2023 através da resolução nº58, esse marco torna-se um grande avanço para o fim dos testes em animais no Brasil (Disner, 2019; Diário Oficial Da União, 2023).

Estudos *in vitro* representam o funcionamento celular e os processos bioquímicos, sendo capazes de apresentarem boa comparabilidade com os estudos com o corpo humano. Ademais, não trazem prejuízos para vidas, sendo assim um método eficaz e seguro para a realização de estudos tanto para atividade de protótipos quanto de toxicidade. Dentro da área de cultura celular, existem possibilidades de estudos como (Disner, 2019):

- Monoculturas: culturas celulares que utilizam apenas um tipo celular no meio, como por exemplo, apenas fibroblastos;
- Co-culturas: culturas celulares que utilizam mais de um tipo celular no meio como por exemplo, a utilização de fibroblastos, queratinócitos e melanócitos;
- Culturas 2D: culturas celulares que ficam em superfície plana, as células interagem apenas lado a lado e se multiplicam uma ao lado das outras de forma horizontal;
- Culturas 3D: modelo que possibilita uma maior representatividade do modelo fisiológico original, possibilita que as células interajam com o ambiente em todas as direções. Permite uma maior interação célula-célula.

Então, principalmente para estudos preliminares, modelos *in vitro* devem ser os métodos adotados em estudos de descoberta de novos fármacos. Ficando os estudos com seres humanos para etapas finais do desenvolvimento (Williams, 2006).

A utilização de modelos *in vitro* é uma alternativa ideal para realização de experimentos preliminares levando em consideração a confiabilidade desse modelo, a humanização do processo e a possibilidade de repetições simultâneas dos testes (Suzuki *et al.*, 2020). Esses modelos utilizam células de animais que reproduzem os processos

fisiológicos e com isso, possibilita a visualização das respostas celulares a possíveis fármacos. Os testes com culturas celulares não substituem totalmente os testes com o ser humano, pois trata-se de um organismo complexo, que possibilita muitas variáveis. Porém além de respostas semelhantes, pode-se destacar também como vantagem a reprodutibilidade, a rapidez em que os testes podem ser realizados e a necessidade de uma quantidade de amostras reduzida (Moon *et al.*, 2021).

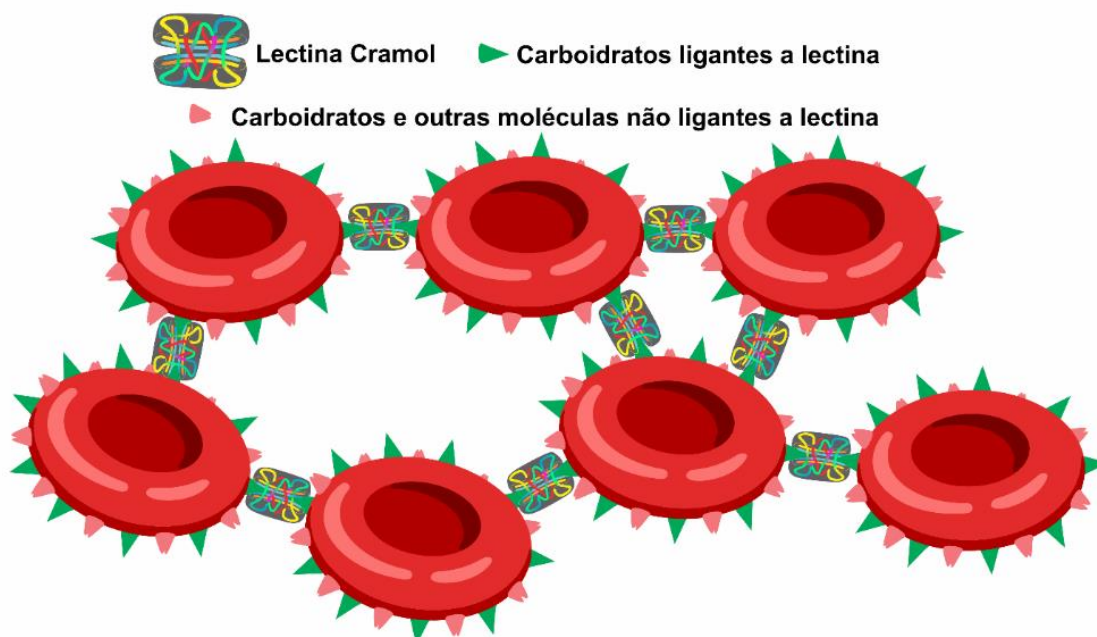
- **Lectina de *Cratylia mollis***

As lectinas são proteínas bioativas de origem não imunológica com capacidades moduladoras para diversos mecanismos fisiológicos. Elas se ligam reversivelmente a carboidratos e por isso desempenham papéis importantes em mecanismos celulares, como capacidades mitogênicas e indutores de síntese de proteínas. Podem ser encontradas em diversas formas de vidas, como plantas, animais e microrganismos (Gautam *et al.*, 2020).

A primeira lectina identificada foi a ricina, extraída da *Ricinus communis* L. (mamona) em 1888 por Stillmark, quando ele observou a atividade hemoaglutinante do extrato. Apesar de ter sido descoberta a muito tempo, a pouco menos de um século é que se começou a estudar de forma mais difundida as lectinas existentes e as suas atividades. Existem diversas lectinas conhecidas que são extraídas principalmente de plantas leguminosas, entre elas a que está mais bem caracterizada até o momento é a Concanavalina A (Con A) que é uma lectina extraída da planta *Canavalia ensiformis* (Huldani *et al.*, 2022).

Por serem seletivas a carboidratos, apresentam capacidade de se ligar especificamente e reversivelmente a carboidratos da parede celular de eritrócitos em sistemas sanguíneos ABO e MN, através de ligações hidrofóbicas e de hidrogênio. Essa propriedade permite as lectinas a capacidade de aglutinar os eritrócitos de forma seletiva e isso distingue as mesmas de outras moléculas como as glicotransferases. Através dessa ligação às proteínas da parede celular dos eritrócitos é possível a realização do teste de hemoaglutinação para verificar a presença e/ou atividade de lectinas (Figura 4) (Sá *et al.*, 2009).

Figura 4 – Hemoaglutinação mediada por uma lectina.



Fonte: Autoria própria (2023).

Elas podem ser encontradas naturalmente ligadas reversivelmente a proteínas de paredes celulares, pois muitas dessas proteínas são glicosiladas e se tornam um sítio de ligação para essas lectinas através do seu “sítio de ligação a carboidrato” (Domínio de Reconhecimento a Carboidrato – CDR) um mecanismo conhecido como encaixe induzido (Nascimento *et al.*, 2020).

A Cramoll 1,4 é uma lectina muito semelhante a Con A e possui diversos efeitos fisiológicos já conhecidos. Essa lectina é extraída das sementes de *Cratylia mollis* (feijão camaratu), uma leguminosa nativa do nordeste brasileiro, predominante do bioma Caatinga, que se apresenta em formas de arbustos. Quando a extração é realizada, é obtido diversas formas moleculares da lectina: Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3 e Cramoll 4. A Cramol 1,4 é uma associação das duas formas moleculares específica para glicose/manose (Melo *et al.*, 2011).

Dentre as atividades observadas até o momento da Cramoll 1,4 pode-se destacar as atividades imunomoduladoras e anti-infecciosas (Carneiro *et al.*, 2021), pró-inflamatórias e mitogênicas (Melo *et al.*, 2010), antitumoral (Cunha *et al.*, 2016), e cicatrizante (Melo *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2021). Podendo ela mediar processos infecciosos contra agentes invasores, contribuindo com ativações de citocinas importantes para estimulação de células do sistema imune, como as interleucinas e fatores de crescimento (Oliveira *et al.*, 2013).

Recentemente Andrade e colaboradores (2021) ao analisar a atividade cicatrizante da Cramoll 1,4 em camundongos diabéticos, conseguiram observar que ao final do experimento de 12 dias além da Cramoll ter acelerado a reepitelização, ocorreu também um maior depósito de colágeno tipo I nas feridas do grupo em que foi utilizado essa lectina, mostrando que ela atua acelerando a cicatrização mesmo em situações adversas.

Levando em consideração que a Cramoll apresenta atividade pró-inflamatória e atua acelerando a deposição de colágeno tipo I no processo cicatricial, e sendo esse o principal tipo de colágeno na pele humana, o que melhor se organiza e preenche de forma moduladora a pele, essa lectina pode se tornar uma excelente candidata a um produto cosmético antienvelhecimento.

- **Galactomananas**

Os polissacarídeos são carboidratos formados por grandes polímeros de monossacarídeos ligados covalentemente uns aos outros. Esses compostos extraídos de fontes naturais têm ganhado cada vez mais destaque em várias indústrias por apresentar diversas vantagens como sua biocompatibilidade, baixo custo e fácil obtenção (Silva *et al.*, 2020).

As galactomananas são polissacarídeos extraídos do endosperma de sementes de plantas, principalmente leguminosas com diversas aplicabilidades em vários setores, como na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. Por terem alto peso molecular, serem solúveis em água e não iônicas possuem as características ideais para a formação de sistemas altamente viscosos e em baixas concentrações. Assim, podem ser utilizados para a preparação de filmes cosméticos, estabilizadores de emulsão e para a formação de hidrogéis (Albuquerque *et al.*, 2017).

É importante destacar também a capacidade de imobilização de biomoléculas. No estudo de Albuquerque e colaboradores (2016) foi realizada imobilização da Cramoll 1,4 no hidrogel de Galactomanana extraído de *Cassia grandis*, uma árvore nativa brasileira. Além de ter permitido uma liberação controlada Cramoll 1,4, o hidrogel permitiu estabilidade que manteve as características naturais até 30 dias e sem contaminações microbiológicas.

Uma vantagem da utilização do hidrogel de Galactomanana como imobilizador da Cramol para os fins cosméticos é a sua intimidade com o estrato córneo da pele. Já que a Cramol necessita ultrapassar o estrato para induzir a produção de colágeno dérmico,

estar associado a um hidrogel que facilite esse transporte pode ser fundamental para que aconteça de forma definitiva esse processo (Albuquerque *et al.*, 2016).

Considerações Finais

Existem diversos procedimentos e substâncias que são utilizadas para retardar ou reverter o processo do envelhecimento da pele, voltados para a remoção de rugas, flacidez e manchas, mas muitos apresentam desvantagens como a necessidade de reaplicações recorrentes, necessidade de profissionais qualificados para aplicação, riscos de contaminações e efeitos colaterais graves. Por isso, busca-se novos compostos e procedimentos que possam se tornar inovadores na área, com maior durabilidade ou maior facilidade de aplicação. Uma alternativa de origem natural poderia ser a Cramol 1,4, que apresenta a capacidade de induzir a produção de colágeno. Contudo, existe a necessidade de realização de novos testes por modelos experimentais fidedignos, como as culturas celulares, que além de apresentarem boa representatividade e segurança, está dentro das conformidades das leis vigentes.

Referências

ALBANO, R. P. S; PEREIRA, L. P.; ASSIS, I. B. Microagulhamento: a terapia que induz a produção de colágeno - revisão de literatura. **Revista Saúde em Foco**, n. 10, p. 455-473, 2018. Disponível em: <https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/07/058>

ALBUQUERQUE, P. B. S. et al. Investigating a galactomannan gel obtained from *Cassia grandis* seeds as immobilizing matrix for Cramoll lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 454-461, 2016. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.107.

ALBUQUERQUE, P. B. S. et al. Immobilization of bioactive compounds in *Cassia grandis* galactomannan-based films: Influence on physicochemical properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 727-735, 2017. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.081.

ALVARENGA L. (Brasil). **Risco de teratogenicidade associado ao uso de Roacutan (isotretinoína)**. São Paulo, 2015. Disponível em: [Roacutan® \(isotretinoína\) – Risco de teratogenicidade associada ao uso do medicamento, Roche, 29 de outubro de 2015 — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa \(www.gov.br\)](#)

ANDRADE, F. M. et al. Healing activities of Cramoll and xyloglucan membrane in cutaneous wounds of diabetic mice. **Journal of Immunology and Regenerative Medicine**, v. 13, 100045, 2021. Doi: 10.1016/j.regen.2021.100045.

- BOO, Y. C. Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: Emerging Combination Therapies. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, 1663, 2022. Doi: 10.3390/antiox11091663.
- CSEKES, E.; RACKOVÁ, L. Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, 12641, 2021. Doi: 10.3390/ijms222312641.
- CARNEIRO, M. A. M. S. et al. Immunomodulatory and anti-infective effects of *Cratylia mollis* lectin (Cramoll) in a model of wound infection induced by *Staphylococcus aureus*. **International Immunopharmacology**, v. 100, 108094, 2021. Doi: 10.1016/j.intimp.2021.108094.
- CUI, Y.; WANG, F.; VOORHEES, J. J.; FISHER, G. J. Rejuvenation of Aged Human Skin by Injection of Cross-linked Hyaluronic Acid. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 147, p. 43S-49S, 2021. Doi: 10.1097/PRS.00000000000007620.
- CUNHA, C. R. A. et al. Encapsulation into Stealth Liposomes Enhances the Antitumor Action of Recombinant *Cratylia mollis* Lectin Expressed in *Escherichia coli*. **Frontiers in microbiology**, v. 7, 1355, 2016. Doi: 10.3389/fmicb.2016.01355.
- DAYAN, S. H. et al. Topical skin therapies in subjects undergoing full facial rejuvenation. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 18, n. 3, p. 798-805, 2019. Doi: 10.1111/jocd.12977.
- DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. **RESOLUÇÃO nº 58, de 24 de fevereiro de 2023**. PLC 70/2014. [S. l.]: IMPRENSA NACIONAL, ano 41, p. 1-8, 1 mar. 2023. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-58-de-24-de-fevereiro-de-2023-466792333?tk=public_post_comment-text
- DISNER, G. R. Métodos alternativos à experimentação animal: aspectos éticos, históricos e legais no Brasil. **Evidência: Biociências, Saúde e Inovação**, v. 19, n. 2, p. 259-274, 2019. Doi: 10.18593/eba.v19i2.20964.
- FALLAH, H.; RADEMAKER, M. Isotretinoin in the management of acne vulgaris: practical prescribing. **International Journal of Dermatology**, v. 60, n. 4, p. 451-460, 2021. Doi: 10.1111/ijd.15089.
- GAUTAM, A. K.; SHARMA, D.; SHARMA, J.; SAINI, K. C. Legume lectins: Potential use as a diagnostics and therapeutics against the Cancer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 142, p. 474-483, 2020. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.119.
- GRAF, R. et al. Vitamin C–squalene bioconjugate promotes epidermal thickening and collagen production in human skin. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, 16883, 2020. Doi: 10.1038/s41598-020-72704-1.
- HO, C. Y.; DREESEN, O. Faces of cellular senescence in skin aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 198, 111525, 2021. Doi: 10.1016/j.mad.2021.111525.

- HUANG, Y. C.; CHENG, Y. C. Isotretinoin treatment for acne and risk of depression: A systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 76, n. 6, p. 1068-1076, 2017. Doi: 10.1016/j.jaad.2016.12.028.
- HULDANI, H. et al. Concanavalin A as a promising lectin-based anti-cancer agent: the molecular mechanisms and therapeutic potential. **Cell Communication and Signaling**, v. 20, 167, 2022. Doi: 10.1186/s12964-022-00972-7.
- MELO, C. M. L. et al. Cramoll 1,4 lectin increases ROS production, calcium levels, and cytokine expression in treated spleen cells of rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 342, p. 163-169, 2010. Doi: 10.1007/s11010-010-0480-z.
- MELO, C. M. L. et al. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.02.011.
- MOON, S; KIM, D. H.; SHIN, J. U. *In Vitro* Models Mimicking Immune Response in the Skin. **Yonsei Medical Journal**, v. 62, n. 11, p. 969-980, 2021. Doi: 10.3349/ymj.2021.62.11.969.
- MONTEIRO, M. R. et al. Cultura de fibroblastos dérmicos humanos na presença de ácido hialurônico e polietilenoglicol: efeitos na proliferação celular, produção de colágeno e enzimas relacionadas à remodelação da matriz extracelular. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 5, n. 3, p. 222-225, 2013.
- NASCIMENTO, C. O. et al. Purification of a lectin from *Cratylia mollis* crude extract seed by a single step PEG/phosphate aqueous two-phase system. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 50, n. 7, p. 655-663, 2020. Doi: 10.1080/10826068.2020.1725771.
- NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, 1811, 2019. Doi: 10.3390/ijms20081811.
- OLIVEIRA, P. S. S. et al. *Cratylia mollis* 1, 4 Lectin: A New Biotechnological Tool in IL-6, IL-17A, IL-22, and IL-23 Induction and Generation of Immunological Memory. **BioMed Research International**, 263968, 2013. Doi: 10.1155/2013/263968.
- PEREIRA, D. S. T. et al. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 184538, 2012. Doi: 10.1155/2012/184538.
- PORFÍRIO, E.; FANARO, G. B. Suplementação com colágeno como terapia complementar na prevenção e tratamento de osteoporose e osteoartrite: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 19, n. 1, p. 153-164, 2016. Doi: 10.1590/1809-9823.2016.14145.
- SÁ, R. A. et al. Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 149, n. 3, p. 300-306, 2009. Doi: 10.1016/j.cbpc.2008.08.004.

SCARANO, A. et al. The role of hyaluronic acid and amino acid against the aging of the human skin: A clinical and histological study. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 7, p. 2296-2304, 2021. Doi: 10.1111/jocd.13811.

SHIN, J. W. et al. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. **International Journal of Molecular Science**, v. 20, n. 9, 2126, 2019. Doi: 10.3390/ijms20092126.

SILVA, L. M. et al. Promising alternative gum: Extraction, characterization, and oxidation of the galactomannan of *Cassia fistula*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 436-444, 2020. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.164.

SUZUKI, S. et al. Inhibition of melanin production and promotion of collagen production by the extract of Kuji amber. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 84, n. 3, p. 518-525, 2020. Doi: 10.1080/09168451.2019.1693251.

TAUB, A. F.; PHAM, K. Stem cells in Dermatology and Anti-aging Care of the Skin. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 26, n. 4, p. 425-437, 2018. Doi: 10.1016/j.fsc.2018.06.004.

WILLIAMS, F. M. *In vitro* studies - how good are they at replacing in vivo studies for measurement of skin absorption? **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, n. 2, p. 199-203, 2006. Doi: 10.1016/j.etap.2005.07.009.

WOHLRAB, J.; HILPERT, K.; WOLFF, L. Epidermal aging and anti-aging strategies. **Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete**, v. 67, n. 2, p. 107-111, 2016. Doi: 10.1007/s00105-015-3734-6.

ZOUBOULIS, C. C. et al. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. **Clinics in Dermatology**, v. 37, n. 4, p. 365-372, 2019. Doi: 10.1016/j.clindermatol.2019.04.002.

CAPÍTULO 8

ENSAIOS METABÓLICOS IN VITRO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

IN VITRO METABOLIC ASSAYS FOR ASSESSING MAGNETIC NANOPARTICLES TOXICITY

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.08>

Submetido em: 04/03/2024

Revisado em: 05/03/2024

Publicado em: 05/03/2024

Karina Midori Endo

Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Guarapuava-PR

<http://lattes.cnpq.br/8818925198298091>

Ruan Rompato Vieira

Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/7015330658704984>

Elisa Parcero Hernandes

Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/4886582059466704>

Suzana de Paiva

Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR

<http://lattes.cnpq.br/3169689625844164>

Resumo

Avanços significativos da nanotecnologia que trata de materiais com dimensões da ordem de 100 nm ou menos, tem impulsionado seu crescente interesse em inúmeras áreas, incluindo medicina, farmacêutica, devido às suas potenciais aplicações em diagnóstico e terapia. Entre os nanomateriais, as nanopartículas magnéticas (NPMs) emergem como candidatas mais promissoras, caracterizadas por seu excelente comportamento superparamagnético, biocompatibilidade e fácil síntese. Assim, a identificação e compreensão aprofundadas das propriedades físico-químicas são cruciais para prever possíveis riscos em

sistemas biológicos. No contexto da nanotecnologia, inúmeros estudos foram conduzidos para avaliar os efeitos biológicos resultantes da exposição às nanopartículas. Dentre os indicadores mais relevantes para a bioavaliação *in vitro*, a citotoxicidade assume papel central. Portanto, este trabalho visa apresentar uma revisão dos métodos frequentemente utilizados para avaliar o potencial citotóxico *in vitro* das nanopartículas magnéticas. A análise desses métodos é essencial para compreender os efeitos das NPMs em linhagens celulares, proporcionando uma compreensão valiosa sobre a segurança e eficácia desses nanomateriais. Esse conhecimento é fundamental para orientar o desenvolvimento seguro e eficiente das nanopartículas magnéticas, especialmente no contexto de aplicações biomédicas.

Palavras-Chave: Nanotecnologia, Toxicidade de Nanopartículas, Citotoxicidade, Ensaios *in vitro*, Biocompatibilidade.

Abstract

Significant advances in nanotechnology, dealing with materials with dimensions on the order of 100 nm or less, have driven its increasing interest in numerous areas, including medicine and pharmaceuticals, due to their potential applications in diagnosis and therapy. Among nanomaterials, magnetic nanoparticles (MNPs) emerge as the most promising candidates, characterized by their excellent superparamagnetic behavior, biocompatibility, and easy synthesis. Thus, the thorough identification and understanding of physicochemical properties are crucial for predicting possible risks in biological systems. In the context of nanotechnology, numerous studies have been conducted to assess the biological effects resulting from exposure to nanoparticles. Among the most relevant indicators for *in vitro* bioevaluation, cytotoxicity plays a central role. This work aims to present a review of the most frequently used methods to evaluate the *in vitro* cytotoxic potential of magnetic nanoparticles. The analysis of these methods is essential to understand the effects of MNPs on cell lines, providing valuable insights into the safety and efficacy of these nanomaterials. This knowledge is fundamental to guide the safe and efficient development of magnetic nanoparticles, especially in the context of biomedical applications.

Keywords: Nanotechnology, nanoparticles toxicity, cytotoxicity, *in vitro* assays, biocompatibility.

Introdução

Nos últimos anos, o interesse na utilização de nanopartículas magnéticas (NPMs) em aplicações biológicas ligadas à medicina e à biotecnologia têm aumentado significativamente. Um dos nanomateriais bem conhecidos são as nanopartículas de ferro e seus óxidos, como a magnetita (Fe_3O_4) e a maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). As nanopartículas sintetizadas a partir desses materiais têm grande potencial nas áreas biológicas e médicas (PANKHURST *et al.*, 2003; ABAKUMOV *et al.*, 2018).

As aplicações das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro estão relacionadas a ensaios clínicos como agentes de contraste em imageamento por ressonância magnética, aplicações clínicas na entrega de fármacos (ALPHANDÉRY, 2019; DADFAR *et al.*, 2019) e magnetohipertermia na terapia do tumor (LAURENT *et al.*, 2011). As principais características que tornam as NPMs potencialmente importantes para aplicações tecnológicas são baseadas em propriedades químicas e princípios da física, como a utilização das propriedades magnéticas das nanopartículas, por exemplo, para aquecer coloides utilizando campos magnéticos alternados (KAN-DAPAAH *et al.*, 2014) e o

direcionamento das NPMs para um local específico através de campo magnético externo (ZHAO *et al.*, 2012; VALDIGLESIAS *et al.*, 2016).

No entanto, a avaliação dos perigos e riscos dos nanomateriais é de extrema importância, pois ainda existem questões que devem ser avaliadas para que se façam testes e avaliações de segurança para esses materiais, principalmente dentro do que preconiza os órgãos regulatórios dos países, como, por exemplo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, no Brasil. Alguns pontos devem ser levantados para otimizar as avaliações de segurança dos nanomateriais, tais como: relacionar a estabilidade da dispersão de nanomateriais e a dosagem em testes de toxicidade, em particular, para parâmetros de saúde humana, desenvolver ainda mais testes ou orientações sobre a degradação e transformação de nanomateriais orgânicos ou nanomateriais com componentes orgânicos, e promover testes e orientações para medir a reatividade celular de nanomateriais. Dentro desses parâmetros, para que possamos entender melhor a reatividade celular dos materiais, podemos utilizar os estudos de citotoxicidade em modelos celulares em laboratório. Neste sentido, existem várias análises que podem contribuir para um melhor entendimento e segurança na utilização desses materiais.

Portanto, o objetivo deste trabalho é descrever as principais técnicas de atividade metabólica em cultura celular *in vitro* comumente empregadas para análise da toxicidade de nanopartículas magnéticas.

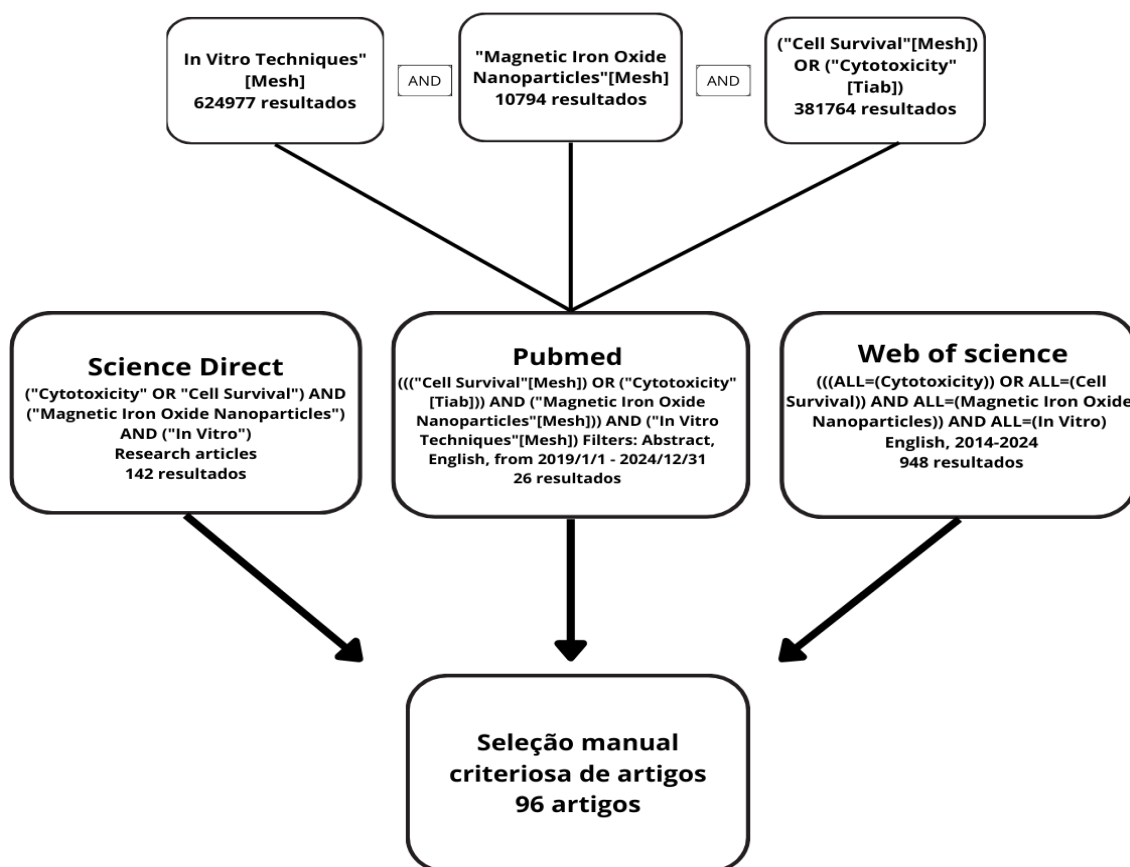
Metodologia

O presente estudo trata-se de uma revisão narrativa de literatura referente às principais técnicas utilizadas para avaliação da citotoxicidade *in vitro*. Para o levantamento do estudo, foram utilizadas as plataformas Science Direct, PubMed e Web of Science. Os trabalhos científicos foram selecionados com o emprego de símbolos de truncagem e os operadores *booleanos* (AND e OR), utilizando-se das seguintes palavras-chave: iron oxide nanoparticle, cytotoxicity, cell viability, superparamagnetic iron oxide nanoparticle. Baseado nelas, as combinações lógicas utilizando *MeSh Terms*: “Magnetic Iron Oxide Nanoparticle” AND “Cytotoxicity” OR “Cell Survival” AND “in vitro” . O termo “Cytotoxicity” para a plataforma Pubmed não se enquadra como *MeSh*, sendo incorporado à pesquisa os filtros *Title* e *Abstract* para a recuperação de artigos pertinentes. A partir da escolha das palavras-chave e dos portais de pesquisa, a pesquisa limitou-se

aos artigos publicados no período de 1 de janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2024 (Figura 1).

Para critérios de inclusão, foram selecionados somente artigos científicos cujo foco principal estivesse relacionado à temática, isto é, que fornecessem estudos envolvendo nanopartículas magnéticas e sua biocompatibilidade por meio das técnicas utilizadas para avaliação da citotoxicidade *in vitro* utilizando bioensaios com testes metabólicos. Artigos de revisão, capítulos de livro, comunicações curtas, resumos e teses acadêmicas, foram excluídos. Após exclusão das duplicatas dos resultados que não atenderam aos critérios de inclusão, os artigos relevantes foram escolhidos pela leitura dos títulos e do resumo, contabilizando um total de 96 artigos. Os critérios de exclusão foram artigos que não atendiam as discriminações dentro dos seus títulos e resumos, ou seja, que não expuseram de forma clara quais técnicas utilizaram, além de artigos em humanos e *in vivo*.

Figura 1. Etapa simplificada do processo metodológico utilizado na identificação de trabalhos nas bases de dados Science Direct, PubMed e Web of Science.



Fonte: Os autores (2024).

Resultados e Discussão

- **Nanotecnologia**

A nanotecnologia é uma área de pesquisa interdisciplinar e multidisciplinar devido às inúmeras aplicações potenciais em diversas áreas como medicina, química, física, engenharia, farmacêutica, agrícola, eletrônica, catálise (BROLLO *et al.*, 2014; SHAMING; REMITA, 2015) e nas últimas décadas tem sido extensivamente introduzida em aplicações biomédicas na distribuição de fármacos, particularmente no diagnóstico de imagem e tratamento de câncer (CONDE *et al.*, 2012). É um dos campos mais promissores e crescentes que envolve o uso de materiais e equipamentos com capacidade de manipulação das propriedades físicas e químicas de uma substância ao nível molecular. Já a biotecnologia utiliza conhecimento e técnicas de biologia na manipulação da genética, biologia celular e molecular para produtos e serviços. A fusão entre a nanotecnologia e a biotecnologia, chamada nanobiotecnologia, possibilita que tecnologias clássicas sejam fundidas com uma abordagem molecular biológica (FAKRUDDIN *et al.*, 2012).

Novas propriedades catalíticas, elétricas, ópticas e magnéticas podem ser assumidas por objetos em nanoescala menores que 100 nm, devido ao seu tamanho reduzido e extensa área de superfície. Estas propriedades diferentes apresentadas por tais materiais, são usadas em várias aplicações biomédicas, em diversas áreas da saúde, como estudo de doenças infecciosas, cardíacas e vasculares, degenerativas, imunes, na hepatite e no câncer (LEE *et al.*, 2012; WEBSTER *et al.*, 2016).

A nanotecnologia é, em sua essência, a ciência relacionada à engenharia e aplicação de nanomateriais, objetos naturais ou produzidos com, no mínimo, uma das três dimensões na escala nanométrica (1–100 nm) (EUROPEAN COMMISSION, 2011). Os nanomateriais representam, sob a perspectiva biológica, plataformas multifuncionais altamente personalizáveis para o transporte não-invasivo de praticamente qualquer forma de carga biológica em um grupo celular alvo selecionado com o intuito de investigação, diagnóstico e/ou fins terapêuticos. Estudos relacionados à sua biocompatibilidade têm sido favoráveis ao longo dos anos, com múltiplos carreadores em combinação com uma ampla gama de testes celulares em mamíferos (BARKALINA *et al.*, 2014).

O grande potencial dos nanomateriais na nanomedicina está relacionado às características que favorecem a sua utilização no campo da pesquisa, como o reduzido

tamanho, semelhante a biomoléculas, integração em processos fisiológicos celulares, passagem através da membrana plasmática, transição entre os compartimentos celulares, extensa área de superfície, alta seletividade e especificidade de vias endógenas funcionais, entre outras (BARKALINA *et al.*, 2014).

- **Nanopartículas Magnéticas**

As nanopartículas magnéticas (NPMs) pertencem ao grupo de nanomateriais com grande impacto em áreas como química analítica, biossensores e nanomedicina (KUDR *et al.*, 2017). Em geral, as NPMs podem ser divididas em óxidos de metais, metais puros e nanocompostos magnéticos. As mais comumente usadas como nanoveículos magnéticos para entrega de fármacos são as baseadas em ferro, cobalto e níquel (LONG *et al.*, 2015). Embora possam conter outros elementos, eles são óxidos magnéticos, tais como, magnetita (Fe_3O_4), maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), geotita, ferrita de cobalto (CoFe_2O_4), ferrita de níquel (NiFe_2O_4), entre outros (BUCAK *et al.*, 2012).

Os materiais magnéticos sintetizados por estes metais têm sido relacionados em diferentes modos no desenvolvimento da tecnologia moderna e despertado atenção no que diz respeito ao diagnóstico e terapia de doenças nos últimos anos (GUL *et al.*, 2019) devido à sua biocompatibilidade, fácil modificação de superfície, excelente estabilidade química e física, precisão de controle de sua composição e estrutura e propriedades magnéticas (GUGLIELMO *et al.*, 2010; CÓTICA *et al.*, 2012). As Fe_3O_4 e CoFe_2O_4 são de especial interesse em virtude de sua baixa toxicidade e fácil síntese. Além disso, apresentam comportamento superparamagnético à temperatura ambiente, preferido para usos biomédicos. O superparamagnetismo é um comportamento magnético verificado em nanopartículas ferrimagnéticas ou ferromagnéticas (BUCAK *et al.*, 2012).

Com os avanços científicos da nanotecnologia e da biologia molecular, os nanossistemas de óxido de ferro magnético têm sido amplamente estudados na medicina (GUO *et al.*, 2018), incluindo a formação de suspensões coloidais de nanopartículas magnéticas, denominadas ferrofluidos, as quais têm sido estudadas para aplicações de hipertermia magnética, submetidas a um campo magnético que dissipa o calor e promove o aumento da temperatura no meio circundante (ZHAO *et al.*, 2012; VALDIGLESIAS *et al.*, 2016). O conhecimento da forma, tamanho, carga e recobrimento das nanopartículas é de extrema importância para uma síntese eficiente, eficácia de tratamentos associados à nanopartículas, sua distribuição e internalização celulares (KRALJ *et al.*, 2011).

- **Nanopartículas Magnéticas de Óxidos de Ferro**

Dentre os nanomateriais inorgânicos com grande potencial e interesse em pesquisas biomédicas, os óxidos de ferro superparamagnéticos, magnetita (Fe_3O_4) e maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), são um dos nanossistemas mais utilizados na nanomedicina e na biologia (TOMBÁ CZ *et al.*, 2015). O ferro e o oxigênio combinam-se quimicamente para formar óxidos de ferro, resultando na formação de cerca de 16 óxidos de ferro (CORNELL; SCHWERTMANN, 2006). Os óxidos de ferro podem existir em diferentes composições químicas, como magnetita (Fe_3O_4) ou maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), e são os materiais mais adequados para aplicações biomédicas (NOQTA *et al.*, 2019). As Fe_3O_4 estão entre as mais eficientes e comumente empregadas em termos de bioaplicações devido à capacidade superparamagnética comparada a outras NPMs, sua biocompatibilidade (LEE *et al.*, 2012), em especial, boa estabilidade química em condições fisiológicas, altos momentos magnéticos e baixa toxicidade, as quais são características atrativas para sua aplicação em sistemas biológicos (LI *et al.*, 2016).

No entanto, ainda existem alguns obstáculos que necessitam ser considerados. A magnetita pode sofrer modificações em contato com sistemas biológicos, levando à sua metabolização e uso para formação de hemoglobina, fazendo com que sua permanência no organismo não seja longa. Além disso, tendem a formar naturalmente aglomerados quando dispersas em solução, e isso pode ocorrer através da floculação (pequenos agregados) ou coagulação (agregados mais densos), dependendo do tempo em que permanecem em repouso (GAO, 2009). Além disso, alguns efeitos tóxicos podem ser ocasionados devido à liberação de íons de ferro da grande área superficial das NPMs no espaço intracelular. As Fe_3O_4 podem ser degradadas por hidrólise em íons de ferro livres ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) que interagem com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerados pelas mitocôndrias para produzir radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$) altamente reativos (Reação de Fenton), resultando em estresse oxidativo (HUANG *et al.*, 2013).

Uma maneira efetiva de eliminar ou pelo menos, minimizar problemas, como a oxidação e agregação do ferro metálico, é a aplicação de alguns revestimentos para torná-las biocompatíveis.

- **Estudos de Toxicidade**

A Nanotecnologia está em constante expansão e tem apresentado consideráveis avanços no campo biomédico, sendo as nanopartículas de óxido de ferro

superparamagnéticas de especial interesse em aplicações, como no desenvolvimento e entrega de fármacos, devido às suas propriedades físicas e químicas únicas (VALDIGLESIAS *et al.*, 2016). Os ensaios de toxicidade podem ser desenvolvidos por meio de estudos *in vitro*, *in vivo* e estudos nanotoxicológicos clínicos. Os testes *in vitro* são considerados pontos de partida para toxicidade das NPMs, pois produzem resultados confiáveis e reprodutíveis sem a utilização de animais. Além disso, são de natureza simples, barata e rápida, embora não substituam os estudos clínicos ou *in vivo* (PATIL *et al.*, 2015).

Embora as NPMs tenham sido consideradas biocompatíveis, principalmente baseados em resultados de testes de viabilidade, fatores como o recobrimento, tamanho, tempo de tratamento ou tipo celular, tem influência na toxicidade (VALDIGLESIAS *et al.*, 2016). Inúmeros estudos de toxicidade destas NPMs têm sido feitos com elas sem uma cobertura na superfície e com várias coberturas diferentes (REVIA; ZHANG, 2016).

- **Citotoxicidade**

A citotoxicidade é considerada o perfil toxicológico mais frequentemente investigado das nanopartículas magnéticas. Caracteriza-se principalmente como o potencial de um composto para induzir a morte celular. As células respondem rapidamente ao estresse tóxico alterando as taxas metabólicas, o crescimento celular ou a transcrição genética para controlar suas funções celulares básicas. Desta forma, testes de citotoxicidade *in vitro* são úteis e necessários para definir a capacidade intrínseca de um composto para provocar a morte de células como consequência dos danos nas funções celulares básicas. Testes de citotoxicidade também são necessários para definir a faixa de concentração a ser testada com relação aos parâmetros de genotoxicidade, mutagenicidade ou morte celular programada (EISENBRAND *et al.*, 2002).

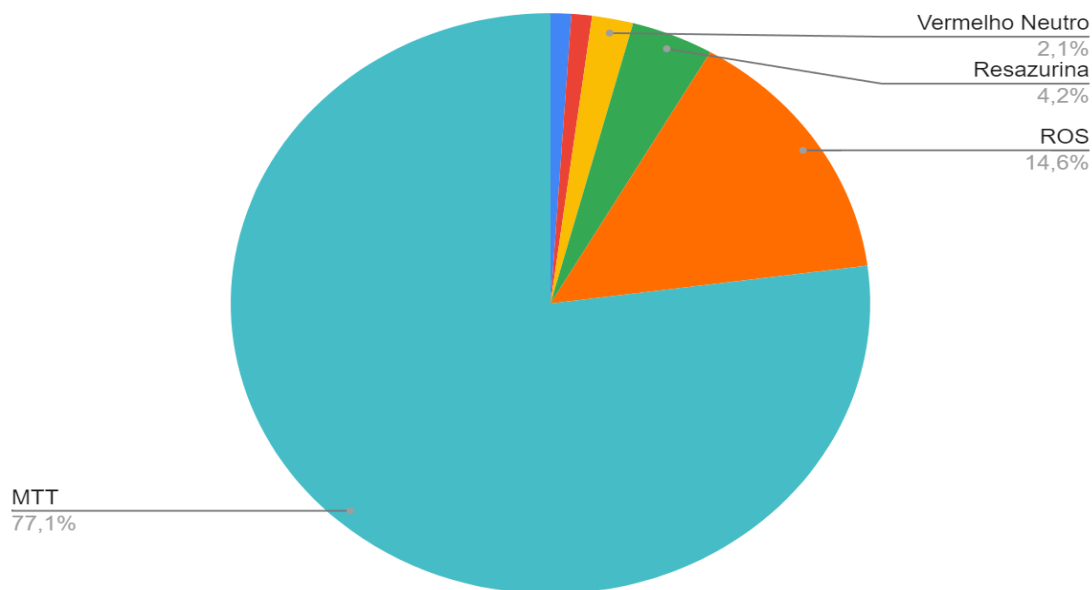
Os diferentes efeitos celulares após a exposição às NPMs em estudos *in vitro* são dependentes da concentração de íons, tempo de exposição, tipo celular avaliado, o tamanho, forma, carga, área de superfície, agregação, presença e tipo de revestimento das NPMs têm um impacto significativo nos estudos *in vitro* de toxicidade (PATIL *et al.*, 2015; VALDIGLESIAS *et al.*, 2016).

Inúmeras linhagens celulares e diferentes condições de teste são avaliadas e os efeitos celulares relatados são principalmente redução da viabilidade, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e liberação de íons de ferro, além de indução de apoptose, alterações do ciclo celular, comprometimento da membrana celular,

modificações do citoesqueleto, entre outros (SOENEN; DE CUYPER, 2010). No entanto, inúmeros estudos relatando o potencial de citotoxicidade mostram que as NPMs não possuem ou apresentam reduzido efeito citotóxico. Os ensaios de citotoxicidade geralmente representam testes preliminares e são divididos principalmente em ensaios metabólicos e de integridade de membrana.

Com base no levantamento da pesquisa, foram obtidos os seguintes resultados mostrados no gráfico abaixo dos trabalhos envolvendo a atividade metabólica em modelos celulares *in vitro* mais empregadas para análise da toxicidade de nanopartículas magnéticas (Figura 2). A grande maioria dos trabalhos envolveu avaliações da citotoxicidade das NPMs utilizando o ensaio do MTT (77,1%). Outros trabalhos utilizaram ROS (14,6%), Resazurina (4,2%), Vermelho Neutro (2,1%), MFT (1,0%) e Azul de Prússia (1,0%).

Figura 2. Representação das técnicas utilizadas nos artigos encontrados nas bases de dados Science Direct, PubMed e Web of Science.



Fonte: Os autores (2024).

- **Ensaio do MTT**

Os ensaios metabólicos são amplamente aplicados, em geral, com ênfase no metabolismo mitocondrial. Uma redução da atividade metabólica celular é geralmente

aceita como um indicador precoce de dano celular (RODRIGUES *et al.*, 2012). O ensaio de citotoxicidade mais comum é o teste quantitativo *in vitro* denominado de ensaio do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazólio), desenvolvido por Mosmann em 1983. Este método baseia-se na capacidade da succinato desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs, ativa em mitocôndrias de células vivas, em converter o sal tetrazólio (MTT), que é hidrossolúvel e de cor amarelada, em cristais de formazan, de coloração roxa. Esses cristais são solubilizados pelo dimetil sulfóxido (DMSO), permitindo o cálculo da absorbância por espectrofotometria.

Collier e Pritsos (2003) indicaram que os processos oxidativos, bem como outras cadeias mitocondriais enzimáticas de elétrons, possam ser responsáveis pela metabolização do MTT. Embora a redução do MTT seja geralmente atribuída à atividade da cadeia respiratória mitocondrial, ela também tem sido relacionada com as enzimas não mitocondriais, presentes no citoplasma ou em outros compartimentos citoplasmáticos (BERNAS; DOBRUCKI, 2002). A clivagem do MTT tem várias propriedades desejáveis para avaliar a sobrevivência e proliferação, pois este pode ser clivado por todos os seres vivos, em células metabolicamente ativas, mas não por células mortas. Além disso, a quantidade de formazan gerada é diretamente proporcional ao número de células vivas, utilizando uma população de células homogêneas (MOSMANN, 1983). Portanto, somente células vivas conseguem fazer essa conversão, indicando atividade mitocondrial e conseqüentemente, a viabilidade celular (COLLIER; PRITSOS, 2003). Assim, as vantagens deste ensaio colorimétrico que pode ser utilizado para avaliar a citotoxicidade, a proliferação ou a ativação celular, são a sua rapidez e precisão, e o fato de não utilizar radiação (MOSMANN, 1983). No entanto, os resultados *in vitro* do ensaio do MTT podem ser afetados pela grande área de superfície e a natureza química das NPMs. Portanto, a caracterização físico-química das NPMs é fundamental na análise nos estudos de toxicidade (PATIL *et al.*, 2015).

- **Ensaio do Vermelho Neutro**

O ensaio do vermelho neutro (VN) (2-amino-3-metil-7dimetil-amino-cloreto de fenazina) avalia a integridade da membrana lisossomal. Este ensaio de citotoxicidade é amplamente utilizado para aplicações biomédicas e ambientais. O princípio é a de que células vivas são capazes de capturar o corante, armazenando-o nos lisossomos (MONTEIRO-RIVIERE *et al.*, 2009).

O VN é um corante catiônico fraco que penetra nas membranas celulares pelo mecanismo de difusão passiva não iônica e concentra-se nos lisossomos (PATIL *et al.*, 2018). O corante liga-se à matriz lisossomal por interação eletrostática, a qual é então, extraída das células viáveis usando uma solução de etanol acidificada, e a absorvância do corante solubilizado é quantificada usando um espectrofotômetro (FAUTZ *et al.*, 1991). Portanto, os lisossomos em células não viáveis são capazes de reter o corante por períodos mais prolongados, enquanto uma desestabilização da membrana lisossômica resulta em extravasamento do VN ao citosol, reduzindo a quantidade de corante retida nas células (ZHAO *et al.*, 2011).

- **Ensaio de Resazurina (Alamar Azul)**

O ensaio de Alamar Azul (AB), também conhecido como ensaio de resazurina, é uma técnica usada para avaliar a viabilidade celular e a citotoxicidade em experimentos biológicos. Este ensaio é frequentemente utilizado para medir a resposta de células a diferentes condições de tratamento, como exposição a compostos químicos, fármacos ou nanopartículas. O ensaio é muito parecido com a metodologia empregada no MTT, porém, baseado na capacidade das células metabolicamente ativas de converter o corante azul não fluorescente, resazurina, em resorufina, um composto fluorescente. As células são tratadas conforme o protocolo experimental. Após o período de exposição, as células são lavadas para remover quaisquer partículas ou substâncias não internalizadas e, em seguida, é adicionada a resazurina.

No entanto as células metabolicamente ativas convertem a resazurina em resorufina, um composto fluorescente. Este processo tem a capacidade de mostrar ou indicar a viabilidade celular. A fluorescência é medida usando um leitor de placas. Um aumento na fluorescência indica maior viabilidade celular, enquanto uma diminuição pode sugerir citotoxicidade ou redução na atividade celular (PAGE; PAGE; NOEL, 1993).

Por fim, de modo geral, com base nos estudos obtidos das plataformas citadas, foram avaliadas as limitações dos métodos de ensaio e o MTT mostrou interferência com a conversão do corante em cristais de formazan quando testado com inibidores da glicólise, enquanto nenhuma interferência foi observada nos ensaios de captura de vermelho neutro (VN), redução de resazurina (RES) e sulforodamina B (SRB). Esta observação indica que os inibidores da glicólise podem distorcer os resultados do ensaio MTT, alterando a capacidade das células de metabolizar o corante MTT em formazan,

levando a uma avaliação imprecisa da viabilidade celular. Por outro lado, os ensaios de VN, RES e SRB não foram afetados pela presença de inibidores da glicólise. Isso pode ser atribuído a diferentes mecanismos de ação e metabólitos associados a esses ensaios.

Portanto, ao selecionar um ensaio para avaliar a viabilidade celular em experimentos que envolvem inibidores da glicólise, é importante considerar a susceptibilidade do ensaio à interferência dessa via metabólica específica (STOCKERT *et al.*, 2018; VAN TONDER; JOUBERT; CROMARTY, 2015).

Considerações Finais

Nanopartículas de óxido de ferro têm potencial em inúmeras aplicações biomédicas. No entanto, as formulações devem ser testadas para garantir a biocompatibilidade das NPMs e prever o mecanismo de ação em sistemas biológicos. Testes de citotoxicidade são considerados o perfil toxicológico amplamente investigados e ponto de partida para estudos com estes nanomateriais. Um amplo espectro de ensaios é utilizado atualmente em modelos celulares expostos às NPMs. O ensaio MTT se mostrou a técnica mais estudada nos artigos, porém, deve-se destacar que o mesmo pode apresentar limitações, das quais precisam ser consideradas quando o pesquisador executar seus testes com células.

A definição do melhor método de ensaio é crucial para avaliar os tipos de interação. A interferência do composto do teste pode alterar a interpretação, e deste modo, afetar os resultados. Assim, os métodos descritos devem ser escolhidos baseados nas características das NPMs e nas aplicações pretendidas. Portanto, quando se aborda a segurança dessas NPMs, os métodos de estudo devem ser reavaliados no estabelecimento de novas terapias e que possibilitem extrair todas as propriedades benéficas que esses nanomateriais possam oferecer para aplicações médicas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES/Brasil pela bolsa concedida.

Referências

BARKALINA, N. et al. Nanotechnology in reproductive medicine: emerging applications of nanomaterials. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 10, n. 5, p. e921-e938, 2014.

BERNAS, T.; DOBRUCKI, J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. **Cytometry**, v. 47, p. 236-42, 2002.

BROLLO, M. E. F. et al. Compact Ag@ Fe₃O₄ Core-shell Nanoparticles by Means of Single-step Thermal Decomposition Reaction. **Scientific Reports**, v. 4, 2014.

BUCAK, S.; SEZER, A. D.; YAVUZTÜRK, B. Magnetic nanoparticles: synthesis, surface modifications and application in drug delivery. **INTECH Open Access Publisher**, 2012.

COLLIER, A. C.; PRITSOS, C. A. The mitochondrial uncouple dicumarol disrupts the MTT assay. **Biochemistry & Pharmacy**, v. 66, n. 2, p. 281-287, 2003.

CONDE, J.; DORIA, G.; BAPTISTA, P. Noble metal nanoparticles applications in cancer. **Journal of Drug Delivery**, v. 2012, 751075, 2012.

CÓTICA, L. F. et al. Simple and facile approach to synthesize magnetite nanoparticles and assessment of their effects on blood cells. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 324, n. 4, p.559-563, 2012.

EISENBRAND, G. et al. Methods of in vitro toxicology. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 2-3, p. 193-236, 2002.

EUROPEAN COMMISSION (EC). **Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial**. Official Journal of the European Union (OJEU). 275/38-75/40. 2011. Disponível em: <https://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/policy/commission-encommendation-on-the-definition-of-nanomater-18102011_en.pdf>. Acesso jul. 2023.

FAKRUDDIN, M. D.; HOSSAIN, Z.; AFROZ, H. Prospects and applications of nanobiotechnology: a medical perspective. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 10, n. 31, 2012.

FAUTZ, R.; HUSEIN, B.; HECHENBERGER, C. Application of the neutral red assay (NR assay) to monolayer cultures of primary hepatocytes: rapid colorimetric viability determination for the unscheduled DNA synthesis test (UDS). **Mutation Research.**, v. 253, p. 173-179, 1991.

GAO, J.; XU, B. Applications of nanomaterials inside cells. **Nano Today**, v. 4, n. 1, p. 37-51, 2009.

GUGLIELMO, C. D. et al. Embryotoxicity of cobalt ferrite and gold nanoparticles: A first in vitro approach. **Reproductive Toxicology**, v. 30, p. 271-276, 2010.

GUO, T. et al. The recent advances of magnetic nanoparticles in medicine. **Journal of Nanomaterials**, v. 2018, 2018.

HUANG, G. et al. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: Amplifying ROS Stress to Improve Anticancer Drug Efficacy. **Theranostics**, v. 3, p. 116-126, 2013.

KRALJ, S.; DROFENIK, M.; MAKOVEC, D. Controlled surface functionalization of silica-coated magnetic nanoparticles with terminal amino and carboxyl groups. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 7, p. 2829-2841, 2011.

LEE, A. V.; OESTERREICH, S.; DAVIDSON, N. E. MCF-7 cells - Changing the course of breast cancer research and care for 45 years. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 107, n. 7, 2015.

LEE, D. et al. Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. **The Royal Society of Chemistry**, v.41, p. 2656-2672, 2012.

LI, G. et al. Rapamycin loaded Fe₃O₄/carboxymethylchitosan nanoparticles as tumor-targeted drug delivery system: Synthesis and in vitro characterization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 128, p. 379-388, 2016.

KAN-DAPAAH, K.; RAHBAR, N.; SOBOYEJO, W. Implantable magnetic nanocomposites for the localized treatment of breast cancer. **Journal of Applied Physics**, v.116, 2014.

KUDR, J. et al. Magnetic nanoparticles: From design and synthesis to real world applications. **Nanomaterials**, v. 7, n. 9, p. 243, 2017.

LONG, N. V. et al. Biomedical applications of advanced multifunctional magnetic nanoparticles. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 15, n. 12, p. 10091-107, 2015.

MONTEIRO-RIVIERE, N. A.; INMAN, A. O.; ZHANG, L. W. Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 234, n. 2, p. 222-235. 2009.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NOQTA, O. A. et al. Recent Advances in Iron Oxide Nanoparticles (IONPs): Synthesis and Surface Modification for Biomedical Applications. **Journal of Superconductivity and Novel Magnetism**, v. 32, p. 779-795, 2019.

PAGE, B.; PAGE, M.; NOEL, C. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements in-vitro. **International Journal of Oncology**, v. 3, n. 3, p. 473-476, 1993.

PATIL, R. M. et al. Comprehensive cytotoxicity studies of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. **Biochemistry and Biophysics Reports**, v. 13, p. 63-72, 2018.

PATIL, U. S. et al. In Vitro/In Vivo Toxicity Evaluation and Quantification of Iron Oxide Nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 24417-50, 2015.

REVIA, R. A.; ZHANG, M. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: recent advances. **Mater Today (Kidlington)**, v. 19, n. 3, p. 157-168, 2016.

RODRIGUES, S. et al. Biocompatibility of Chitosan Carriers with Application in Drug Delivery. **Journal of Functional Biomaterials.**, v. 3, n. 3, p. 615-41, 2012.

SHAMING, D.; REMITA, H. Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. **Foundations of Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 187-205, 2015.

SOENEN, S. J., DE CUYPER, M. Assessing iron oxide nanoparticle toxicity in vitro: current status and future prospects. **Nanomedicine**, v. 5, n. 8, p. 1261-1275, 2010.

STOCKERT, J. C. et al. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 3, p. 159-167, 2018.

TOMBÁ CZ, E. et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: Recent trends in design and synthesis of magneto-responsive nanosystems. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 468, n. 3, p. 442-453. 2015.

VALDIGLESIAS, V. et al. Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 38, p. 53-63, 2016.

VAN TONDER, A.; JOUBERT, A. M.; CROMARTY, A. D. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. **BMC Research Notes**, v. 8, n. 1, p. 47, 2015.

WEBSTER, C. A. et al. An early developmental vertebrate model for nanomaterial safety: bridging cell-based and mammalian toxicity assessment. **Nanomedicine (Lond.)**, v. 6, p. 643-656, 2016.

ZHAO, Z. et al. Magnetite nanoparticles as smart carriers to manipulate the cytotoxicity of anticancer drugs: magnetic control and pH-responsive release. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, p. 15717-15725, 2012.

CAPÍTULO 9

A IMPORTÂNCIA DOS BETABLOQUEADORES NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA CONGESTIVA

THE IMPORTANCE OF BETA-BLOCKERS IN CONGESTIVE HEART FAILURE

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.09>

Submetido em: 29/05/2024

Revisado em: 09/06/2024

Publicado em: 11/06/2024

José Leandro Ribeiro de Souza

Faculdade Nova Esperança, Departamento de Farmácia, João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/5716079308205270>

Larissa Maria Ribeiro de Souza

Centro Universitário Estácio do Recife, Departamento de Farmácia, Recife-PE

<http://lattes.cnpq.br/1107844944857851>

Emerson José de Souza Silva

Faculdade Nova Esperança, Departamento de Enfermagem, João Pessoa-PB

<https://lattes.cnpq.br/4390132573211144>

Rafaela Figueiredo Fernandes Soares

Faculdade Nova Esperança, Departamento de Enfermagem, João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/3227762220274284>

Claudia Cavalcante Dias

Faculdade Nova Esperança, Departamento de Enfermagem, João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/6971297466430798>

Resumo

A insuficiência cardíaca (IC) é uma patologia que acomete em média 20 milhões de indivíduos no planeta. No Brasil tal patologia afeta em média 2 milhões de pessoas. O objetivo desta pesquisa é descrever a importância dos betabloqueadores na insuficiência cardíaca congestiva, informando os principais medicamentos da classe que comprovam a eficácia frente a IC. A pesquisa foi realizada através de uma revisão de literatura exploratória de trabalhos publicados nos últimos anos – com intervalo de 2021 até 2024, podendo ser escolhidos estudos científicos anteriores dependendo da importância do conteúdo e da quantidade de trabalhos encontrados equivalentes ao tema. Os betabloqueadores são uma classe de medicamentos fortemente utilizada no combate dessa patologia: eles diminuem o débito cardíaco, reduzem a taxa de batimento cardíaco, diminuem a pressão arterial sistêmica e trazem cardioproteção. Está presente revisão bibliográfica demonstrou que os betabloqueadores são umas das principais classes farmacológicas no combate a insuficiência cardíaca congestiva. Em especial o Caverdilol, Metoprolol, Bisoprolol e landiolol. Eles fizeram com que a qualidade de vida dos portadores da doença fosse bastante melhorada. Além disso, eles reduziram os índices de reinternação hospitalar, trouxeram cardioproteção ao miocárdio e diminuíram os graus de mortalidade.

Palavras-chave: Insuficiência cardíaca. Betabloqueadores. Ejeção ventricular.

Abstract

Heart failure (HF) is a pathology that affects an average of 20 million individuals on the planet. In Brazil, this pathology affects an average of 2 million people. The objective of this research is to describe the importance of beta-blockers in congestive heart failure, informing the main drugs of the class that prove their efficacy against HF. The research was carried out through an exploratory literature review of works published in recent years – with an interval from 2021 to 2024, and previous scientific studies may be chosen depending on the importance of the content and the number of works found equivalent to the theme. Beta-blockers are a class of drugs widely used to combat this pathology: they decrease cardiac output, reduce the rate of heart rate, decrease systemic blood pressure, and provide cardioprotection. This literature review demonstrated that beta-blockers are one of the main pharmacological classes in the fight against congestive heart failure. Especially Caverdilol, Metoprolol, Bisoprolol and landiolol. They have greatly improved the quality of life of those with the disease. In addition, they reduced hospital readmission rates, brought cardioprotection to the myocardium, and decreased mortality rates.

Keywords: Heart Failure. Beta-blockers. Ventricular ejection.

Introdução

A insuficiência cardíaca (IC) é uma patologia que acomete em média 20 milhões de indivíduos no planeta (Miró *et al.*, 2016). No Brasil tal patologia afeta em média 2 milhões de pessoas (Khalil *et al.*, 2017). Diante disso, a IC acaba sendo o principal motivo para a internação de pacientes idosos (Dabrowski *et al.*, 2020). A IC, está caracterizada como uma disfunção de origem permanente e gradual (Ganapathi *et al.*, 2020). De acordo com suas características fisiopatológicas, o coração não consegue expelir o sangue em quantidade necessária para o organismo (Grewal *et al.*, 2021). Tal acontecimento faz com que o suprimento de sangue fique deficiente em todo o organismo, causando falta de nutrientes para suprir as necessidades fisiológicas (López-Vilella *et al.*, 2022). Isso faz

com que o coração precise efetuar sua função com pressões elevadas, podendo levando a uma parada cardíaca (Shiga *et al.*, 2022).

Os indivíduos acometidos com IC mesmo que no início da doença não apresentem sintomas, na medida em que a enfermidade progride os sinais logo começam a aparecer mesmo com o portador em estado de descanso (Palin *et al.*, 2022). De maneira que o distúrbio avança, o músculo cardíaco vai perdendo sua capacidade funcional (Ditali *et al.*, 2022). Em determinado momento, não é detectado nenhum sintoma por causa da estratégia de adaptação que o coração realiza para manter a sua função em estado de normalidade fisiológica (Ditali *et al.*, 2022). Essa estratégia faz com que o ventrículo esquerdo seja alterado morfológicamente causando hipertrofia (Palin *et al.*, 2022). Na tentativa de suportar o desenvolvimento patológico, o avanço da morbidade vai se instalando cronologicamente (Shiga *et al.*, 2022).

O diagnóstico da IC é comprovado através do ecocardiograma transtorácico que é o principal meio de examinar o quadro clínico do paciente, além de determinar a classificação da morbidade (López-Vilella *et al.*, 2022). Podemos classificar a IC de acordo com a capacidade de sangue que é expelida do ventrículo esquerdo (Grewal *et al.*, 2021). Diante disso, descrevemos a IC como fração de ejeção reduzida quando o volume de sangue ejetado é menor que 50% da quantidade total e a IC como fração de ejeção preservada quando o volume de sangue expelido é maior que 50% (Ganapathi *et al.*, 2020). Essas duas classificações são diferentes em relação a origem e as doenças de base interligadas e também a estratégia terapêutica (Dabrowski *et al.*, 2020).

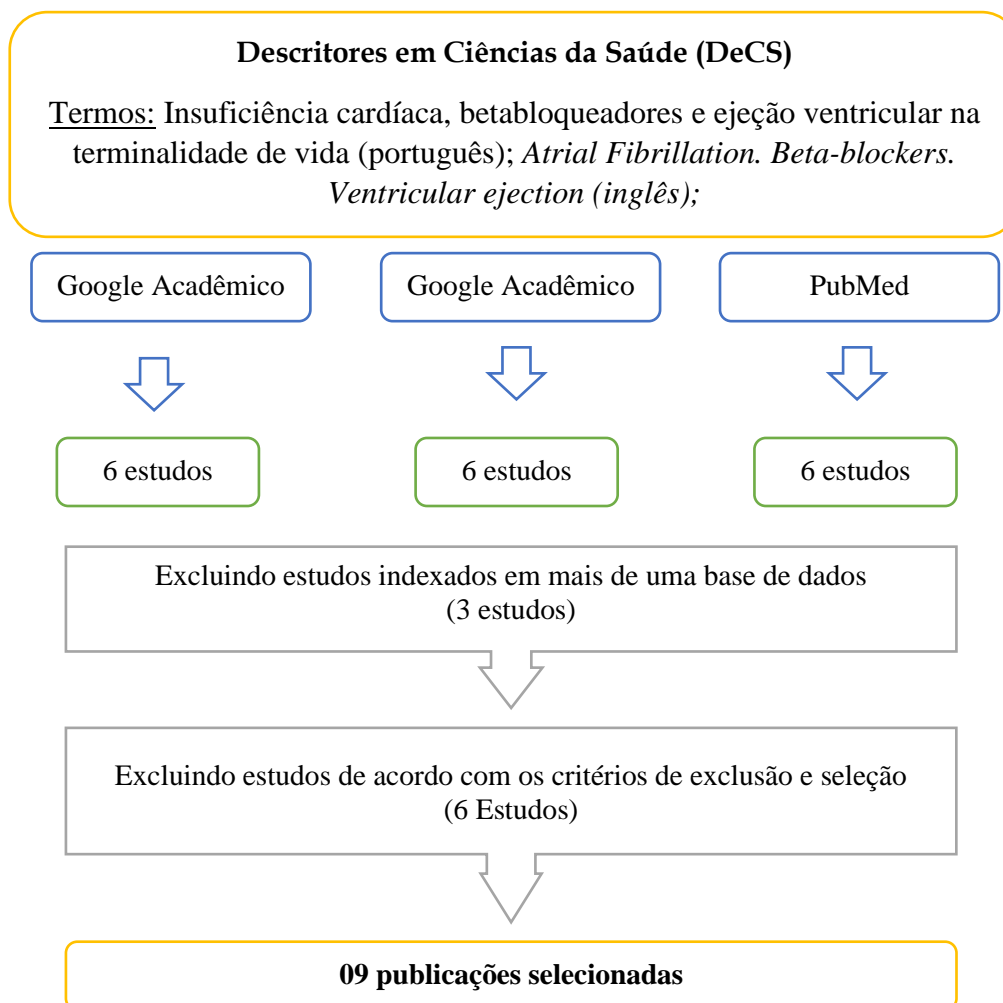
A finalidade do tratamento farmacológico na IC é diminuir a sobrecarga cardiovascular, melhorar o perfil hemodinâmico, reduzir a mortalidade, a hospitalização e melhorar a qualidade de vida do paciente (Khalil *et al.*, 2017). Fazem parte da composição terapêutica: Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA), bloqueadores do receptor da angiotensina II (BRA II), betabloqueadores, bloqueadores dos receptores mineralocorticoides (ARM), vasodilatadores, diuréticos, digitálicos e inibidores de neprililina (Miró *et al.*, 2016). A garantia da adesão medicamentosa e da dose terapêutica fará com que os medicamentos consigam atingir sua finalidade terapêutica, reduzindo a hospitalização, a mortalidade e melhorando a qualidade de vida (Miró *et al.*, 2016). É importante enfatizar que mesmo os pacientes assintomáticos devem realizar o tratamento medicamentoso (Dabrowski *et al.*, 2020).

Diante disso, o objetivo desta pesquisa é descrever a importância dos betabloqueadores na insuficiência cardíaca congestiva, informando os principais medicamentos da classe que comprovam a eficácia frente a IC.

Metodologia

A pesquisa foi realizada através de uma revisão de literatura integrativa de trabalhos publicados nos últimos anos – com intervalo de 2021 até 2024, podendo ser escolhidos estudos científicos anteriores dependendo da importância do conteúdo e da quantidade de trabalhos encontrados equivalentes ao tema. Foram pesquisados 15 artigos científicos. A pesquisa dos materiais de auxílio do estudo foi feita na base de dados online do Google Acadêmico (Scholar Google), BVS (Biblioteca Virtual em Saúde), e PubMed (U.S National Library of Medicine and National Institutes of Health). As palavras utilizadas foram: Insuficiência cardíaca, betabloqueadores e ejeção ventricular. Foram excluídas as bibliografias que não estavam alinhadas com o tema central da pesquisa e que foram publicadas antes do ano de 2016.

Figura 01 – Fluxograma dos estudos escolhidos:



Resultados e Discussão

Na elaboração desta pesquisa bibliográfica foram sintetizados, após o processo de análise, os seguintes estudos:

Tabela 01 – Síntese de classificação dos estudos:

Autores / Ano	Título	Portadores IC / Local	Tipo de Estudo	Base de Dados
Miró <i>et al.</i> , 2016	BETAWIN-AHF study: effect of betablocker withdrawal during acute decompensation in patients with chronic heart failure	1.990 Espanha	Retrospectivo longitudinal	BVS
Khalil <i>et al.</i> , 2017	Non-withdrawal of beta blockers in acute decompensated chronic and de novo heart failure with reduced ejection fraction in a prospective multicenter study of patients with acute heart failure in the Middle East	5.005 Golfo do Oriente Médio	Prospectivo Multicêntrico Observacional	BVS
Dabrowski <i>et al.</i> , 2020	Successful Combination of Landiolol and Levosimendan in Patients with Decompensated Heart Failure	03 Polônia	Relato de Caso	BVS
Ganapathi <i>et al.</i> , 2020	Early and long-term outcomes of decompensated heart failure patients in a tertiary-care centre in India	1.502 Índia	Retrospectivo Longitudinal	BVS
Grewal <i>et al.</i> , 2021	Role of Guideline Directed Medical	1.655 Estados Unidos	Retrospectivo Longitudinal	PUBMED

	Therapy Doses and Optimization in Patients Hospitalized With Decompensated Systolic Heart Failure			
López-Vilella <i>et al.</i> , 2022	Changes in the Treatment of Decompensated Advanced Heart Failure During Hospitalization and at Discharge	252 Espanha	Ambispectivo Transversal Observacional	PUBMED
Shiga <i>et al.</i> , 2022	Benefits and safety of landiolol for rapid rate control in patients with atrial tachyarrhythmias and acute decompensated heart failure	102 Japão	Revisão Sistemática	PUBMED
Palin <i>et al.</i> , 2022	Reduction of heart failure guideline-directed medication during hospitalization: prevalence, risk factors, and outcomes	711 Inglaterra	Prospectivo Multicêntrico Observacional Coorte	GOOGLE ACADÊMICO
Ditali <i>et al.</i> , 2022	Effect of landiolol in patients with tachyarrhythmias and acute decompensated heart failure (ADHF): a case series	05 Itália	Relato de Caso	GOOGLE ACADÊMICO

Tabela 02 – Conclusão clínica de cada estudo:

Autores / Ano	Conclusão Clínica
Miró <i>et al.</i> , 2016	Os pacientes com insuficiência cardíaca que utilizaram os betabloqueadores caverdilol ou bisoprolol em comparação com os que não utilizaram betabloqueadores tiveram uma elevada redução na mortalidade.
Khalil <i>et al.</i> , 2017	Os indivíduos com IC que não deixaram de usar durante a internação os betabloqueadores carvedilol, bisoprolol, metoprolol e atenolol obtiveram menores complicações durante a internação hospitalar.
Dabrowski <i>et al.</i> , 2020	Portadores de IC com fração de ejeção reduzida que utilizaram o betabloqueador landiolol com levosimendana na UTI, tiveram aumento no volume de ejeção do ventrículo esquerdo e melhora da função cardíaca.
Ganapathi <i>et al.</i> , 2020	Estudo entre 1.502 pacientes com IC que ao utilizarem betabloqueador na primeira internação após valvopatias, obtiveram menor risco de mortalidade e maior cardioproteção.
Grewal <i>et al.</i> , 2021	A análise identificou que pacientes que utilizaram caverdilol, metoprolol ou bisoprolol durante o tratamento com IC conseguiram ter maior qualidade de vida após a alta hospitalar.
López-Vilella <i>et al.</i> , 2022	O estudo buscou avaliar a segurança dos betabloqueadores em pessoas acometidas com IC e congestão sistêmica e pulmonar. Ficou observado que os betabloqueadores garantiram segurança em pessoas com pressão sistólica igual ou maior que 90mmHg.
Shiga <i>et al.</i> , 2022	Pacientes que utilizaram o landiolol intravenoso tiveram a frequência cardíaca reduzida sem diminuir a pressão arterial. Não apresentaram efeitos adversos alarmantes e melhoraram a hemodinâmica dos indivíduos.
Palin <i>et al.</i> , 2022	Neste estudo os portadores de IC que utilizavam betabloqueadores antes da internação hospitalar receberam alta mais rapidamente em relação aos que não utilizavam.

Ditali <i>et al.</i> , 2022	Pessoas acometidas com IC com tendência a choque cardiogênico que utilizam landiolol intravenoso em conjunto com milrinona na UTI tiveram melhor resposta ao tratamento sem prejuízo na função cardiovascular.
-----------------------------	--

A IC congestiva é uma doença que acomete pessoas em todo lugar no mundo, ela faz com que o portador tenha sua qualidade de vida prejudicada e pode gerar altos índices de reinternações em pouco espaço de tempo. Diante disso, uma das possibilidades como estratégia terapêutica são os medicamentos. Eles fazem com que o paciente tenha melhor qualidade de vida, diminua sua hospitalização e reduza sua mortalidade.

Os betabloqueadores são uma classe de medicamentos fortemente utilizada no combate dessa patologia: eles diminuem o débito cardíaco, reduzem a taxa de batimento cardíaco, diminuem a pressão arterial sistêmica e trazem cardioproteção. Os fármacos observados foram: landiolol, caverdilol, metoprolol, bisoprolol e atenolol. Eles servem tanto para a IC com fração de ejeção reduzida quanto a IC com fração de ejeção preservada.

Além disso, eles também podem servir para a IC aguda, quanto para a IC crônica. Ao analisar o principal motivo que faz com que o coração entre em falência diz a respeito da eletrofisiologia do miocárdio atrelado ao índice de batimentos cardíacos por minuto (bpm) e a o débito cardíaco aumentado. Os betabloqueadores diminuem tanto os bpm, quanto o débito cardíaco tornando-os como uma das principais classes utilizadas.

Nos trabalhos sintetizados nas tabelas acima, a via de administração principal utilizada foi a via oral (VO) e nos pacientes em estado crítico, em unidade de terapia intensiva (UTI) foi a via endovenosa. No estudo de Miró e colaboradores, 2016 ficou evidenciado a redução da mortalidade dos betabloqueadores caverdilol e bisoprolol frente a IC.

Na pesquisa de Khalil e colaboradores, 2017 foi observado que os pacientes hospitalizados que não interromperam o tratamento com betabloqueadores obtiveram menores complicações durante a internação hospitalar. Em relação a todos os estudos verificados não foram detectadas reações adversas graves, que prejudicassem o tratamento e a adesão dos pacientes.

Dabrowski e colaboradores, 2020 demonstraram que portadores de IC com fração de ejeção do ventrículo esquerdo reduzida que utilizavam betabloqueadores conseguiram ter uma resposta melhor da função cardíaca. Ganapathi e colaboradores, 2020

comprovaram que acometidos com valvopatias ao utilizarem betabloqueadores tiveram redução na mortalidade e elevado efeito cardioprotetor.

Grewal e colaboradores, 2021 identificaram que acometidos com IC em uso de betabloqueadores conseguiram ter uma maior qualidade de vida. Em relação a IC e congestão sistêmica e pulmonar López-Vilella e colaboradores, 2022 comprovaram que os betabloqueadores são seguros em pacientes com pressão sistólicas acima de 90 mmHg. Palin e colaboradores 2022 analisaram e descreveram que portadores de IC que já utilizaram betabloqueadores, tiveram uma alta hospitalar mais rápida com melhores respostas terapêuticas.

Considerações Finais

A presente revisão bibliográfica demonstrou que os betabloqueadores são umas das principais classes farmacológicas no combate a insuficiência cardíaca congestiva. Em especial o Caverdilol, Metoprolol, Bisoprolol e landiolol. Eles fizeram com que a qualidade de vida dos portadores da doença fosse bastante melhorada. Além disso, eles reduziram os índices de reinternação hospitalar, trouxeram cardioproteção ao miocárdio e diminuíram os graus de mortalidade. Em pacientes críticos que necessitam de cuidados intensivos em UTI o landiolol endovenoso demonstrou ser eficaz no combate a IC sem causar reações adversas graves, trazendo segurança ao paciente que utilizou. Vimos também, que os betabloqueadores analisados, foram eficazes tanto na insuficiência cardíaca aguda como na insuficiência cardíaca crônica; tanto com fração de ejeção reduzida como fração de ejeção preservada.

Referências

- Dabrowski, W., Siwicka-Gieroba, D., Piasek, E., Schlegel, T. T., & Jaroszynski, A. Successful Combination of Landiolol and Levosimendan in Patients with Decompensated Heart Failure. **International heart journal**, v. 61, p. 384-389, 2020.
- Ditali, V., Garatti, L., Morici, N., Villanova, L., Colombo, C., Oliva, F., & Sacco, A. Effect of landiolol in patients with tachyarrhythmias and acute decompensated heart failure (ADHF): a case series. **ESC heart failure**, v. 9, p.766–770, 2022.
- Ganapathi, S., Jeemon, P., Krishnasankar, R., Kochumoni, R., Vineeth, P., Mohanan Nair, K. K., Valaparambil, A. K., & Harikrishnan, S. Early and long-term outcomes of decompensated heart failure patients in a tertiary-care centre in India. **ESC heart failure**, v.7, p.467–473, 2020.

Grewal, D., Partow-Navid, R., Garcia, D., Coney, J., Fraser, G., Stoletniy, L., Sakr, A., Parwani, P., & Abramov, D. Role of guideline directed medical therapy doses and optimization in patients hospitalized with decompensated systolic heart failure. **The American journal of cardiology**, v.151, p. 64–69, 2021.

Khalil, A. C., Sulaiman, K., Mahfoud, Z., Singh, R., Asaad, N., AlHabib, K. F., Alsheikh-Ali, A., Al-Jarallah, M., Bulbanat, B., AlMahmeed, W., Ridha, M., Bazargani, N., Amin, H., Al-Motarreb, A., Faleh, H. A., Elasfar, A., Panduranga, P., Suwaidi, J. A., & GULF-CARE group. Non-withdrawal of beta blockers in acute decompensated chronic and de novo heart failure with reduced ejection fraction in a prospective multicentre study of patients with acute heart failure in the Middle East. **BMJ open**, v.7, p. 14-17, 2017.

López-Vilella, R., Laymito Quispe, R. D. P., Donoso-Trenado, V., Sánchez-Lázaro, I., Martínez Dolz, L., & Almenar Bonet, L. Changes in the Treatment of Decompensated Advanced Heart Failure During Hospitalization and at Discharge. **Transplantation proceedings**, v.54, p. 2497–2499, 2022.

Miró, Ò., Müller, C., Martín-Sánchez, F. J., Bueno, H., Mebazaa, A., Herrero, P., Jacob, J., Gil, V., Escoda, R., Llorens, P., & ICA-SEMES Research Group. BETAWIN-AHF study: effect of beta-blocker withdrawal during acute decompensation in patients with chronic heart failure. **Clinical research in cardiology: official journal of the German Cardiac Society**, v.105, p. 1021–1029, 2016.

Palin, V., Drozd, M., Garland, E., Malik, A., Straw, S., McGinlay, M., Simms, A., Gatenby, V. K., Sengupta, A., Levelt, E., Witte, K. K., Kearney, M. T., & Cubbon, R. M. Reduction of heart failure guideline-directed medication during hospitalization: prevalence, risk factors, and outcomes. **ESC heart failure**, v.9, p. 3298–3307, 2022.

Shiga T. Benefits and safety of landiolol for rapid rate control in patients with atrial tachyarrhythmias and acute decompensated heart failure. **European heart journal supplements: journal of the European Society of Cardiology**, v.24, p. 11-21, 2022.

CAPÍTULO 10

UTILIZAÇÃO DO PROPILENOGLICOL NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E FÁRMACOS: UMA REVISÃO DOS ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

USE OF PROPYLENE GLYCOL IN THE FOOD AND DRUG INDUSTRY: A REVIEW OF TOXICOLOGICAL ASPECTS

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.10>

Submetido em: 13/01/2025

Revisado em: 16/01/2025

Publicado em: 17/01/2025

Veridiana de Almeida Flores de Oliveira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências de Alimentos,
Maringá- PR

<https://orcid.org/0009-0000-1933-4682>

Amanda Tatiane Correa Pereira

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Tecnologia de
Alimentos, Londrina-PR

<https://orcid.org/0009-0003-3001-1798>

Larissa Pelisson Trento

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia- Maringá-PR

<https://lattes.cnpq.br/6393491498562184>

Amábile Mariano Marques

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos,
Maringá-PR

<https://orcid.org/0009-0003-9774-4662>

Natalia Santos Pretes

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências de Alimentos,
Maringá- PR

<http://lattes.cnpq.br/6599004211370298>

Pablo Ricardo Sanches de Oliveira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências de Alimentos,
Maringá- PR

<https://orcid.org/0000-0002-2380-3506>

Rita de Cássia Dutra

Centro Universitário Ingá- Uningá, Departamento de Farmácia, Maringá -PR

<http://lattes.cnpq.br/1963223605870220>

Sarah de Oliveira Vicente

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica de Alimentos,
Maringá- PR

<https://orcid.org/0009-0006-9322-4901>

Caroline Crivelaro de Oliveira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciência de Alimentos,
Maringá- PR

<https://orcid.org/0009-0000-0826-2310>

Larissa Rodrigues da Silva

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Medicina, Recife-PE

<https://orcid.org/0009-0004-4868-1877>

Resumo

O propilenoglicol (PG) é um composto amplamente utilizado em diversas indústrias, incluindo alimentos, medicamentos e cosméticos, devido às suas propriedades de solvente e estabilizante. Ele é reconhecido como seguro para uso nessas áreas, embora ainda existam poucos dados disponíveis sobre os níveis específicos de exposição que poderiam representar riscos de toxicidade para os seres humanos. Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre a toxicidade do PG, buscando identificar dados relevantes que possam ajudar a compreender melhor os efeitos adversos associados ao seu uso e as condições em que esses riscos podem ocorrer. A análise inclui uma avaliação dos diferentes tipos de exposição ao PG, seus processos de absorção e metabolismo no organismo.

Palavras-Chave: exposição crônica, riscos à saúde, regulação de aditivo

Abstract

Propylene glycol (PG) is a compound widely used in various industries, including food, pharmaceuticals, and cosmetics, due to its properties as a solvent and stabilizer. It is recognized as safe for use in these areas, although there is still limited data available on the specific exposure levels that could pose toxicity risks to humans. The aim of this work is to conduct a literature review on the toxicity of PG, seeking to identify relevant data that can help better understand the adverse effects associated with its use and the conditions under which these risks may occur. The analysis includes an assessment of the different types of exposure to propylene glycol, its absorption and metabolism processes in the body.

Keywords: chronic exposure, health risks, additive regulation.

Introdução

O propilenoglicol (PG), ou 1,2-propanodiol, é um composto amplamente utilizado em diversas indústrias devido às suas propriedades como solvente, emulsificante, umectante e conservante. Na indústria alimentícia, ele é utilizado como veículo para aromas artificiais, corantes e outros aditivos, além de ajudar a preservar a textura e a umidade de alimentos processados.

Já no setor farmacêutico, o PG é um componente essencial em formulações intravenosas, medicamentos tópicos e orais, sendo especialmente útil na solubilização de compostos hidrofóbicos (Peterson *et al.*, 2021). Também é amplamente empregado como excipiente em cosméticos e produtos farmacêuticos devido às suas propriedades emulsificantes e estabilizantes (Abd Alameer, 2018). O (PG), um álcool diol de baixo peso molecular, é um solvente amplamente utilizado em fluidos de degelo, tintas, revestimentos e detergentes líquidos (NTP, 2004; Agência Europeia de Medicamentos, 2017).

É reconhecido como seguro pela Food and Drug Administration (FDA, 2017) para uso em produtos alimentícios, tabaco, medicamentos, formulações farmacêuticas e cosméticos. Além disso, possui uma ampla variedade de aplicações práticas, incluindo degeladores, líquidos de refrigeração, anticongelantes, fluidos para transferência de calor e hidráulicos, plastificantes e outras utilizações, como cortinas de fumaça e simuladores de fumaça (ATSDR, 2008).

Embora o PG seja considerado seguro pela maioria das regulamentações, incluindo a FDA (Food and Drug Administration), estudos recentes demonstram que seu uso em altas doses ou por períodos prolongados pode acarretar efeitos adversos. Toxicidade renal e metabólica foram observadas em modelos experimentais e humanos, incluindo acidose láctica grave e insuficiência renal em exposições crônicas ou em pacientes vulneráveis (Zhou *et al.*, 2021).

Para a população em geral, as principais formas de exposição ao PG incluem a ingestão e o contato cutâneo com produtos que contêm esse composto. Também é possível que o público em geral seja exposto a pequenas quantidades liberadas de carpetes recém-colocados com base de polivinil. Nos locais de trabalho, os funcionários são

expostos por contato dérmico e possivelmente inalação em tarefas que exigem aquecimento ou aplicação por spray de fluidos que contêm esse composto (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997). Diante disso, o objetivo dessa revisão narrativa é apresentar dados toxicológicos do propilenoglicol e estudos de relevância.

Metodologia

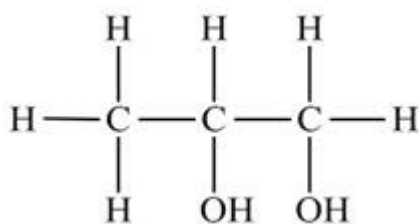
Essa revisão foi feita no formato de revisão narrativa envolve a análise crítica e a síntese de informações disponíveis na literatura, sem necessariamente seguir um método sistemático rigoroso como nas revisões sistemáticas.

Para a elaboração, utilizou-se uma abordagem qualitativa que incluiu a seleção de artigos científicos, capítulos de livros, relatórios técnicos e publicações confiáveis em bases de dados acadêmicas. As bases de dados pesquisadas foram, PubMed, Scopus e Web of Science, ScienceDirect: Oferece uma ampla gama de estudos sobre aplicações químicas e farmacêuticas. ATSDR e FDA: Fontes específicas para regulamentações, relatórios técnicos e informações sobre segurança de substâncias químicas.

Resultados e Discussão

- **Propilenoglicol**

O propilenoglicol apresenta-se como um líquido transparente, incolor e viscoso, com uma leve doçura perceptível em seu sabor. Quimicamente, sua estrutura é representada pela fórmula $\text{CH}_3\text{CH}[\text{OH}]\text{CH}_2\text{OH}$ (ATSDR, 2020).



Fonte: ATSDR, 2020).

O PG é amplamente considerado seguro pela Food and Drug Administration (FDA) (FDA 2017) para uso em alimentos, produtos de tabaco, medicamentos e cosméticos. Além disso, possui uma ampla gama de aplicações práticas (ATSDR 2008), como em agentes degelantes, fluidos de refrigeração, anticongelantes, sistemas de transferência de calor, fluidos hidráulicos, plastificantes e outros usos, incluindo geradores de fumaça e simuladores de neblina.

De acordo com a Anvisa (2022) PG está classificado como aditivo alimentar autorizado como (INS 1520) para alguns alimentos.

Toxicologia do Propilenoglicol

- **Fontes de exposição**

A maioria dos casos de toxicidade associados ao propilenoglicol ocorreu devido ao seu uso como diluente na administração intravenosa de benzodiazepínicos (Kraut; Kurtz, 2008). De acordo com o ATSDR (1997), o propilenoglicol também é conhecido pelos seguintes nomes: 1,2-propanodiol, 1,2-dihidroxiopropano, metilglicol e trimetilglicol.

Em geral, a exposição ao PG acontece principalmente através da ingestão de alimentos e remédios, bem como pelo contato da pele com cosméticos ou medicamentos tópicos. Ele é empregado como um solvente em cosméticos e medicamentos, estando presente em várias formulações, incluindo as orais, injetáveis e tópicas. Também desempenha um papel diluente em diversos fármacos administrados por via intravenosa ou oral, como fenitoína, diazepam e lorazepam. No Japão, o consumo médio diário, utilizado como estabilizante de aditivos alimentares, foi calculado em 43 mg por indivíduo em 1982 (Louekari *et al.*, 1990).

Crianças de instituições públicas de ensino e o público em geral que assistem a demonstrações de combate a incêndios que utilizam para simular condições de incêndio são expostos a quantidades mínimas desse composto (Rossol, 1993).

É encontrado principalmente em sobremesas de produtos lácteos, frutas, emulsões com baixo teor de gordura, sobremesas à base de cereais, molhos emulsionados e concentrados de refrigerantes. É permitido um limite máximo de 10 000 mg/kg para o E405 (alginato de propan-1,2-diol) em licor emulsionado e 30 000 mg/kg para o E477 (ésteres de propan-1,2-) (Wood *et al.*, 2004).

A inalação ou vapores de qualquer um dos compostos, pode atingir o sangue. Ele também pode ser introduzido na corrente sanguínea por meio da pele se você o tocar diretamente sem lavá-lo. Se consumir alimentos que contêm pode ser absorvido pelo sangue (ATSDR, 2020).

Funcionários de indústrias que produzem ou utilizam produtos com altas concentrações de PG (como anticongelante, refrigerantes, fluidos de degelo, fluidos de freio, solventes) podem estar sujeitos a concentrações desses compostos mais elevadas do que a população em geral, especialmente em procedimentos que envolvem

aquecimento ou pulverização desses materiais. Artistas e funcionários de produções teatrais que utilizam névoa ou fumaça com PG para efeitos especiais provavelmente estarão expostos a níveis mais elevados desse composto do que a população em geral (Rossol 1993).

É comumente empregado em algumas preparações de medicamentos cosméticos e orais, além de ser um aditivo GRAS em alimentos, conforme definido pela FDA (1982). Ele atua como agente emulsificante e plastificante, umectante, surfactante e solvente. O propilenoglicol é incorporado aos alimentos em quantidades que variam de <0,001% em ovos e sopas até 97% em condimentos e sabores, conforme a EPA (1979). Também se descobriu que o propilenoglicol é transportado para diversos alimentos através de filmes de celulose regenerada que contêm o composto como agente amaciante. O composto foi identificado em chocolates com 20-1.460 mg/kg (ppm) após 5,5 meses e 25-1.890 mg/kg (ppm) após 15 meses, em tortas de frutas com 10-154 mg/kg (ppm) após 84-336 dias de armazenamento, em tortas de carne com <10-1.530 mg/kg (ppm) após 3-7 dias de armazenamento, e em caramelo com <10-1.530 mg/k. A torta de madeira apresenta uma concentração de <10-365 mg/kg (ppm) após 2 1-28 dias de armazenamento, enquanto os doces cozidos apresentam uma concentração de <10-272 mg/kg (ppm) após 168-450 dias de armazenamento (Castle *et al.*, 1988a).

Casos clínicos indicam que o uso contínuo de medicamentos que contêm PG pode levar a efeitos sistêmicos severos, incluindo disfunções metabólicas e neurológicas (Ahmed *et al.*, 2021). Ademais, o PG é conhecido por provocar dermatite de contato em pessoas sensíveis, sobretudo por sua utilização em produtos tópicos e cosméticos. Estudos recentes sugerem que, apesar de serem raras, as reações cutâneas podem ocorrer em grupos predispostos (Jacob *et al.*, 2018). No ambiente de trabalho ou em exposições ambientais e na forma de aerossol tem sido relacionado a irritações oculares e respiratórias, conforme evidenciado em pesquisas de exposição controlada (Dalton *et al.*, 2018).

Os fluxos de resíduos gerados na produção de PG são os principais causadores das emissões no ar, água e solo. O propilenoglicol tem potencial de contaminação ambiental quando utilizado como agente de degelo em pistas e aeronaves. Também é possível que seja lançado no meio ambiente através do descarte de produtos que o contêm. Não se espera que esteja presente em grande quantidade no ar. Poucas informações estão disponíveis sobre o que ocorre com o PG no ar. Provavelmente, as pequenas quantidades que podem ser lançadas no ar se decompõem rapidamente. Caso escape para o ar, o tempo

para que metade do volume liberado se decomponha varia de 24 a 50 horas (ATDSR, 2020).

A exposição dietética média ao PG, conforme estimativa da EFSA (2018), varia de 0,1 mg/kg de peso corporal/dia (em bebês) a 11,6 mg/kg de peso corporal/dia (em crianças pequenas), com variação dependendo da faixa etária na população europeia

Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (2022), reforçou medidas de controle e fiscalização sobre o uso do propilenoglicol após a identificação de contaminação com monoetilenoglicol em lotes específicos. O monoetilenoglicol é uma substância altamente tóxica que pode causar lesões renais, hepáticas, intoxicação severa e até morte, destacando a gravidade do problema.

A Resolução RDC nº 655/2022, que orienta a rastreabilidade de produtos utilizados em alimentos e medicamentos, vem buscando manter rigorosos padrões para evitar contaminação de produtos (Anvisa, 2022). Incidentes envolvendo o propilenoglicol sublinham a necessidade de avanços nos processos de fiscalização e investigação para mitigar riscos e proteger a saúde pública e animal. A segurança no uso desse aditivo depende de um controle rigoroso em toda a cadeia de produção e distribuição, bem como de práticas industriais éticas e transparentes.

- **Excreção**

É rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, alcançando concentrações plasmáticas máximas em humanos cerca de uma hora após a ingestão. No fígado, é metabolizado pela enzima álcool desidrogenase em ácido láctico, que é posteriormente convertido em ácido pirúvico. Esses metabólitos fazem parte do ciclo do ácido cítrico, sendo finalmente transformados em dióxido de carbono e água. Cerca de 45% da quantidade absorvida é excretada pelos rins, seja inalterada ou conjugada com glucuronídeo (ATDSR,2020). Em adultos com função hepática e renal normais, a meia-vida terminal varia entre 1,4 e 3,3 horas (Speth *et al.*, 1987). Em bebês, no entanto, a meia-vida média é consideravelmente maior, atingindo 19,3 horas (variando de 10,8 a 30,5 horas) devido à menor eficiência na eliminação renal (Lim *et al.*, 2014).

Como solvente em medicamentos intravenosos é a exposição humana mais provável de resultar em efeitos na saúde. É rapidamente absorvido, distribuindo-se rapidamente pelos tecidos em proporção à água do corpo, sendo eliminado do organismo através de uma combinação de depuração metabólica e excreção renal (K. McMartin, 2014).

De acordo com as atualizações recentes do CDC (2022), alguns dados da literatura foram localizados sobre a toxicidade associada ao PG. Pacientes em terapia intensiva podem apresentar toxicidade devido à administração intravenosa de medicamentos contendo doses excessivas ou rapidamente infundidas, conforme relatado em diversos estudos (Horinek *et al.*, 2009; Louis *et al.*, 1967; Neale *et al.*, 2005; Seay *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 2000; Yorgin *et al.*, 1997; Zar *et al.*, 2007; Zosel *et al.*, 2010), ou pelo contato dérmico prolongado durante o tratamento de queimaduras (Peleg *et al.*, 1998). Contudo a atualização dessas informações são necessárias.

Além disso, alguns grupos apresentam maior risco de toxicidade por propilenoglicol, como pacientes com doença renal subjacente, indivíduos com sistemas enzimáticos de álcool desidrogenase menos eficazes ou comprometidos (incluindo crianças menores de 4 anos, gestantes, pacientes com doença hepática e aqueles tratados com dissulfiram ou metronidazol), pacientes com epilepsia e pacientes queimados submetidos a extensas aplicações dérmicas de PG (Lim *et al.*, 2014).

Considerações Finais

Dados atuais não foram registrados sobre intoxicação com PG bem como estudos em andamento não foram documentados nos últimos cinco anos até a finalização desse trabalho. Atualmente, não há registros documentados de exposição ao PG no Registo Nacional de Exposições (EUA) e essa substância ainda não foi incluída nos sub-registros específicos do sistema. No entanto, ela poderá ser considerada futuramente durante o processo de seleção química para criação de novos sub-registros. As informações acumuladas nesse registro são fundamentais para pesquisas epidemiológicas que avaliem possíveis efeitos adversos à saúde relacionados à exposição a essa substância (ATSDR, 2022). Levando em conta que a legislação brasileira se baseia nas normas internacionais para avaliação de um ingrediente a visibilidade de PG levaria ao desenvolvimento de mais estudos toxicológicos e de seus contaminantes, garantido a segurança na ingestão de produtos que contenham esse aditivo, bem como estudos sobre a exposição por outras vias.

Referências

ANVISA. Resolução RE nº 3.198, de 28 de setembro de 2022.

AGÊNCIA PARA SUBSTÂNCIAS TÓXICAS E REGISTRO DE DOENÇAS (ATSDR). What is propylene glycol? 2022. Disponível em: https://archive.cdc.gov/www.atsdr.cdc.gov/csem/ethylene-propylene-glycol/propylene_glycol.html

_____. *Propylene glycol: Toxicological profile*. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2008.

AHMED, M., JAGADESH, S., ALHAJHUSAIN, M., & MUTNURI, S. (2021). Intoxication with Fireball Whiskey causing severe lactic acidosis. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 34, 521 - 522. <https://doi.org/10.1080/08998280.2021.1906828>.

CASTLE, L.; CLOKE, H. R.; CREWS, C.; ET AL. The migration of propylene glycol, mono-, di-, and triethylene glycols from regenerated cellulose film into food. *Z Lebensm Unters Forsch*, v. 187, n. 5, p. 463-467, 1988a.

DALTON, P., SORETH, B., MAUTÉ, C., NOVALESKI, C., & BANTON, M. (2018). Lack of respiratory and ocular effects following acute propylene glycol exposure in healthy humans. *Inhalation Toxicology*, 30, 124 - 132. <https://doi.org/10.1080/08958378.2018.1470207>.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion on the safety of propylene glycol as a food additive. *EFSA Journal*, v. 16, n. 11, p. 5435, 2018. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu>. Acesso em: 23 nov. 2024.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on the use of propylene glycol as an excipient in medicinal products for human use. 2017. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu>. Acesso em: 23 nov. 2024.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on the use of propylene glycol as an excipient in medicinal products for human use. 2017. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu>. Acesso em: 23 nov. 2024.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion on the safety of propylene glycol as a food additive. *EFSA Journal*, v. 16, n. 11, p. 5435, 2018. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu>. Acesso em: 23 nov. 2024.

EPA. 1979. Investigation of selected potential environmental contaminants: Ethylene glycol, propylene glycols and butylene glycols. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances.

EPA. 1982. Tolerances and exemptions from tolerances for pesticide chemicals in or on raw agricultural commodities. U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 180.142.

FDA. 1982. Generally recognized as safe. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations. 21 CFR 184.1666.

FDA. 1973. Teratologic evaluation of compound FDA 71-56 (propylene glycol) in mice, rats, hamsters, and rabbits. PB-223 -822.

JACOB, S., SCHEMAN, A., & MCGOWAN, M. (2018). Propylene Glycol. *Dermatitis*, 29, 3–5. <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000315>.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Report on carcinogens. Fourteenth Edition. 2004. Disponível em: <https://ntp.niehs.nih.gov>. Acesso em: 23 nov. 2024.

PETERSON, J.; STADLEN, R.; RADKE, J. Propylene glycol toxicity from compulsive corn starch ingestion. *The American Journal of Emergency Medicine*, 2021

WOOD, ROGER; FOSTER, LUCY; DAMANT, ANDRÉ; CHAVE, PAULINA. *Analytical Methods for Food Additives*. 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2004.

ZHOU, Y.; ZHAO, X.; HU, W.; et al. Acute and subacute oral toxicity of propylene glycol enantiomers in mice and the underlying nephrotoxic mechanism. *Environmental Pollution*, 2021.

CAPÍTULO 11

PUBLIQUE COM A SCIENCE EM FLUXO CONTÍNUO

PUBLISH WITH SCIENCE IN CONTINUOUS FLOW

DOI: <https://doi.org/10.56001/22.9786500466386.11>

Submetido em: 30/12/2023

Revisado em: 16/01/2024

Publicado em: 25/01/2024

AUTORES

Universidade Federal do Brasil, Faculdade de Ciências, Localidade-PE

<http://lattes.cnpq.br/>

AUTORES

Universidade Estadual do Brasil, Centro de Ciências, Localidade-PB

<https://orcid.org/>

Resumo

Texto

Palavras-chave: Words.

Abstract

Texto

Keywords: Words.

Introdução

Aqui começa sua publicação e história de sucesso.

SOBRE OS ORGANIZADORES DO LIVRO

DADOS CNPQ:

Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos



Possui Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2003) e Mestrado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2006). Doutor em Biotecnologia pela RENORBIO (Rede Nordeste de Biotecnologia (2013), Área de Concentração Biotecnologia em Saúde atuando principalmente com pesquisa relacionada a genética do câncer de mama. Participou como Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível 3 de relevantes projetos tais como:

Projeto Genoma *Anopheles darlingi* (de 02/2008 a 02/2009); e Isolamento de genes de interesse biotecnológico para a agricultura (de 08/2009 a 12/2009). Atualmente é Professor Adjunto III da Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, do Centro de Educação e Saúde onde é Líder do Grupo de Pesquisa BASE (Biotecnologia Aplicada à Saúde e Educação) e colaborador em ensino e pesquisa da UFRPE, UFRN e EMBRAPA-CNPQ. Tem experiência nas diversas áreas da Genética, Fisiologia Molecular, Microbiologia e Bioquímica com ênfase em Genética Molecular e de Microrganismos, Plantas e Animais, Biologia Molecular e Biotecnologia Industrial. Atua em projetos versando principalmente sobre os seguintes temas: Metagenômica, Carcinogênese, Monitoramento Ambiental e Genética Molecular, Marcadores Moleculares Genéticos, Polimorfismos Genéticos, Bioinformática, Biodegradação, Biotecnologia Industrial e Aplicada, Sequenciamento de DNA, Nutrigenômica, Farmacogenômica, Genética na Enfermagem e Educação.

Pós-Dra. Carliane Rebeca Coelho da Silva



Possui Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco apresentando monografia na área de genética com enfoque em transgenia. Mestrado em Melhoramento Genético de Plantas pela Universidade Federal do Rural de Pernambuco com dissertação na área de melhoramento genético com enfoque em técnicas de imunodeteção. Doutora em Biotecnologia pela RENORBIO (Rede Nordeste de Biotecnologia, Área de Concentração Biotecnologia em Agropecuária) atuando principalmente com tema relacionado a transgenia de plantas. Pós-doutorado em Biotecnologia com concentração na área de Biotecnologia em Agropecuária. Atua com linhas de pesquisa focalizadas nas áreas de defesa de plantas contra estresses bióticos e abióticos, com suporte de ferramentas biotecnológicas e do melhoramento genético. Tem experiência na área de Engenharia Genética, com ênfase em isolamento de genes, expressão em plantas, melhoramento genético de plantas via transgenia, marcadores moleculares e com práticas de transformação de plantas via "ovary drip". Tem experiência na área de genética molecular, com ênfase nos estudos de transcritos, expressão diferencial e expressão gênica. Integra uma equipe com pesquisadores de diferentes instituições como Embrapa Algodão, UFRPE, UEPB e UFPB, participando de diversos projetos com enfoque no melhoramento de plantas.

Pesquisas Aplicadas em Farmácia

“Esperamos que tenham aproveitado todos os trabalhos disponíveis na íntegra e gratuitos para seu conhecimento e consulta.

Esta obra objetivou ampliar os seus horizontes sobre a temática proposta além dos muros acadêmicos, proporcionando uma visão mais realista, ampla e multidisciplinar desta área de estudo seus impactos e descobertas.

Os livros da Science compreendem do conhecimento mais simples ao mais complexo, do mais acadêmico ao mais aplicado, procurando sempre a socialização global com conhecimento científico respaldado e de qualidade, para que a sociedade possa se beneficiar em todos os sentidos.

Agradecemos o seu interesse em chegar até o final deste livro na busca por conhecimento. Aguardem novos títulos e eventos da Editora Science sempre comprometida com a qualidade e o sucesso da sua publicação.”

PARA MAIS INFORMAÇÕES E OBRAS DA EDITORA SCIENCE ACESSE:

www.editorascience.com.br

Siga nossas redes sociais e amplie o alcance dos nossos livros:

Facebook: <http://www.facebook.com/editorascience>

Instagram: <https://www.instagram.com/editorascience>



Todos os Direitos Reservados

