

20
ANOS
CURSO DE FARMÁCIA
URI ERECHIM

XVIII JORNADA DE ESTUDOS FARMACÊUTICOS I JORNADA DE BIOMEDICINA

XVI MOSTRA CIENTÍFICA E IX MOSTRA DE EXTENSÃO



ANAIS



ANAIIS

XVIII Jornada de Estudos Farmacêuticos
I Jornada de Biomedicina
XVI Mostra Científica e IX Mostra de Extensão
07 a 11 de outubro de 2019

Organizadores
Alexandre Umpierrez Amaral
Helissara Silveira Diefenthaler
Silvane Souza Roman

OUTUBRO/2019



**O conteúdo dos textos é de responsabilidade exclusiva dos(as) autores(as).
Permitida a reprodução, desde que citada a fonte**

J82a Jornada de Estudos Farmacêuticos (18: 2017: Erechim, RS)

Anais [recurso eletrônico] : / XVIII Jornada de Estudos Farmacêuticos; I Jornada de Biomedicina; XVI Mostra Científica; IX Mostra de Extensão. Erechim, RS, 2019.

1 recurso online

ISBN 978-85-7892-174-3

Modo de acesso: www.uri.uricer.edu.br/edifapes

Jornada de Estudos Farmacêuticos (acesso em: 30 ago. 2019)

Evento realizado na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim.

Com Anais / I Jornada de Biomedicina – Anais /XVI Mostra Científica
– Anais / IX Mostra de Extensão

“Organização: Alexandre Umpierrez Amaral, Helissara Silveira Diefenthaler, Silvane Souza Roman.”

1. Plantas medicinais 2. Microbiologia 3. Nanotecnologia 4. Farmacoterapia
5. Farmácia I. Título

CDU: 615.1 (063)

Catálogo na fonte: bibliotecária Sandra Milbrath CRB 10/1278



Livraria e Editora
Av. 7 de Setembro, 1621
99.709-910 - Erechim-RS
Fone: (54) 3520-9000
www.uricer.edu.br



SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	6
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE <i>ARCTIUM MINUS</i> (Hill.) Bernh.	8
Juliana Pasquali.....	8
Maríndia Paula Blaszak	8
Juliana Roman.....	8
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA FRAÇÃO AQUOSA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE <i>ACCA SELLOWIANA</i> (O. BERG) BURRET	15
Felipe Goronski.....	15
Cindy Gicomelli Rigo	15
Silvane Souza Roman	15
Elisabete Maria Zanin	15
Juliana Roman.....	15
Helissara Silveira Diefenthaeler	15
Neiva Aparecida Grazziotin.....	15
EFEITOS DOS ÁCIDOS 4-HIDROXIFENILPIRÚVICO, 4-HIDROXIFENILÁTICO E 4-HIDROXIFENILACÉTICO SOBRE PARÂMETROS RESPIRATÓRIOS MITOCONDRIAIS EM CÉREBRO E FIGADO DE RATOS	22
Ângela Beatris Zemniacak.....	22
Fabiana Andrighi	22
Paola Gallina Toldo	22
Eduarda Carolina Balena Schinaider	22
Fernanda Dal'Maso Camera	22
Alexandre Umpierrez Amaral.....	22
CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>ACCA SELLOWIANA</i> (O. BERG) BURRET	29
Cindy Giacomelli Rigo	29
Elisabete Maria Zanin	29
Juliana Roman.....	29
Silvane Souza Roman	29
Helissara Diefenthaeler	29
Felipe Goronski	29
EFEITO TÓXICO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DAS FOLHAS DE <i>ACCA SELLOWIANA</i> (BERG.) BURRET.	37
Emanuelli Tainara Bender	37
Júlia Gabrieli Bender	37
Neiva Aparecida Grazziotin.....	37
Helissara Diefenthaeler	37
Juliana Roman.....	37
Silvane Souza Roman	37



OS ÁCIDOS 4-HIDROXIFENILPIRÚVICO, 4-HIDROXIFENILÁTICO E 4-HIDROXIFENILACÉTICO ALTERAM A HOMEOSTASE REDOX EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS..... 44

Fabiana Camila Andrighi	44
Paola Gallina Toldo	44
Eduarda Carolina Balena Schinaider	44
Ângela Beatris Zemniachak	44
Fernanda Dal'Maso Camera	44
Alexandre Umpierrez Amaral	44

UTILIZAÇÃO DE NANOTECNOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E ÓLEO DE AÇAÍ..... 51

Ana Carolina da Silva	51
Karina Paese.....	51
Juliana Roman.....	51

PREVENÇÃO DE PARASIToses EM CRIANÇAS ATRAVÉS DE EDUCAÇÃO SANITÁRIA..... 58

Raquel Tonello.....	58
Luiz Carlos Cichota	58
Neiva Aparecida Grazziotin.....	58



APRESENTAÇÃO

É com grande satisfação que apresentamos aos participantes da XVIII Jornada de Estudos Farmacêuticos, I Jornada de Biomedicina, XVI Mostra Científica e IX Mostra de Extensão os anais destes eventos, que permitem um olhar mais amplo sobre os trabalhos de pesquisa apresentados.

O Curso de Farmácia da URI Erechim tem por tradição, anualmente, ofertar aos acadêmicos e profissionais da área da saúde a oportunidade de discutir assuntos relevantes e atualizações das várias áreas da farmácia com profissionais renomados de diferentes regiões do país. O evento realizado neste ano de 2019 destaca-se pela comemoração dos 20 anos do curso de Farmácia da URI Erechim e também marca o início do curso de Biomedicina nesta universidade, ressaltando a importância da multidisciplinaridade entre as profissões e a promoção da troca de conhecimentos entre alunos e profissionais farmacêuticos e biomédicos.

A troca de experiências se tornou uma das principais características destes eventos, propiciando ao acadêmico conhecer novos campos em desenvolvimento na área da saúde através de palestras e minicursos práticos, bem como aos participantes envolvidos realizarem contatos com o objetivo de estabelecer novas parcerias profissionais. Além disso, a mostra científica estimula a pesquisa científica junto aos acadêmicos, oportuniza a apresentação dos resultados obtidos e intercâmbio entre pesquisadores e divulga a pesquisa científica realizada em nossa unidade. Destaca-se também a mostra de extensão, que muitas vezes é proveniente dos resultados da pesquisa científica que foram aplicados na promoção da saúde da população em nossa comunidade. Nos anais do evento, encontram-se disponíveis os trabalhos na forma de artigo completo ou resumo simples, os quais foram avaliados e selecionados pela Comissão Científica para apresentação oral diante de uma banca avaliadora que premiou os três primeiros colocados.

Aproveitamos a oportunidade para reiterar e tornar público o nosso reconhecimento e agradecimento à Direção, professores e funcionários da URI Erechim, às entidades, universidades e demais parceiros, palestrantes e ministradores dos minicursos, cuja contribuição tornou possível o planejamento e a realização dos eventos; e ao Conselho Regional de Farmácia/RS, UNICRED, De Conto Distribuidora, Hotel Pallis e LaborSys pelo patrocínio para a realização deste evento.

Comissão Organizadora



COMISSÃO ORGANIZADORA

Organização do Evento

Dr. Luiz Carlos Cichota
Ms. Neiva Aparecida Grazziotin

Comissão Científica

Dr. Alexandre Umpierrez Amaral
Dra. Helissara Silveira Diefenthaler
Dra. Silvane Souza Roman

Comissão de Patrocínio, Divulgação e Recepção

Ms. Juliana Roman
Dr. Luiz Carlos Cichota

Comissão Social

Dr. Luiz Carlos Cichota
Ms. Mariluce Jaskuski
Ms. Marisa Romani
Ms. Neiva Aparecida Grazziotin

Apoio

- URI Erechim
- Departamento de Ciências da Saúde
- Curso de Farmácia
- Conselho Regional de Farmácia/ RS
- UNICRED
- De Conto Distribuidora
- Hotel Pallis
- LaborSys

Contato

Fone: (54) 3520-9000
Ramais 9073 / 9050
Fax: 54 3520 9090
Av. Sete de Setembro, 1621
Bairro Fátima, Erechim, RS – Brasil
CEP 99709-910

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *ARCTIUM MINUS* (Hill.) Bernh.

Juliana Pasquali¹; Maríndia Paula Blaszkak²; Juliana Roman³

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim – Departamento de Ciências da Saúde
pasqualijuli26@gmail.com

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim Erechim – Departamento de Ciências da Saúde

³ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim Erechim – Departamento de Ciências da Saúde

Resumo

A *Arctium minus* popularmente conhecida como bardana, bardana menor, e entre outras, pertence à família Asteraceae, apresenta como características folhas grandes, flores lilás. Comumente tem o uso popular sendo utilizada na forma de chás das folhas e a raízes da planta. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de extratos aquosos de folhas e raízes de “bardana” (*Arctium minus* (Hill) Bernh.), por meio de detecção de alo de inibição. Foram selecionadas as bactérias gram negativas *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* e gram positiva *Enterococcus faecalis*. As bactérias foram submetidas às concentrações de extrato aquoso de folhas e raízes em concentrações de 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml. Os extratos das folhas apresentaram inibição frente a *Escherichia coli* e *Citrobacter freundii*. O extrato da raiz apresentou inibição frente a *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Frente a *Enterococcus faecalis* não houve inibição em nenhum dos extratos.

Palavras-chave: *Arctium minus*. Atividade antimicrobiana. Plantas medicinais.

Introdução

O uso de plantas medicinais surgiu com as necessidades da evolução, através de tentativas e observações. O homem primitivo dependia exclusivamente dos benefícios da natureza. Atualmente com o avanço da tecnologia, várias plantas veem sendo testadas e sua ação de uso popular vem sendo avaliada (ALMEIDA, 2011).

A *Arctium minus*, tem sua origem no continente Europeu. Popularmente conhecida como bardana, bardana menor, e entre outras. Pertence à família Asteraceae, apresenta como características folhas grandes, flores lilás. Comumente tem o uso popular sendo utilizada na forma de chás das folhas e a raízes da planta (HASSLER, 2015). As folhas apresentam uso popular contra dores reumáticas, febre e insolação. Além disso, apresenta atividade anti-inflamatória, anti-nociceptivas, e sequestradora de radicais (FICHER, 2017). Muitas vezes é considerada como uma planta daninha invasora (CAVALLI, 2007).

A microbiota está presente no ser humano desde o momento do parto, cada parte específica do corpo apresenta uma microbiota adequada para o local (TRABULSKI, ALTERTHUM, 2004). No decorrer de milhares de anos, muitas pessoas morriam por diarreias, febres, ferimentos infectados, entre outras doenças, que são comuns na atualidade, por não haver o tratamento com antimicrobianos. Apesar de os agentes antimicrobianos não conseguirem atuar, salvando todos os pacientes, a presença dos mesmos diminuiu drasticamente as taxas de mortalidade por doenças infecciosas. No entanto, se o controle a resistência microbiana aos antimicrobianos disponíveis não for possível, os agentes patógenos podem voltar a atuar da mesma forma que nos tempos remotos (BLACK, 2013).

O avanço constante da medicina, e a busca por novos tratamentos alternativos, vem buscando aprimoramento e pesquisas em diversas áreas. O uso de plantas medicinais, é comum entre a população. A planta *Arctium minus* é uma planta pouco pesquisada, e apresenta vários poderes terapêuticos relatados pelo uso popular. Seu estudo se faz necessário devido ao pouco conhecimento de suas propriedades terapêuticas. Poucos estudos mostram o teste da atividade antimicrobiana, em especial analisando folhas e raízes juntas.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi realizar a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de folhas e raízes de *Arctium minus*, frente a bactérias *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*.

Material e Métodos

A pesquisa desenvolvida tratou-se de um estudo experimental "*in vitro*".

A planta *Arctium minus* (bardana menor) foi coletada no município de Centenário- RS, no mês de setembro a dezembro de 2018.

A exsicata da *Arctium minus* encontra-se sob nº HPBR 12.290, identificada por Angela Chaves, foi arquivada no Herbário Padre Balduino Rambo, pertencente ao Museu Regional do Alto Uruguai e das Missões- Campus Erechim.

Obtenção do extrato

As folhas passaram por um processo de secagem em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40°C, em seguida trituradas em moinho de facas. Já as raízes foram cortadas em pedaços menores e secas em estufa com circulação de ar à 70°C, após trituradas em moinho de facas.

Os extratos foram preparados a partir das folhas e raízes secas na proporção 1:10 (m/v) com solução hidroetanólica a 70% (v/v), pelo processo de maceração, com renovação do líquido extrator. Para extração, pesou-se 50g das folhas e raízes e deixadas em contato com 450 mL da solução hidroetanólica em recipientes âmbar, separadamente. Os mesmos foram deixados em temperatura ambiente, com agitação ocasional. A filtração e renovação do líquido extrator foi realizada a cada 72 horas, até o esgotamento do material vegetal, somando no total três filtrações.

Após esgotamento do material, os filtrados obtidos foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório, à temperatura de 45°C. Após a eliminação do solvente alcoólico, em placas de petri, colocou-se uma fina camada dos extratos para serem congelados a -80°C e liofilizados até remoção da água residual. Os extratos liofilizados foram pesados obtendo um rendimento de 5,07g da raiz e 6,81g da folha, os quais permaneceram armazenados em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração.

Atividade antimicrobiana

Para análise antimicrobiana, foram utilizadas cepas conhecidas de bactérias gram negativas *Klebsiella pneumoniae* ATCC1031, *Citobacter freundii* ATCC8090 e *Escherichia coli* ATCC25922 e bactéria gram-positiva *Enterococcus faecalis* ATCC29212.

Utilizou-se a técnica de difusão em placas. Foi utilizado meio Ágar Mueller Hinton com discos de papel WalTMann nº3, com 6mm de diâmetro. A cada placa foi conferido um disco controle positivo com antibiótico sensível, respectivo a cada bactéria, controle negativo, contendo água, e disco de WalTMann contendo 5µl de amostras com concentrações de 5mg/ml, 10mg/ml e 20mg/ml.

As bactérias teste foram inoculadas em meio líquido Luria Bertani (LB) por 24 horas a 35°C com a finalidade de crescimento das mesmas. A seguir foram ressuspensas em solução fisiológica 0,9% até obter-se uma turvação equivalente ao padrão 0,5 na escala MacFarland. Com uma alça de inoculação, as bactérias foram distribuídas uniformemente sobre a superfície do ágar. Utilizando pinça esterilizada, os discos com as soluções e os controles, foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas. Os halos de inibição do crescimento foram medidos utilizando régua, considerando o diâmetro do disco. Os testes foram realizados em triplicata.

Resultados

De acordo com o observado na Tabela 1 e 2, o extrato das folhas de bardana menor obteve inibição frente as bactérias *Escherichia coli* e *Citrobacter freudii*. Já o extrato da raiz obteve inibição do crescimento frente a *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela 1: Valores do alo de inibição com extrato de folhas.

Microrganismos	5mg/mL	10mg/mL	20mg/mL	Controle negativo	Controle positivo
<i>Citrobacter freudii</i>	--	--	8mm	--	15mm
<i>Escherichia coli</i>	7mm	8mm	10mm	--	20mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	--	--	--	--	25mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	--	--	--	--	20mm

Tabela 2: Valores de alo de inibição com extrato de raízes.

Microrganismos	5mg/mL	10mg/mL	20mg/mL	Controle negativo	Controle positivo
<i>Citrobacter freudii</i>	--	--	--	--	18mm
<i>Escherichia coli</i>	--	8mm	10mm	--	21mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	--	--	--	--	23mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	--	--	8mm	--	22mm

Para *Citrobacter Freuddi* e *Enterococcus faecalis* utilizou-se como controle positivo Amoxicilina 10mg/mL. Para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, utilizou-se como controle positivo Amicacina 30mg/mL.

Discussão

Pelo que pode ser observado, constata-se que a *Arctium minus* apresenta poder antimicrobiano frente às bactérias gram negativas, não apresentando poder de inibição em bactérias gram positivas.

Pode-se observar nos resultados deste estudo que o extrato das folhas e raízes tiveram melhor efetividade frente ao microrganismo *Escherichia coli*, ainda não estudado por outros autores. Também pôde-se observar que a resposta inibitória parece ser dose dependente.

Não houve crescimento no controle negativo em nenhuma placa, mostrando que a água utilizada para diluir as amostras não interferiu nos resultados do ensaio.

Em estudo realizado por Watkins e colaboradores (2012), foi testado três plantas para atividade antimicrobiana contra bactérias gram positivas e gram negativas e encontraram atividade promissora em todas, incluindo a *Arctium minus* (Hill.) Bernh frente ao

Staphylococcus aureus. Outro estudo realizado por Kenny e equipe (2014) demonstrou atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Centaurea scabiosa*, *Arctium minus*, *Taraxacum officinale*, *Centaurea nigra* e *Cirsium palustre* contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Aureus* resistente à Meticilina (MRSA) e *Bacillus cereus*. Frisher e colaboradores (2018) testaram extrato bruto de sementes de *Arctium minus*, frente a gota em camundongos, apoiando seu uso tradicional, sem causar efeitos adversos. Lubian e seus colaboradores (2010) testaram a atividade antifúngica, obtendo resultado promissor.

Outra planta pertencente ao gênero *Arctium*, a *Arctium lappa*, apresenta numerosos estudos comprovando a sua eficácia. De acordo com Teske e Trentini (1991), tanto na raiz quanto nas folhas da “bardana” da espécie *Arctium lappa* são encontradas várias substâncias com potencial terapêutico. Estudos comparativos entre as espécies de “bardana” (*A. minus* e *A. lappa*) têm evidenciado atividades biológicas variadas, tais como: antibacteriana e antifúngica (TESKE, TRENTINI, 1991), ação diurética (TESKE, TRENTINI, 1991), ação antioxidante (MARUTA, KAWABATA, NIKI., 1995), ação ansiolítica (SBOLLI et al., 1996) e efeito de antiagregação plaquetária (IWAKAMI et al., 1992). Em estudo realizado por Perin et al. (2002) com o extrato aquoso da *A. lappa* L., ficou evidenciado o potencial antimicrobiano contra microrganismos orais específicos e associados com infecções endodônticas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*).

Diferentes autores têm reportado que a relação entre a sensibilidade microbiana aos extratos e a estrutura celular das bactérias não está bem proposta, e não possuem uma regra geral para tais interações. Porém é proposto que uma ação inibitória mais eficiente ou menos eficiente dos extratos sobre as bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas podem ser associadas a peculiaridades da composição dos extratos agindo sobre a composição celular dos microrganismos (DEANS, RITCHIE, 1987; DORMAN, DEANS, 2000).

Conclusões

Com o presente estudo, podemos concluir que os extratos aquosos de folhas e raízes de *Articum minus* (Hill) Bernh. apresentam resultados positivos frente a bactérias gram negativas.

Nenhuma amostra apresentou resultado positivo, frente a bactéria gram positiva.

A maior efetividade antimicrobiana pode ser observada no extrato das folhas de bardana menor frente à bactéria *Escherichia coli*, apresentando relação com a dose.



Novos estudos são necessários para avaliar o seu real potencial antimicrobiano com a realização de concentração inibitória mínima, para delimitar a melhor concentração a ser empregada. Também sugere-se testar frente a outras cepas.

Referências

ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais**. 3. ed. Salvador: EDUFBA, 2011.

BLACK, J. G. **Microbiologia**: fundamentos e perspectivas. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

CAVALLI, V.L. Avaliação in vivo de efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folhas de bardana *Arctium minus*(Hill) Bernh. **Brazilian journal of Pharmacognosy**, Chapecó, 17(1), p. 64-70, jan./mar. 2007.

DEANS, S.G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal off Food Microbiology**, v 4, p. 165-180, 1987.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agentes from plants; antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

FISCHER, S. P. M. *Arctium minus* crude extract presents antinociceptive effect in a mice acute gout attack model. **Inflammopharmacology**, Santa Maria, 26, p 505-519, jun//ago 2017.

HASSLER, F. **Weed Indentification and Control Sheet: Common Burdock (*Arctium minus*)**. 2015. Disponível em: <http://goodoak.com/info/weeds/burdock.pdf>. Acesso em 02 outubro de 2018.

IWAKAMI, S. et al. Platelet activating factor antagonists contained in medical plants lignans and sesquiterpenes. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.40, n.5, p.196- 7, 1992.

KENNY, O.; SMYTH T.J.; WALSH D.; KELLEHER C.T.; HEWAGE C.M.; BRUNTON N.P. Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. **Food Chemistry**, v. 161, p. 79-86, 15 October, 2014.

LUBIAN, C. T. et al. Atividade antifúngica do extrato aquoso de *Arctium minus* (Hell) Bernh(Asteraceae) sob espécies orais de Cândida. **Rev. Bras. P. Med**, Botucantu, v. 12, n. 2, p.157-162, 2010.

MARUTA, Y.; KAWABATA, J.; NIKI, R. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.4, p. 2592-5, 1995.

PERIN, F.M. et al. In vitro antimicrobial of aqueous herbal extracts for Endodontics. **Journal of Dental Research**, v.81, p. 157, 2002.



SBOLLI, K.C. et al. **Estudo Farmacológico da atividade depressora do sistema nervoso central (SNC) do extrato bruto da *Arctium lappa***. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. Livro de Resumos. Florianópolis: Setembro Villimpress, 1996.

TESKE, M.; TRENTINI, M. **Compêndio de fitoterapia**. 2. ed. Curitiba: Herbarium, 1991. 317p.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

WATKINS, F.; PENDRY B.; SANCHEZ-MEDINA A.; CORCORAN O. Antimicrobial assays of three native British plants used in Anglo-Saxon medicine for wound healing formulations in 10th century England. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n .2, p. 408-415, 21 November 2012.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA FRAÇÃO AQUOSA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *ACCA SELLOWIANA* (O. BERG) BURRET

Felipe Goronski¹; Cindy Gicomelli Rigo²; Silvane Souza Roman³; Elisabete Maria Zanin⁴; Juliana Roman⁵; Helissara Silveira Diefenthaler⁵; Neiva Aparecida Grazziotin⁵

¹ Acadêmico do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde, Erechim-RS, E-mail: (felipegoronski@gmail.com)

² Acadêmica do Curso de Farmácia da URI-Erechim.

³ Professora Doutora do Curso de Farmácia da URI-Erechim.

⁴ Professora Doutora do Curso de Ciências Biológicas da URI-Erechim.

⁵ Professora Mestre do Curso de Farmácia da URI-Erechim.

Resumo

Acca sellowiana (O. Berg) Burret, conhecida internacionalmente como *Feijoa sellowiana* é nativa da região sul do Brasil, Paraguai, Argentina e nordeste do Uruguai. Pertence à família Myrtaceae e é popularmente conhecida como goiabeira-do-mato e goiabeira-serrana. No Brasil ocorre com maior frequência em áreas com altitudes superiores a 900 metros e com formação de bosques e matas de araucária, como é o caso dos campos do Sul do Paraná, da Região Serrana Catarinense e do Nordeste do Rio Grande do Sul. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso das folhas de *A. sellowiana*, determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) frente a cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC). As folhas de *Acca sellowiana* foram obtidas em áreas naturais, na primavera de 2018. Uma exsicata da espécie foi identificada por um botânico e depositada no herbário Balduino Rambo da URI Erechim sob o registro: HBPR 12.281. Foram avaliados os micro-organismos *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. A determinação do CIM foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standard* e a determinação da CBM, pela reinoculação das diluições sem crescimento bacteriano do CIM em placas de Petri contendo meio de cultura Mueller-Hinton Ágar. A ausência de crescimento indicou ação bactericida. Os resultados mostraram que o extrato aquoso das folhas de *A. sellowiana* apresentou atividade antimicrobiana frente a *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. O melhor resultado da CIM foi para *Pseudomonas aeruginosa* e da CBM foi para *Staphylococcus aureus*. Já, *E. coli* não foi inibida frente ao extrato nas concentrações estudadas. Conclui-se que *A. sellowiana* apresenta compostos bioativos antibacterianos. Outras frações do extrato serão analisadas. Ressalta-se a importância de pesquisas que avaliem atividade antimicrobiana de produtos naturais no combate à resistência bacteriana.

Palavras-chave: *Acca sellowiana*. Concentração Inibitória Mínima. Concentração Bactericida Mínima.

Introdução

Acca sellowiana (O. Berg) Burret, conhecida internacionalmente como *Feijoa sellowiana* é nativa da região sul do Brasil, Paraguai, Argentina e nordeste do Uruguai. Pertence à família Myrtaceae e é popularmente conhecida como goiabeira-do-mato e goiabeira-serrana.

Apesar de ser nativa do Brasil, o fruto é consumido por populações onde a espécie ocorre naturalmente, sendo muito utilizado por países como Colômbia, Estados Unidos e Nova Zelândia para consumo in natura, na forma de geleias, bebidas, biscoitos e sorvetes (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

Existem cerca de 20 variedades de *Feijoa*, sendo seu arbusto semelhante, tanto na aparência quanto no tamanho do fruto, com uma oliveira. O seu fruto tem uma pele verde lisa e uma polpa macia, de coloração esbranquiçada. E, assim como a goiaba, apresenta um alto teor de vitamina C, poucas calorias, muitas fibras e minerais (DACORREGIO; SCHITTLER; KEMPKA, 2017). Diversos estudos comprovaram as propriedades farmacológicas dos frutos de *A. sellowiana*, principalmente no que se refere às atividades bactericida e antioxidante, assim como a existência de flavonoides, cujas propriedades auxiliam na atividade imunológica, determinando respostas crônicas em processos inflamatórios ou alérgicos (BASILE et al., 2010; ZHU, 2018).

Devido ao uso indiscriminado de medicamentos antimicrobianos, muitos micro-organismos apresentam resistência à maioria dos compostos químicos utilizados pela medicina. Uma alternativa econômica e eficaz é a pesquisa de plantas com propriedades antimicrobianas para a obtenção de novos medicamentos. Há pesquisas com avaliação de extratos vegetais frente a microrganismos patogênicos (DACORREGIO; SCHITTLER; KEMPKA, 2017) que mostram bons resultados.

No presente estudo foram avaliadas bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) e bactérias gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Material e Métodos

As folhas da espécie *Acca sellowiana* utilizadas foram obtidas em áreas naturais, na primavera de 2018. Uma exsicata da espécie foi identificada por um botânico e depositada no herbário Balduino Rambo – HPBR da URI Erechim sob o registro: HBPR 12.281.

O material vegetal (folhas) foi dessecado em estufa de circulação de ar e mantido a temperatura ambiente de 40°C até peso constante. Posteriormente as folhas secas foram trituradas no moinho de facas e misturadas ao álcool absoluto para obtenção do extrato alcoólico. Essa mistura permaneceu em repouso por 72 horas no percolador, foi filtrada e em seguida, rota



evaporada a 55°C sob pressão reduzida até obtenção da solução concentrada, sendo liofilizada sob pressão a -60°C.

O material vegetal foi macerado em temperatura ambiente empregando como solvente solução hidroetanólica até esgotamento do material vegetal. Os extratos resultantes foram filtrados, concentrados sob pressão negativa a 45°C e liofilizados, obtendo-se o extrato bruto. Em seguida, os extratos foram particionados com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol, filtrados e o solvente rotaevaporado, obtendo-se, desta forma, as frações hexânicas, diclorometânica, acetato de etila e butanólica, restando a fração aquosa. O extrato e as frações liofilizados foram estocados em frascos âmbar sob refrigeração para posterior análise. Antes de cada experimento, o extrato foi pesado e redissolvido em água destilada estéril.

A avaliação da atividade antimicrobiana de extrato das folhas de *Acca sellowiana* foi realizada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do crescimento bacteriano pelo método de microdiluição em caldo, proposto pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS, 2003). Já a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Ferreira et al. (2012).

As concentrações finais, após as diluições dos extratos variaram de 25 mg/mL a 0,0976 mg/mL.

Inicialmente com auxílio de uma alça bacteriológica estéril, tocou-se na superfície de 3 a 5 colônias dos micro-organismos e transferiu-se para tubos de ensaio com solução salina estéril, sendo a turbidez ajustada à escala 0,5 de McFarland (OPLUSTIL et al., 2000). As placas foram tampadas e incubadas em estufa a 35°C por 18 a 24 horas. Após o tempo de incubação, realizou-se a leitura das placas. Os poços límpidos representavam a ausência de crescimento bacteriano e os poços turvos indicavam o crescimento bacteriano. A confirmação da ausência de crescimento microbiano foi realizada adicionando-se Resazurina e incubando a 35°C por 2 horas para posterior leitura, onde a coloração azul indicava ausência de crescimento e a coloração rosa ou avermelhada indicava crescimento do micro-organismo. A mudança de coloração azul para rosa é devido à redução da resazurina o que indica o crescimento bacteriano (PALOMINO et al., 2002). O primeiro poço onde o micro-organismo não cresceu correspondeu à Concentração Inibitória Mínima (CIM) para o micro-organismo analisado.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada a partir do CIM. A CBM foi realizada pela reinoculação das diluições sem crescimento bacteriano (cor azul) em placas de Petri contendo meio de cultura Mueller-Hinton Ágar. Após a incubação por 24 horas a 35°C, as placas

foram visualmente inspecionadas quanto à presença ou ausência de crescimento bacteriano. A inibição no teste CIM e o crescimento bacteriano na subcultura indicaram ação bacteriostática, enquanto a ausência de crescimento indicou ação bactericida. A CBM foi considerada a menor concentração do extrato em que não havia crescimento celular na superfície do ágar inoculado.

Resultados

Neste estudo foram testadas concentrações de 25 mg/mL a 0,0976 mg/mL do extrato aquoso, das folhas de *Acca sellowiana* frente a cepas padrão ATCC, apresentando atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Por outro lado, *Escherichia coli* não foi inibida pelos extratos.

A Tabela 1 mostra a CIM e CBM do extrato aquoso de *Acca sellowiana*.

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato aquoso das folhas de *Acca sellowiana* frente aos micro-organismos testados.

Micro-organismos	CIM mg/mL	CBM mg/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	12,5	12,5
<i>Escherichia coli</i>	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,25	12,5
<i>Proteus vulgaris</i>	6,25	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,3906	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,78125	1,5625

CIM: Concentração Inibitória Mínima, CBM: Concentração Bactericida Mínima, –: Não inibiu o crescimento.

Em relação aos micro-organismos Gram-positivos, o extrato aquoso das folhas de *A. sellowiana* apresentou CIM de 0,78125 mg/mL e CBM de 1,5625 mg/mL para *Staphylococcus aureus*, já *Enterococcus faecalis* teve seu crescimento inibido com CIM e CBM iguais a 12,5 mg/mL. Em relação aos micro-organismos Gram-negativos o melhor resultado de CIM foi para *Pseudomonas aeruginosa* (0,3906 mg/mL), seguida por *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus vulgaris* (6,25 mg/mL). *Escherichia coli* não apresentou inibição do crescimento nas concentrações estudadas.

Discussão

De acordo com Fabry et al. (1998) extratos com CIM abaixo de 8 mg/mL já são considerados ativos, porém, segundo Gibbons (2004), aqueles que apresentam CIM menor que 1 mg/mL possuem grande relevância como antimicrobianos. Assim as frações dos extratos de *Acca sellowiana* avaliadas neste estudo podem ser consideradas ativas para a maioria dos micro-organismos analisados. Potencial atividade antimicrobiana do extrato foi demonstrada para micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos.

Para Mosbah et al. (2018) os extratos das folhas de *Acca sellowiana* apresentaram atividades antimicrobianas e antifúngicas, com CIM variando de 0,39 a 1,56 mg/mL para as bactérias avaliadas. Resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo onde o CIM variou de 0,3906 a 12,5 mg/mL, exceto para *Escherichia coli* que não foi inibida pelo extrato. Diferenças no comportamento da ação antimicrobiana do extrato podem estar relacionadas à composição da fração estudada, tendo em vista que os compostos não foram isolados, portanto, efeitos sinérgicos também devem ser levados em consideração.

Os melhores resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi para *Pseudomonas aeruginosa* e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi para *Staphylococcus aureus*. Já, *Escherichia coli* não foi inibida frente ao extrato nas concentrações estudadas.

Sabe-se que *Acca sellowiana* contém grandes quantidades de compostos que contribuem para a sua atividade antimicrobiana, como polifenóis, flavonoides e taninos (BASILE et al., 2010; ZHU, 2018). Na prospecção fitoquímica dos extratos foi evidenciado a presença de alguns metabólitos secundários como taninos, flavonoides, alcaloides e compostos antracênicos livres. Um estudo mais aprofundado da fração utilizada comprovou a presença de compostos da classe dos flavonoides, de compostos antracênicos livres e taninos hidrolisáveis.

Diversas atividades terapêuticas podem ser atribuídas à presença desses compostos, como por exemplo para os flavonoides, que apresentam atividades antivirais, antifúngicas e antibacterianas (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTI, 2017). Taninos formam complexos com proteínas, sendo esta a base para as propriedades contra fungos e bactérias. Testes *in vitro* constatarem atividades farmacológicas com ações bactericida, fungicida, antiviral e cicatrizante (MELLO; SANTOS, 2017).



Conclusões

O extrato aquoso das folhas de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret, apresentou atividade antimicrobiana frente aos micro-organismos *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, entretanto, não apresentou atividade antibacteriana frente a *Escherichia coli* nas concentrações estudadas.

Os resultados mostram que *A. sellowiana* apresenta compostos bioativos antibacterianos. Outras frações do extrato serão analisadas. Ressalta-se a importância de pesquisas que avaliem atividade antimicrobiana de produtos naturais no combate à resistência bacteriana.

Agradecimentos

PIIC/URI

Referências

BASILE, A.; CONTE, B.; RIGANO, D.; SENATORE F.; SORBO, S. Antibacterial and Antifungal Properties of Acetonic Extract of Feijoa sellowiana Fruits and Its Effect on Helicobacter pylori Growth. **Journal of Medicinal Food.**, v. 13, p. 189-195, 2010.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial:** plantas para o futuro – Região Sul. Brasília: MMA, p. 111-129, 2011.

DACORREGIO, M. V.; SCHITTLER, L.; KEMPKA, A. P. **Atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos da flor e folha de Feijoa sellowiana.** 2017. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/ceo/id_cpmenu/778/29__Mestrado__Aniela_Pinto_Kempka__Marina_Dacoreggio__SM_15190628655001_778.pdf. Acesso em: 21 set. 2019.

FABRY, W.; OKEMO, P. O.; ANSORG, R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 79-84, 1998.

FERREIRA et al. Antibacterial activity tannin-rich fraction from leaves of Anacardium humile. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 10, p. 1861-1864, out. 2012.

GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Natural Product Reports**. v. 21, p. 263-277, 2004.

MELLO, J. C. P. de; SANTOS, S. da C. Taninos In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed. p. 235-248, 2017.



MOSBAH, H.; LOUATI, H.; BOUJBIHA, M. A.; CHAHDOURA, H.; SNOUSSI, M.; FLAMINI, G.; ASCRIZZI, R.; BOUSLEMA, A.; ACHOUR, L.; SELMI, B. Phytochemical characterization, antioxidant, antimicrobial and pharmacological activities of *Feijoa sellowiana* leaves growing in Tunisia. **Industrial Crops & Products**, v. 112, p. 521-531, 2018.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**, Approved Standard – Sixth Edition. NCCLS document M7-A6, v. 23, n. 2, Wayne, Pennsylvania, USA, 2003.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2000. 254 p.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and unexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobiol agentes and chemotherapy**, v. 46, p. 2720-2722, 2002.

ZHU, F. Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 121-131, 2018.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.; ZUCOLOTTO, S. M. Flavonoides In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed. p. 209-233, 2017.

EFEITOS DOS ÁCIDOS 4-HIDROXIFENILPIRÚVICO, 4-HIDROXIFENILÁTICO E 4-HIDROXIFENILACÉTICO SOBRE PARÂMETROS RESPIRATÓRIOS MITOCONDRIAIS EM CÉREBRO E FIGADO DE RATOS

Ângela Beatris Zemniaçak¹; Fabiana Andrighi²; Paola Gallina Toldo³; Eduarda Carolina Balena Schinaider⁴; Fernanda Dal'Maso Camera⁵; Alexandre Umpierrez Amaral⁶

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde, angelzemn@gmail.com.

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

³ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁴ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁵ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁶ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências Biológicas.

Resumo

Tirosinemia tipo III é uma doença autossômica recessiva causada pela deficiência da 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase, cujos pacientes apresentam atraso no desenvolvimento neurológico e intelectual. Além disso, esses pacientes caracterizam-se bioquimicamente por acúmulo significativo de tirosina em plasma, além do aumento de excreção urinária dos metabólitos da tirosina ácido 4-hidroxifenilpirúvico (HPP), ácido 4-hidroxifenilático (HPL) e ácido 4-hidroxifenilacético (HPA). Embora as características clínicas e bioquímicas sejam bem caracterizadas, a fisiopatologia da tirosinemia tipo III ainda não está completamente esclarecida. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos *in vitro* do HPP, HPA e HPL sobre a homeostase bioenergética mitocondrial em ratos de 30 dias de vida. Os parâmetros avaliados foram o estado 4 (estimulado por oligomicina), estado 3 (estimulado por ADP) e estado desacoplado (estimulado por CCCP) da respiração mitocondrial, bem como a razão de controle respiratório (RCR), medidos pelo consumo de oxigênio, utilizando substratos ligados ao NADH (glutamato, malato e piruvato) em homogeneizado obtido de cérebro e fígado. Observou-se que o HPL e o HPA não foram capazes de alterar os parâmetros respiratórios analisados em qualquer das condições testadas, indicando que não comprometem a bioenergética mitocondrial no cérebro e no fígado. No entanto, foi observado que o HPP foi capaz de aumentar o estado 4 e o estado 3, além de reduzir o RCR em homogeneizado de fígado, mas não em cérebro, especialmente quando utilizado glutamato mais malato como substratos. Analisando os dados em conjunto, conclui-se que a não observação de qualquer prejuízo causado pelos HPP, HPL e HPA sobre a bioenergética cerebral indica que uma disfunção energética causada por esses metabólitos não contribui para as alterações neurológicas apresentadas pelos pacientes com a tirosinemia tipo III. Por outro lado, acredita-se que uma disfunção mitocondrial provocada pelo HPP no fígado possa estar envolvida em alterações hepáticas características de outras doenças do metabolismo da tirosina em que esse metabólito se acumula.

Palavras-chave: Tirosinemia tipo III. Parâmetros respiratórios. Ácido 4-hidroxifenilpirúvico.

Introdução

A tirosinemia tipo III é uma doença autossômica recessiva causada pela deficiência da 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase, a segunda enzima do catabolismo da tirosina (CHAKRAPANI et al., 2012; SCOTT, 2006). Os pacientes acometidos por essa doença são bioquimicamente caracterizados por acúmulo significativo de tirosina em plasma podendo alcançar 2 mM e aumento de excreção urinária dos metabólitos da tirosina ácido 4-hidroxifenilpirúvico (HPP), ácido 4-hidroxifenilático (HPL) e ácido 4-hidroxifenilacético (HPA), levando a atraso no desenvolvimento neurológico e intelectual (SCOTT, 2006; MITCHELL et al., 2001).

No que diz respeito aos mecanismos fisiopatogênicos responsáveis pela sintomatologia neurológica característica dos pacientes com tirosinemia tipo III, estudos recentes demonstraram que a tirosina *in vitro* e *in vivo* alterou a atividade de enzimas importantes do metabolismo energético cerebral, incluindo a creatina quinase, complexos da cadeia transportadora de elétrons e enzimas do ciclo de Krebs (DE ANDRADE et al., 2012; RAMOS et al., 2013; FERREIRA et al., 2015). No entanto, apesar desses estudos apontarem para um efeito tóxico da tirosina sobre a bioenergética cerebral, a fisiopatologia das doenças do metabolismo da tirosina, incluindo a tirosinemia tipo III, ainda não está completamente esclarecida. Além disso, os metabólitos da tirosina HPP, HPL e HPA, que também se acumulam nessa doença, podem desempenhar um papel importante na sintomatologia apresentada pelos pacientes e praticamente não foram estudados.

Sendo assim, considerando que o cérebro é um tecido extremamente susceptível a um prejuízo na produção de ATP pelo metabolismo aeróbico, o objetivo desse trabalho é investigar possíveis mecanismos de toxicidade dos HPP, HPL e HPA sobre a bioenergética mitocondrial e a relação do acúmulo desses compostos nos líquidos biológicos dos pacientes com os sintomas neurológicos que podem se manifestar na doença.

Material e Métodos

A amostra foi composta de 12 ratos machos Wistar com 30 dias de idade, sendo oriundos do Laboratório de Experimentação Animal da URI – Campus Erechim. Cada N de quatro animais foi necessário para avaliar os parâmetros respiratórios propostos em quatro grupos experimentais (controle, 2 mM HPP, 2 mM HPA e 2 mM HPL) em cérebro e fígado para um

dos substratos respiratórios proposto. Enfatiza-se que o cérebro e o fígado foram removidos do mesmo animal, sendo que o tecido hepático foi utilizado para estabelecer uma comparação com os resultados obtidos no tecido cerebral. O grupo controle foi realizado na ausência dos metabólitos.

Os animais foram mortos por decapitação com anestesia prévia (Zoletil50) e o córtex cerebral e fígado foram homogeneizados em tampão específico (pH 7,4) e o homogeneizado utilizado para a avaliação dos parâmetros respiratórios (MAKRECKA-KUBA et al., 2015).

A taxa de consumo de oxigênio foi medida como previamente descrito (AMARAL et al., 2010), utilizando glutamato/malato (2,5 mM cada) ou piruvato/malato (2,5 mM cada) como substratos respiratórios, a 37°C. O HPP, o HPL e o HPA (2,0 mM) foram adicionados ao meio de reação no início do ensaio. Os homogeneizados obtido de córtex cerebral e fígado (4 mg tecido . mL⁻¹) foram incubados em tampão específico (pH 7,4). O estado 3 da respiração mitocondrial foi iniciado pela adição de 500 uM ADP. Após a estabilização do consumo de oxigênio, adicionou-se ao meio de incubação 1 µg. mL⁻¹ de oligomicina A para induzir o estado 4 da respiração mitocondrial. Por fim, o estado desacoplado foi induzido pela adição de 2 uM CCCP (desacoplador). A razão de controle respiratório (RCR) foi calculada pela razão entre os estados 3 e 4. Os resultados dos estados 3, 4 e desacoplado da respiração celular foram finalmente expressos em nmol de O₂ consumido. min⁻¹. mg de proteína⁻¹

As proteínas foram determinadas pelo método do Biureto (GORNALL, et al., 1949) utilizando-se albumina bovina como padrão.

A análise estatística utilizada foi por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste *post-hoc* de Tukey e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. As análises estatísticas foram feitas em um computador PC compatível pelo programa GraphPadPrism 5.0. Foram consideradas diferenças significativas quando o $P < 0.05$.

Resultados

As figuras 1 e 2 demonstram os efeitos do HPP, HPL e HPA sobre parâmetros respiratórios utilizando glutamato/malato e piruvato/malato, respectivamente, como substratos em homogeneizado de cérebro de ratos jovens. Observou-se que os ácidos orgânicos testados não foram capazes de alterar significativamente o estado 4 (A), o estado 3 (B) e o estado desacoplado (C) da respiração mitocondrial, nem o RCR (D).

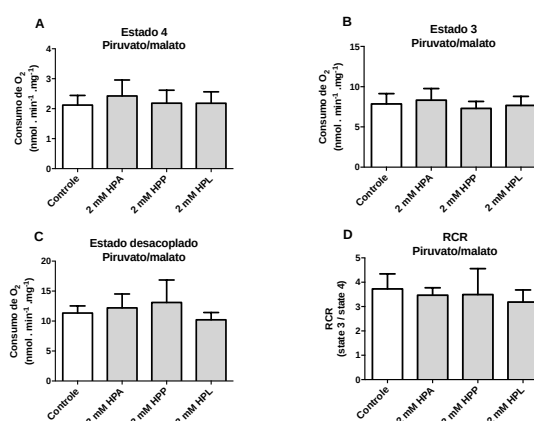
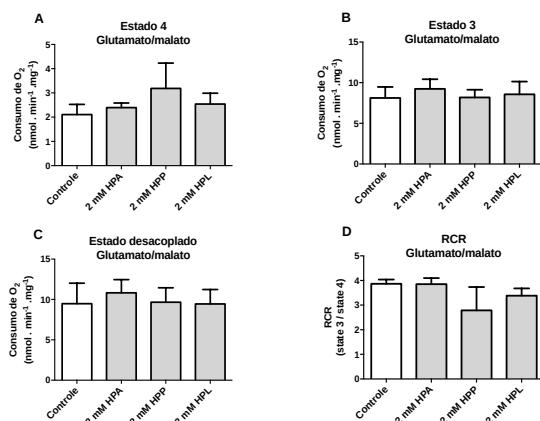


Figura 1. Efeitos *in vitro* do HPP, HPL e HPA sobre os parâmetros respiratórios medidos através do consumo de oxigênio estado 4 (estimulado por oligomicina) (A), estado 3 (estimulado por ADP) (B), estado desacoplado (estimulado por CCCP) (C) e a razão do controle respiratório (RCR) (D) em homogeneizado de cérebro de ratos utilizando glutamato/malato como substrato.

Figura 2. Efeitos *in vitro* do HPP, HPL e HPA sobre os parâmetros respiratórios medidos através do consumo de oxigênio estado 4 (estimulado por oligomicina) (A), estado 3 (estimulado por ADP) (B), estado desacoplado (estimulado por CCCP) (C) e a razão do controle respiratório (RCR) (D) em homogeneizado de cérebro de ratos utilizando piruvato/malato como substrato.

Nas figuras 3 e 4 estão apresentados os efeitos do HPP, HPL e HPA sobre parâmetros respiratórios utilizando glutamato/malato e piruvato/malato, respectivamente, como substratos em homogeneizado de fígado de ratos jovens. Verificou-se que os ácidos orgânicos HPL e HPA não foram capazes de alterar significativamente os parâmetros respiratórios avaliados. No entanto, o HPP foi capaz de aumentar significativamente o consumo de oxigênio tanto do estado 4 (A), estado 3 (B), além de reduzir o RCR (D), utilizando glutamato/mlato (Estado 4: $F_{(3,12)}=29.51$, $P<0,001$; Estado 3: $F_{(3,12)}=15.19$, $P<0,001$; RCR: : $F_{(3,12)}=6.025$, $P<0,01$) ou piruvato/malato como substratos (Estado 4: $F_{(3,12)}=13,5$, $P<0,001$; Estado 3: $F_{(3,12)}=8.817$, $P<0,01$).

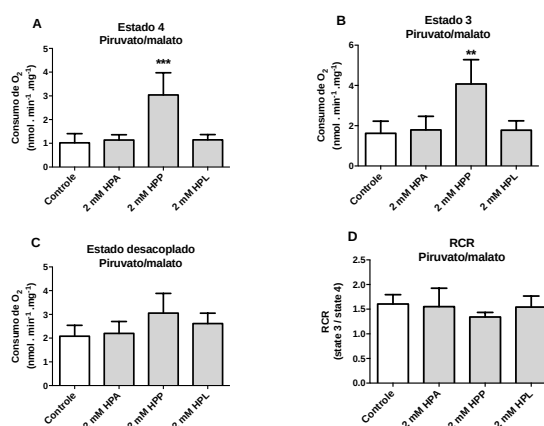
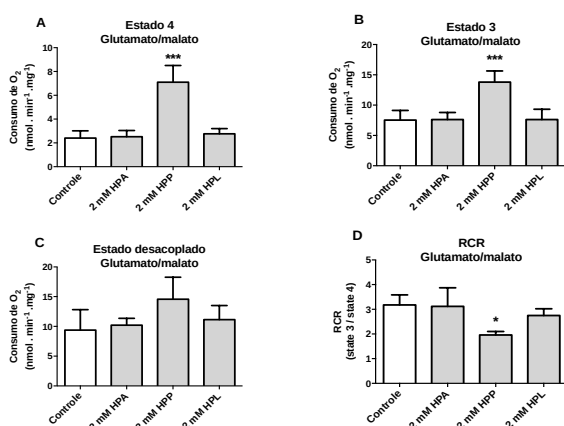




Figura 3. Efeitos *in vitro* do HPP, HPL e HPA sobre os parâmetros respiratórios medidos através do consumo de oxigênio estado 4 (estimulado por oligomicina) (A), estado 3 (estimulado por ADP) (B), estado desacoplado (estimulado por CCCP) (C) e a razão do controle respiratório (RCR) (D) em homogeneizado de fígado de ratos utilizando glutamato/malato como substrato. (* $P < 0,05$; *** $P < 0,001$, comparados ao controle).

Figura 4. Efeitos *in vitro* do HPP, HPL e HPA sobre os parâmetros respiratórios medidos através do consumo de oxigênio estado 4 (estimulado por oligomicina) (A), estado 3 (estimulado por ADP) (B), estado desacoplado (estimulado por CCCP) (C) e a razão do controle respiratório (RCR) (D) em homogeneizado de fígado de ratos utilizando piruvato/malato como substrato (** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$, comparados ao controle).

Discussão

Os pacientes com a tirosinemia tipo III são caracterizados bioquimicamente por alta excreção urinária do HPP, HPL e HPA (MITCHELL et al., 2001), apresentando predominantemente sintomatologia neurológica, como atraso no desenvolvimento ou retardo mental, déficit de atenção e distúrbios comportamentais, ataxia aguda, tremor, hipotonia e ausência de reflexos tendinosos profundos (ELLAWAY et al., 2001), cujos mecanismos fisiopatogênicos ainda são desconhecidos. Neste particular, o presente estudo observou que os HPL e HPA não foram capazes de alterar os parâmetros respiratórios medidos através consumo de oxigênio em homogeneizado de cérebro e fígado, tanto quando utilizado glutamato/malato ou piruvato/malato como substratos respiratórios. No entanto, foi possível observar que o HPP aumentou significativamente os estados 4 e 3 da respiração mitocondrial em homogeneizado de fígado, além de reduzir significativamente o RCR, principalmente quando utilizado glutamato/malato e piruvato/malato, embora não tenha provocado alterações em cérebro. Esses resultados indicam que o HPP foi capaz de aumentar a oxidação de substratos ligados ao NADH, alterando a bioenergética mitocondrial hepática e comprometendo o acoplamento da produção de ATP, observado especialmente pela redução no RCR.

A fosforilação do ADP através da ATP sintase é condicionada por dois fatores: a disponibilidade de ADP e a formação do gradiente eletroquímico (NELSON et al, 2014). A forte redução no RCR causada pelo HPP resultará num comprometimento da formação do gradiente eletroquímico que é a fonte energética para a síntese do ATP. A partir dos resultados obtidos, não é possível determinar o mecanismo exato das alterações respiratórias provocada pelo HPP, uma vez que esse ácido orgânico provocou efeitos expressivos utilizando substratos respiratórios variados. Além disso, destaca-se que o HPP provocou efeitos seletivos ao tecido hepático, sem comprometer a homeostase energética cerebral, indicando uma seletividade tecidual de efeito.



Conclusões

No caso de extrapolar os resultados para uma condição *in vivo*, pode-se presumir que os metabólitos da tirosina HPP, HPA e HPL não foram capazes de comprometer a bioenergética mitocondrial cerebral, podendo-se concluir que uma disfunção energética causada por esses metabólitos não contribui para as alterações neurológicas apresentadas pelos pacientes com a tirosinemia tipo III. Neste contexto, os resultados obtidos apontam que a tirosina seja o composto mais tóxico para o tecido cerebral, em comparação a seus metabólitos, especialmente no que diz respeito a um comprometimento de funções mitocondriais, como já previamente publicado (DE ANDRADE et al., 2011; DE ANDRADE et al., 2012). Por outro lado, as alterações provocadas pelo HPP sobre a homeostase energética hepática, observada por alterações de parâmetros respiratórios mitocondriais com diferentes substratos, pode comprometer a formação do potencial de membrana mitocondrial e resultar num prejuízo para a produção de ATP da célula, condição que é associada à indução de mecanismos de morte celular (GRIVICICH et al, 2007). Dessa forma, acredita-se que uma disfunção mitocondrial provocada pelo HPP no fígado pode estar envolvida com as alterações hepáticas que acometem pacientes com outras doenças do metabolismo da tirosina, como a tirosinemia tipo I.

Referências

- AMARAL, A.U. et al. Alpha-Ketoisocaproic Acid and Leucine Provoke Mitochondrial Bioenergetic Dysfunction in Rat Brain. **Brain Research**, v. 1324, p. 75-84, 2010.
- CHAKRAPANI, A.; GISSEN, P.; MCKIERNAN, P. Disorders of Tyrosine Metabolism. **Inborn Metabolic Disorder**. Springer, v.5, p. 265–276, 2012.
- DE ANDRADE, R. B. et al. Tyrosine Inhibits Creatine Kinase Activity in Cerebral Cortex of Young Rats. **Metabolic Brain Diseases**, v. 26, n. 3, p. 221-227, 2011.
- DE ANDRADE, R. B. et al. Tyrosine Impairs Enzymes of Energy Metabolism in Cerebral Cortex of Rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 364, n. 1-2, p. 253-261, 2012.
- ELLAWAY, C. J. et al. Outcome of Tyrosinaemia Type III. **Journal of Inherited Metabolic Diseases**, v. 24, p. 824-832, 2001.
- FERREIRA, G. K. et al. The Characterization of Neuroenergetic Effects of Chronic L-tyrosine Administration in Young Rats: Evidence for Striatal Susceptibility. **Metabolic Brain Diseases**, v. 30, n. 1, p. 215-221, 2015.



GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of Serum Proteins by Means of the Biuret Reaction. **Journal of Biological Chemistry**. v. 177, p. 751-766, 1949.

GRIVICICH, I., REGNER A., ROCHA, A. B. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

MAKRECKA-KUBA, M.; KRUMSCNABEL, G.; GNAIGER, E. High-Resolution Respirometry for Simultaneous Measurement of Oxygen and Hydrogen Peroxide Fluxes in Permeabilized Cells, Tissue Homogenate and Isolated Mitochondria. **Biomolecules**. v. 5, p. 1319-1338, 2015.

MITCHELL, G. A. et al. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). **The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**. McGraw-Hill, New York, p. 1977-1982, 2001.

NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298 p.

RAMOS, A. C. et al. Acute administration of l-tyrosine alters energetic metabolism of hippocampus and striatum of infant rats. **International Journal Developmental Neuroscience**, v. 31, n. 5, p. 303-307, 2013.

SCOTT, C. R. The genetic Tyrosinemias. **American Journal of Medical Genetics**. Part C, 142C, p. 121-126, 2006.



CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *ACCA SELLOWIANA* (O. BERG) BURRET

Cindy Giacomelli Rigo¹; Elisabete Maria Zanin²; Juliana Roman³; Silvane Souza Roman⁴; Helissara Diefenthaler⁵; Felipe Goronski⁶

¹ Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Câmpus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde, Erechim-RS. E-mail: cindygrigo@hotmail.com

² Professora Doutora do Curso de Ciências Biológicas – URI Erechim

³ Professora Mestre do Curso de Farmácia – URI Erechim

⁴ Professora Doutora do Curso de Farmácia – URI Erechim

⁵ Professora Mestre do Curso de Farmácia – URI Erechim

⁶ Acadêmico do Curso de Farmácia – URI Erechim

Resumo

Diversas plantas nativas brasileiras são usadas sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança, portanto, pesquisas científicas tem se tornado cada vez mais relevantes. Uma das espécies nativas da região Sul do Brasil é a Goiabeira-Serrana (*Acca sellowiana*), pertencente à família Myrtaceae. Estudos científicos mostram atividade antibacteriana, antifúngica, antioxidante e anti-inflamatória de extratos de suas folhas e frutos, além da presença de flavonoides, taninos, antraquinonas e terpenos. Este trabalho teve como objetivo realizar um estudo preliminar fitoquímico das classes de metabólitos secundários das frações aquosa (FA), hexânica (FH) e butanólica (FB) obtidas a partir do extrato bruto das folhas de *A. sellowiana*. As folhas de *A. sellowiana* foram coletadas de plantas cultivadas em Mato Castelhano (RS) e identificadas com o uso de chaves dicotômicas. Para a obtenção do extrato, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar e as folhas secas foram trituradas. Os compostos foram extraídos por maceração. O filtrado foi levado ao evaporador rotativo, congelado e liofilizado. Para o fracionamento, o extrato bruto das folhas de *A. Sellowiana* foi submetido à solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, n-butanol e acetato de etila), resultando nas frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), butanólica (FB), acetato de etila (FAE) e a aquosa (FA). O rendimento das frações foi de 5,365 gramas (FH), 0,451 gramas (FD), 1,174 gramas (FAE), 8,036 gramas (FB) e 25,162 gramas (FA). As reações de identificação da presença de alcaloides, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, taninos (condensados e hidrolisáveis), glicosídeos cardiotônicos e saponinas foram realizadas na FA, FH e FB utilizando reagentes específicos para cada metabólito. Revelaram-se presentes alcaloides, flavonoides, antraquinonas e taninos totais, sendo que a fração butanólica destacou-se por apresentar intensa presença dos flavonoides, concluindo que o extrato bruto e as frações obtidas a partir das folhas de *A. sellowiana* apresentam compostos de grande interesse que podem ser isolados, identificados e testados por meio de ensaios biológicos.

Palavras-chave: *Acca sellowiana*. Fracionamento. Caracterização Fitoquímica.

Introdução

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma antiga forma de prática medicinal da humanidade (MOTTA et al., 2013). O Brasil é exemplo



de riqueza de biodiversidade, entretanto, é enorme a lacuna entre a oferta de plantas e as poucas pesquisas.

A busca por novos compostos isolados de plantas que possuem atividade biológica é uma importante área de pesquisa nos dias atuais pois, muitos deles, constituem modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Nesse desafio de buscar novos compostos, o Brasil apresenta um papel relevante, pois se estima que cerca de 20% da biodiversidade de plantas do planeta esteja em solo brasileiro (GARCEZ et al., 2018). Na região Sul do Brasil existem várias espécies frutíferas nativas com potencial de uso, como a Goiabeira-Serrana (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret), pertencente à família Myrtaceae. Os frutos e as folhas de *A. sellowiana* contém flavonoides (IELPO et al., 2000), taninos e terpenos (RUBERTO; TRINGALI, 2004). Os extratos das folhas, frutos e ramos da *A. sellowiana* apresentam atividade antibacteriana (DO AMARANTE; DOS SANTOS, 2015), antifúngica (MOSBAH et al., 2017) e potencial anti-inflamatório (ZHU, 2018). Além disso, seus frutos apresentam atividade antialérgica e antioxidante (ZHU, 2018).

Diante das propriedades medicinais desta espécie, este trabalho teve como objetivo realizar um estudo preliminar fitoquímico das classes de metabólitos secundários das frações aquosa (FA), hexânica (FH) e butanólico (FB) obtidas a partir do extrato bruto das folhas de *A. sellowiana*.

Material e Métodos

Coleta e identificação do material vegetal

As folhas de *A. sellowiana* foram coletadas de plantas cultivadas em Mato Castelhano (RS) no período da primavera. A planta foi identificada com o uso de chaves dicotômicas e um espécime da coleção original foi depositado no Herbário Balduino Rambo da URI Erechim, sob registro: HPBR 12.281. O projeto está cadastrado no SISGEN sob número: AAF5EEC

Preparo do extrato das folhas

Para a obtenção do extrato, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar e mantido a temperatura de 40°C até peso constante. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas e o método de maceração (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010) foi o escolhido para a extração dos compostos, na proporção 1:10 (m/v), utilizando-se como solvente a solução etanol:



água (70:30, v/v). O filtrado foi levado ao evaporador rotativo, sob pressão reduzida à temperatura de 55°C até eliminação total da fração orgânica do líquido extrator, em seguida, foi congelado a -80°C e após, liofilizado, resultando no extrato bruto seco, que foi armazenado em frasco de vidro e sob refrigeração ($\pm 8^{\circ}\text{C}$).

Obtenção das frações

Para o fracionamento foi utilizada a técnica de partição líquido/líquido, que explora a imiscibilidade de alguns solventes orgânicos com água. Para isso, utiliza-se o funil de separação. O extrato bruto das folhas de *A. sellowiana* foi submetido ao particionamento com solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, n-butanol e acetato de etila), que resultou em 5 frações: as frações hexânicas (FH), diclorometânica (FD), acetato de etila (FAE), butanólica (FB) e a aquosa (FA). As frações dos solventes foram rotaevaporadas separadamente, congeladas a -80° e liofilizadas. Todo o processo foi realizado em duplicata, sendo que o primeiro fracionamento foi realizado a partir de 20g do extrato bruto e o segundo, a partir de 25 gramas. O rendimento das frações, a partir de 45 gramas do extrato bruto, foi de 5,365 gramas (FH), 0,451 gramas (FD), 1,174 gramas (FAE), 8,036 gramas (FB) e 25,162 gramas (FA).

Caracterização fitoquímica

Para a identificação dos metabólitos secundários alcaloides, flavonoides, glicosídeos de núcleo cumarina, compostos antracênicos livres, taninos, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, glicosídeos cardiotônicos e saponinas, foram realizados testes com diferentes reagentes específicos para cada metabólito. A metodologia utilizada para a detecção dos grupos de metabólitos secundários foi proposta por Vishwakarma et al. (2014) e Silva e Lima (2016).

A identificação dos alcaloides foi realizada por meio dos reativos de Dragendorff (iodo bismutato de potássio) e de Wagner (iodo iodeto de potássio). Para a detecção dos flavonoides foi realizada a reação de Shinoda. Para a identificação das cumarinas foi realizado o teste de fluorescência utilizando solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH). A reação de Borntrager foi realizada para a detecção dos compostos antracênicos livres. Para a identificação de taninos foram realizadas reações com o metal pesado acetato de chumbo e com cloreto férrico. As reações de Keller-Kiliani e de Pesez foram utilizadas para a detecção dos glicosídeos cardiotônicos. A



identificação das saponinas foi realizada pelo método da agitação, onde a formação ou não de espuma persistente foi observada.

Resultados

Os testes fitoquímicos revelam a presença ou não do metabólito a partir de desenvolvimento de coloração específica ou por formação de precipitado ou turvação a partir de reativos específicos para cada teste (SILVA, A.; LIMA, R., 2016).

As reações gerais para alcaloides baseiam-se na formação de complexos insolúveis (precipitados) a turvações. Nas reações de identificação de alcaloides, as frações FH e FB desenvolveram formação de precipitado alaranjado na reação de Dragendorff e formação de precipitado marrom escuro na reação de Wagner, revelando a presença dos alcaloides. Na identificação dos flavonoides, as FA, FH e FB revelaram elevada presença de flavonoides, tendo em vista que desenvolveram coloração vermelha intensa na reação de Shinoda. Outro metabólito secundário que se revelou presente nas frações foram os compostos antracênicos livres, também chamado de antraquinonas, que, por meio da Reação de Borntrager desenvolveram coloração vermelha, confirmando sua presença. Por meio da reação com o acetato de chumbo, determinou-se a presença dos taninos totais, reação esta, que resultou em formação de precipitado nas frações, revelando a presença dos taninos. Para identificar se tais taninos presentes são hidrolisáveis ou condensados, realizou-se o teste com cloreto férrico. O desenvolvimento de coloração azul, verde e cinza corresponde, respectivamente, à presença de taninos hidrolisáveis, taninos condensados e presença de ambos. As frações FA e FB revelaram presença de taninos hidrolisáveis, diferentemente da fração FB que revelou taninos condensados.

Sendo assim, com base nos resultados citados, é relevante ressaltar que tanto a fração FH quanto a FB revelaram a presença dos metabólitos alcaloides, flavonoides, antraquinonas e taninos totais, sendo que a FB destacou-se por apresentar intensa presença dos flavonoides. Como metabólitos secundários ausentes no extrato bruto e nas frações estão as cumarinas, saponinas e glicosídeos cardiotônicos. Os resultados da identificação dos metabólitos secundários estão resumidos na tabela 01.

Tabela 01. Identificação dos metabólitos secundários das frações das folhas de *A. sellowiana*.

Amostras/Metabólitos secundários	FA	FH	FB
Alcaloides	-	+	+
Flavonoides	+/-	+	++
Cumarinas	-	-	-
Antraquinonas	+	+	+
Taninos	+	+	+
Glicosídeos cardiotônicos	-	-	-
Saponinas	-	-	-

Nota: (-): não identificado, (+/-): pouco, (+): intenso, (++): muito intenso. Onde: FA: fração aquosa; FH: fração hexânica; FB: fração butanólica.

Discussão

Em organismos vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em metabolismo primário e metabolismo secundário. O metabolismo primário é o processo metabólico que possui funções essenciais no vegetal, como a fotossíntese e a respiração, sendo esses metabólitos encontrados em todas as espécies vegetais (DEMAIN; FANG, 2000). Já, os metabólitos obtidos do metabolismo secundário possuem funções mais específicas e são provenientes de milhões de anos de evolução dos vegetais, por isso não são encontrados igualmente em todas as espécies vegetais. Esses metabólitos são utilizados pelas plantas para proteção contra microrganismos, insetos, herbívoros e plantas concorrentes; e também possuem a ação de proteção contra estresse abióticos, como mudanças de temperatura, exposição à radiação UV, entre outros. (SCHÄFER; WINK, 2009, ZAYNAB et al., 2018). Além disso, esses metabólitos são muito utilizados pelo homem, principalmente como medicamentos, drogas relaxantes, aromatizantes, corantes e no desenvolvimento de novos fármacos (KABERA et al., 2014).

Segundo Morais (2009), a produção de metabólitos secundários pela planta ocorre em função das interações planta/microrganismos, planta/insetos e planta/planta; idade e estágio de



desenvolvimento, luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época, horário de coleta e técnicas de colheita e pós-colheita.

Os alcaloides, identificados nas amostras, têm como principais funções nos vegetais a proteção contra viroses, bacterioses, infecções fúngicas, herbívora. Alguns exemplos de alcaloides são a nicotina, cafeína, cocaína e berberina. Os flavonoides são caracterizados por sua capacidade antioxidativa, anti-inflamatória, efeito vasodilatador, ação antialérgica, atividade contra o desenvolvimento de tumores, anti-hepatotóxica, antiulcerogênica, atuação antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais (LOPES, R. et al.). Ainda, estudos demonstram atividade anticancerígena (DO AMARANTE, 2015). Alguns exemplos de flavonoides são a quercetina, rutina, hesperidina, cianidina. As antraquinonas são empregadas terapeuticamente como laxativos e catárticos por agirem irritando o intestino grosso, aumentando a motilidade intestinal e, consequentemente, diminuindo a reabsorção de água. Os taninos, ao precipitarem proteínas, propiciam um efeito antimicrobiano e antifúngico. Pesquisas apontam sua ação como anti-inflamatórios, cicatrizantes e mostram associação com atividade anticarcinogênicas (MONTEIRO, J., 2005).

Conclusões

Por meio da extração líquido-líquido sequencial foi possível obter as frações aquosa (FA), hexânica (FH), diclorometânica (FD), butanólica (FB) e acetato de etila (FAE) a partir do extrato bruto das folhas de *A. sellowiana*. Na detecção dos metabólitos secundários realizada nas frações FA, FH e FB, revelaram-se presentes alcaloides, flavonoides, antraquinonas e taninos em geral (condensados e hidrolisados), sendo que a fração butanólica destacou-se por apresentar intensa presença dos flavonoides. Com isso, podemos constatar que as frações obtidas com folhas de *A. sellowiana* apresentam compostos de grande interesse na medicina tradicional que podem ser isolados, identificados e testados por meio de ensaios biológicos.

Agradecimentos

CNPq.



Referências

- DEMAIN, A. L.; FANG, A. The natural functions of secondary metabolites. In: (Ed.). **History of modern biotechnology I**: Springer, 2000. p. 1-39.
- DO AMARANTE, C. V. T.; DOS SANTOS, K. L. Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). **Revista brasileira de fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 001-334, jan. 2015.
- GARCEZ, F. R. et al. A Diversidade dos constituintes químicos da flora de Mato Grosso do Sul e sua relevância como fonte de substâncias bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 97-129, 2016.
- IELPO, M. T. et al. Immunopharmacological properties of flavonoids. **Fitoterapia**, p.101-109, 2000.
- KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J Pharm Pharmacol**, v. 2, p. 377-392, 2014.
- LOPES, R. M., OLIVEIRA T. T., NAGEM T. J., PINTO A. S. Flavonóides: farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Cien Desenvolv.**, v.3, p. 18-22, 2000.
- MONTEIRO, J. et al. TANINOS: UMA ABORDAGEM DA QUÍMICA À ECOLOGIA. **Quim. Nova**, Vol. 28, No. 5, 892-896, 2005.
- MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, (Suplemento - CD Rom), 2009.
- MOTTA et al. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de mucuna pruriens (L.) dc.. **Rev. bras. pl. med.**, Campinas, v.15, n. 2, p. 264-272, 2013.
- MOSBAH, H. et al. Phytochemical characterization, antioxidant, antimicrobial and pharmacological activities of Feijoa sellowiana leaves growing in Tunisia. **Industrial Crops & Products**, v. 112, p. 521-531, 2018.
- SILVA, A. C.; LIMA, R. A.; Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria**, v. 20, n. 1, p. 381-388, jan.abr. 2016.
- SCHÄFER, H.; WINK, M. Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: progress in alkaloid biosynthesis. **Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology**, v. 4, n. 12, p. 1684-1703, 2009.
- RUBERTO, G.; TRINGALI, C. Secondary metabolites from the leaves of *Feijoa sellowiana* Berg. **Phytochemistry**, Oxford, n. 65, p. 2947-51, 2004.



VISHWAKARMA, S.; CHANDAN, K.; JEBA, R. C.; KHUSHBU, S. Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 5, 2014.

ZHU, F.; Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). **Trends in Food Science & Technology**, p. 121-131, 2018.



EFEITO TÓXICO DA FRAÇÃO HEXÂNICA DAS FOLHAS DE *ACCA SELLOWIANA* (BERG.) BURRET.

Emanuelli Tainara Bender¹; Júlia Gabrieli Bender²; Neiva Aparecida Grazziotin³; Helissara Diefenthaler⁴; Juliana Roman⁵; Silvane Souza Roman⁶

¹Aluna de Graduação, Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim, departamento de Ciências da saúde, E-mail: emanuelli.tainara.bender@gmail.com.

²Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim

³Professora Mestre, Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim

⁴Professora Mestre, Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim

⁵Professora Mestre, Curso de Farmácia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim

⁶Professora Doutora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus de Erechim

Resumo

A utilização de plantas medicinais é uma das mais antigas práticas utilizadas pela humanidade, bem como a utilização de plantas da família Myrtaceae, a exemplo a espécie frutífera *Acca sellowiana* (Berg.) Burret. O trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade in vitro da fração do extrato de *A. sellowiana* com n-butanol por meio de bioensaios com *Artemia salina*. Em solução salina incubou-se os cistos de *A. salina* que em 24 horas eclodiram, após, pesou-se o extrato de *A. sellowiana* e diluiu-se em água destilada, a solução foi transferida para tubos de ensaio permitindo concentrações finais de 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml, 6 µg/ml, 8 µg/ml, 10 µg/ml e 20 µg/ml. A taxa de mortalidade variou de 6.67 a 100% relacionada com o aumento das concentrações, a DL50 apresentou-se próximo a 72,91 µg/ml. A fração hexânica de *A. sellowiana* apresentou toxicidade frente aos náuplios de *A. salina*.

Palavras-chave: *Acca sellowiana*. *Artemia Salina*. Toxicidade.

Introdução

A biodiversidade possui proveniência de imenso potencial de uso econômico. Espécies vegetais são utilizadas para fins terapêuticos nas mais variadas formas de processos extrativos (BEDNARCZUK, 2010). Apesar das plantas possuírem inúmeras propriedades medicinais, as quais são conhecidas popularmente, para muitas plantas ainda se desconhece os efeitos toxicológicos tanto para o homem quanto para animais (MONSENY, 2015).

Estudos in vitro com modelos animais são utilizados para avaliar o risco toxicológico de vários constituintes químicos existentes nas plantas. O ensaio in vitro permite limitar o número das variáveis experimentais, possui execução mais simples e rápida que a do teste in vivo e permite substituir os animais ou, servirem como um estudo precedente ao teste in vivo, podendo utilizar



micro-organismos como bactérias, fungos, crustáceos, enzimas, proteínas, culturas celulares e outras (MOURA, 2012).

Um dos métodos alternativos como indicador de toxicidade em triagem é o microcrustáceo *Artemia salina* (BEDNARCZUK, 2010). A *A. salina* pertence ao filo Arthropoda, classe Crustácea, e pode ser encontrada em diferentes partes do mundo, principalmente em regiões de alta salinidade, tendo como vantagens ser de baixo custo, fácil manuseio, bem como rápido resultado (SILVA et al., 2015). A partir de testes de toxicidade com a *A. salina*, pode se analisar a sobrevivência dos náuplios da mesma, expostos a uma amostra a ser analisada, por um determinado período de tempo e em variadas concentrações do material em estudo (SILVA et al., 2015).

A utilização de plantas da família Myrtaceae, a exemplo a espécie frutífera *Acca sellowiana* (Berg.) Burret., sinônimo *Feijoa sellowiana* Berg, conhecida popularmente por goiabeira-serrana ou goiabeira-do-mato e internacionalmente como feijoa, é um arbusto nativo da América do Sul (Paraguai, Uruguai, Brasil e Argentina), vem sendo abundantemente cultivada em muitos países, devido à sua fácil adaptação ao clima subtropical (GIUSEPPE; CORRADO, 2004). Aproximadamente, 20 variedades de feijoa foram descritas na literatura (GIUSEPPE; CORRADO, 2004). Esta árvore aparece como uma oliveira e cresce em condições similares e de um tamanho similar (GIUSEPPE; CORRADO, 2004). As folhas são opostas, elípticas e coriáceas, com pecíolos curtos. A página superior das folhas é verde, enquanto que a inferior é pálida, prateada. (Di Cesare et al., 1998). Mosbah et al., (2018) fez um estudo para identificar compostos bioativos nas folhas de *Feijoa sellowiana* na Tunísia, onde 31 componentes foram identificados, representando 99,9% do total de voláteis. Dentre os principais constituintes, foram limoneno (36,2%), β -cariofileno (27,8%), aromadendeno (12,5%) e α -copaeno (6,6%) (MOSBAH et al., 2018).

O extrato de folhas mostrou atividades farmacológicas promissoras, na inibição cinética in vitro demonstrou um forte poder de inibição para tanto as enzimas-chave do diabetes (α -glucosidase e α -amilase), também possui atividade analgésica significativa e um fraco efeito antitumoral (MOSBAH et al., 2018).

Estudos toxicológicos in vivo já realizados pelo grupo de pesquisa revelaram que o extrato bruto das folhas de *A. sellowiana* nas doses de 10, 50, 75 e 300 mg/kg administrados em camundongos Swiss não apresentaram toxicidade. Mosbah et al., (2018) mostrou que nas doses de 200, 500 e 2000 mg/kg de extrato bruto de *A. sellowiana* administrados por via oral a ratos Wistar também não causaram sinais de toxicidade, em ambos os diferentes estudos não houve mortes



(MOSBAH et al., 2018). Testes de toxicidade apresentam potencial de detectar efeitos letais ou subletais no sistema biológicos (KRISHNARAJU et al., 2005) sendo estes de fundamental importância para poder utilizar as plantas com devida segurança.

Apesar dos estudos feitos com o extrato bruto de *A. sellowiana*, ainda não há relatos na literatura de testes toxicológicos feitos com a fração hexânica (FH) de *A. sellowiana*. Frente a isso propôs-se verificar a toxicidade da fração hexano (FH) de *A. sellowiana* em *Artemia Salina*.

Material e Métodos

Coleta, identificação e preparo do extrato bruto e da fração

Folhas de *A. sellowiana* foram coletadas de plantas cultivadas em Mato Castelhana no período da primavera do ano de 2018. Um espécime da coleção original foi depositado no Herbário Balduino Rambo da URI Erechim sob número HPBR 12.281, onde a planta foi identificada por um botânico.

O material vegetal (folhas) foi dessecado em estufa de circulação de ar e mantido a temperatura ambiente de 40°C até peso constante. Posteriormente as folhas secas foram trituradas no moinho de facas e misturadas ao álcool absoluto para obtenção do extrato alcoólico. Essa mistura permaneceu em repouso por 72 horas no percolador, e após foi filtrada e em seguida, rota evaporada a 55°C sob pressão reduzida até obtenção da solução concentrada, sendo liofilizada sob pressão a -60°C. Após o extrato bruto estar pronto o material vegetal foi macerado em temperatura ambiente empregando como solvente solução hidroetanólica até esgotamento do material vegetal. Os extratos resultantes foram filtrados, concentrados sob pressão negativa a 45 °C e liofilizados, obtendo-se o extrato bruto (EB) adaptado de Araruna et al. (2013). Em seguida, o extrato foi particionados com hexano, filtrado e o solvente rota evaporado, obtendo-se, desta forma, a fração hexânica (FB). O extrato da fração foi estocado em frasco âmbar a 10 °C para posterior análise. Antes de cada experimento, o extrato foi pesado e redissolvido em solvente apropriado.

Ensaio de toxicidade frente aos náuplios de Artemia salina

A realização do experimento com *Artemia salina* foi baseado na metodologia descrita por Meyer et al. (1982) com algumas modificações. Para tanto em solução salina, preparada com 40 g de cloreto de sódio e 0.7 mg de bicarbonato de sódio este último para fazer com que o pH da solução seja 8,5, foram incubados 150 mg de cistos de *A. salina* onde aguardou-se 24 horas para

estas eclodirem. Após a eclosão pesou-se o extrato da fração hexano (FB) de *A. sellowiana* e diluiu-se em água destilada, a solução foi transferida para os tubos de ensaio, de modo a possibilitar a obtenção das concentrações finais de 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml, 6 µg/ml, 8 µg/ml, 10 µg/ml e 20 µg/ml. A seguir foram transferidos 10 náuplios de *A. salina*, para cada tubo de ensaio correspondente as respectivas concentrações, onde ficaram em contato com o extrato por 24 horas. Após a realização do ensaio, avaliou-se a CL50 por meio da porcentagem da mortalidade dos náuplios de *A. salina* em função destas concentrações do controle negativo com 3 ml de solução salina artificial e do controle positivo de solução contendo dicromato de potássio.

Análise estatística

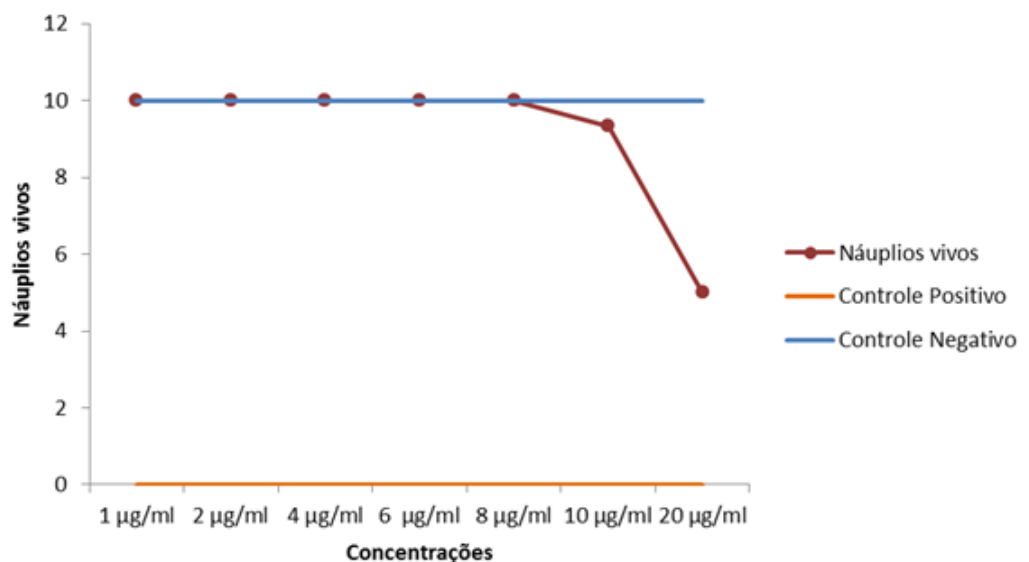
Os dados foram analisados para a obtenção do número de náuplios vivos, taxa de mortalidade e correção da mortalidade natural pela Fórmula de Abbot para serem distribuídos em gráficos e tabelas.

Resultados

Tabela 1: Taxa de mortalidade da *Artemia salina* em diferentes concentrações de extrato da fração com hexano da goiaba serrana.

Concentrações	Taxa de Mortalidade (%)
1 µg/ml	0
2 µg/ml	0
4 µg/ml	0
6 µg/ml	0
8 µg/ml	0
10 µg/ml	6,67
20 µg/ml	50
Controle positivo	100
Controle negativo	0

Figura 1: Número de náuplios vivos de *Artemia salina* nas diferentes concentrações testadas, com a fração do hexano.



A DL50 da fração hexânica (FH) de *A. Sellowiana* apresentou-se próximo a 72,91 µg/ml.

Discussão

A avaliação da toxicidade tem por objetivo verificar o possível potencial de substâncias causar danos à saúde humana. Testes que avaliam a toxicidade sistêmica aguda são utilizados a fim de classificar a capacidade de substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação (VALADARES, 2006). De acordo com Meyer (1982), a morte ou vida são as únicas variáveis envolvidas no bioensaio de toxicidade com *Artemia salina*.

Baseado em nossos resultados podemos notar que a taxa de mortalidade está relacionada com o aumento das concentrações conforme podemos observar na tabela 1 e consequentemente, houve uma redução de náuplios vivos, representada na figura 1.

A tabela 1 expressa os dados referente às taxas de mortalidade utilizando a fórmula de Abbot, a qual serve para corrigir a taxa de mortalidade natural observada no controle negativo, dando maior segurança nos resultados encontrados com as concentrações utilizadas neste experimento.

Observou-se no controle positivo com dicromato de potássio que todas as *Artemias salinas* que estavam no tubo morreram, algo esperado, pois o dicromato de potássio era a substância tóxica de referência.



Podemos notar que a fração hexânica (FH) de *A. sellowiana* nas concentrações 1 à 8 µg/ml não induz a taxa de mortalidade quando comparado aos controles positivo e negativo. Foi visto que a fração hexânica (FH) de *A. sellowiana* a partir da concentração de 10 µg/ml começou a induzir taxa de mortalidade a qual foi de 6.67%, entretanto representa uma taxa relativamente baixa de toxicidade. Além disso, a fração hexânica (FH) de *A. sellowiana* na concentração de 20 µg/ml induziu a uma taxa de mortalidade de 50%, sendo considerada moderada a toxicidade.

Esse conjunto de resultados nos mostra que houve indícios de toxicidade nos náuplios de *Artemia salina* causada pela fração hexânica (FH) de *A. sellowiana*, pois variaram de 6,67 a 50%, considerados moderados, pois segundo Meyer (1982) devido a ser em baixas concentrações tem uma toxicidade relativamente alta.

Na figura 1 observa-se que houve uma redução no número de náuplios de *Artemia salina* vivos na concentração de 10 µg/mL que se intensificou na concentração de 20 µg/mL quando comparados ao controle negativo. Com isso nota-se que com o aumento da concentração da fração hexânica (FH) de *A. sellowiana* reduziu o número de náuplios vivos. Este resultado mostra o efeito tóxico da fração hexânica (FH) de *A. Sellowiana*.

A partir da porcentagem de mortalidade dos náuplios de *Artemia salina* com a fração hexânica (FH) de *A. Sellowiana* nas diferentes concentrações avaliou-se a DL50. A determinação da DL50 tem como objetivo determinar a concentração capaz de matar 50% dos náuplios de *artemia*, indicando assim a toxicidade da fração hexânica (FH) de *A. Sellowiana*.

A fração hexânica (FH) nas concentrações testadas nesse modelo animal, foi suficiente para causar toxicidade, pois conforme descrito por Meyer e colaboradores (1982), os extratos que apresentarem valores de DL50 superior a 1000 µg/mL são considerados atóxicos, ao passo que os que apresentarem valor inferior a 1000 µg/mL são considerados potencialmente tóxicos. Logo, seguindo estes parâmetros, a fração hexânica (FH) de *A. Sellowiana* demonstraram-se tóxicas frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, visto que, ambas apresentaram valores de DL50 abaixo do valor pré-estabelecido.

Conclusão

A fração hexânica (FH) de *Acca sellowiana* apresentou toxicidade frente aos náuplios de *Artemia salina*, pois causou a morte de náuplios a partir de 10 µg/ML.



Referências

ARARUNA, M. K., SANTOS, K. K., DA COSTA, J. G., COUTINHO, H. D., BOLIGON, A. A., STEFANELLO, S. T., & DE MENEZES, I. R. (2013). phenolic composition and in vitro activity of the brazilian fruit tree caryocar coriaceum wittm. **Europe an journal of integrative medicine**, v. 5, n. 2, p. 178-183, 2013.

BEDNARCZUK, V.O; VERDAM, M.C.S; MIGUEL, M.D; MIGUEL, O.G. testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. visão acadêmica, v. 11, n. 2, 2010.
DETTORI, M., DI GAETANO, R., 1991. **Feijoa Sellowiana: Floral Biology. Adv. Hort. Sci.** 11-14.

DI CESARE, L.F., NANI, R., PROIETTI, M., CITRO, D., 1998. concentration of aromatic compounds and soluble constituents in fruit juices using a freeze-concentration lab technique. ind. delle bevande 27, 470-472.

GIUSEPPE, R., CORRADO, T., 2004. secondary metabolites from the leaves of feijoa sellowiana berg. phytochemistry 65, 2947-2951.

KRISHNARAJU, A. V.; RAO, T. V. N.; SUNDARARAJU, D. VANISREE, M. TSAY, H. S. SUBBARAJU, G. V. assessment of bioactivity of indian medicinal plants using brine shrimp (artemia salina) lethality assay. **International journal of applied science and engineering**, v.3, n.2, p.125- 134, 2005.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., MCL. AUGHLIN, J. brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of medical plant research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MONSENY, A.M. ET AL. poisonous plants: an ongoing problem. **Anales de pediatria**, v.85, n.2, p.347-353, 2015

MOSBAHA, H. ET AL. phytochemical characterization, antioxidant, antimicrobial and pharmacological activities of feijoa sellowiana leaves growing in tunisia. **Industrial crops & products**, monastir, tunisia., v. 112, p. 521-531, fev. 2018.

MOURA, N.S.; VASCONCELOS, A.C.M.; BERNABÉ, B.M.; TEIXEIRA, L.J.Q.; SARAIVA, S.H. ensaios toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. **Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer**, v.8, n.15; p.1945, 2012.

SILVA, E. M. F., DE CASTRO NASCIMENTO, R. B., BARRETO, F. S., DE MORAES FILHO, M. O., GRIZ, S. A. S., SANTOS, A. F., & MOUSINHO, K. C. (2015). estudo in vitro do potencial citotóxico da annonamuricata l. **Revista De Ciências Farmacêuticas Básica E Aplicada**, v. 36 n. 2, 2015



OS ÁCIDOS 4-HIDROXIFENILPIRÚVICO, 4-HIDROXIFENILÁTICO E 4-HIDROXIFENILACÉTICO ALTERAM A HOMEOSTASE REDOX EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS

Fabiana Camila Andrighi¹; Paola Gallina Toldo²; Eduarda Carolina Balena Schinaider³; Ângela Beatris Zemniachak⁴; Fernanda Dal'Maso Camera⁵; Alexandre Umpierrez Amaral⁶

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde, Av. Sete de Setembro, 1621 - Fátima, Erechim - RS, 99709-910, fabianaandrighi@gmail.com

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

³ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁴ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁵ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências da Saúde.

⁶ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Departamento de Ciências Biológicas.

Resumo

A tirosinemia tipo II é um erro inato do metabolismo de aminoácidos caracterizado pela deficiência na atividade da enzima tirosina aminotransferase (TAT). Dentre as tirosinemias, esta é a que apresenta os maiores níveis plasmáticos de tirosina, juntamente com o acúmulo de seus derivados metabólicos, o ácido 4-hidroxfenilpirúvico (HPP), ácido 4-hidroxfenilático (HPL) e ácido 4-hidroxfenilacético (HPA) que são excretados predominantemente na urina. A doença é clinicamente caracterizada por danos oculares e cutâneos característicos, além de ocasionar lesões neurológicas variáveis. Pressupõe-se que a tirosina e seus metabólitos sejam potencialmente tóxicos aos tecidos afetados, contribuindo para a manifestação clínica dos sintomas, mas os mecanismos de toxicidade desses compostos ainda precisam ser esclarecidos. Dessa forma, o presente trabalho avaliou os efeitos in vitro do HPP, HPL e HPA sobre o dano oxidativo proteico e lipídico, bem como sobre o sistema antioxidante enzimático e não-enzimático. Os parâmetros investigados foram o conteúdo de carbonilas, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) e os níveis de glutathiona reduzida (GSH), além da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) em homogeneizado de córtex cerebral de ratos com 30 dias de vida. Observou-se que o HPP foi capaz de provocar dano oxidativo proteico detectado pelo aumento do conteúdo de carbonilas, enquanto que o HPL e o HPA aumentaram os níveis de TBA-RS, indicativo de dano oxidativo lipídico. Além disso, o HPP foi capaz de aumentar a atividade da SOD e diminuir a ação da CAT e GPx, enquanto que o HPA foi capaz de diminuir a atividade da CAT. Finalmente, verificou-se uma diminuição dos níveis de GSH pelo HPA e o HPL, o que reflete numa redução das defesas antioxidantes não-enzimáticas. Analisando os resultados em conjunto, presume-se que os principais metabólitos da tirosina acumulados nos pacientes acometidos pela tirosinemia tipo II provocam dano oxidativo lipídico e proteico, além de alterarem as defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas em cérebro, sugerindo que uma alteração da homeostase redox com indução de estresse oxidativo pelo HPP, HPL e HPA seja um possível patomecanismo envolvido nas alterações neurológicas encontradas nos pacientes.

Palavras-chave: Tirosinemia tipo II. Homeostase redox. Estresse oxidativo.



Introdução

A tirosinemia tipo II também conhecida como tirosinemia oculocutânea ou síndrome de Richner-Hanhart, se trata de um erro inato do metabolismo classificado dentro do grupo das aminoacidopatias, é causada pela deficiência autossômica recessiva da enzima hepática aminotransferase (TAT). Caracteriza-se bioquimicamente pela presença de tirosina em grande quantidade nos tecidos, fluido cérebro-espinhal, sangue e urina, variando de 370 a 3300 $\mu\text{mol/L}$ (normal $<90 \mu\text{mol/L}$) em pacientes não tratados. Na urina destes pacientes, observa-se não só o aumento da excreção de tirosina, mas também de seus metabólitos, os ácidos 4-hidroxifenilpirúvico (HPP), 4-hidroxifenilático (HPL) e 4-hidroxifenilacético (HPA). As manifestações clínicas incluem lesões oculares, cutâneas e alterações neurológicas que variam desde um leve decréscimo na inteligência até retardo mental severo associado à microcefalia, automutilação, hiperatividade, distúrbios motores e no desenvolvimento da fala (MITCHELL et. al., 2001).

Apesar da sintomatologia neurológica ser bem caracterizada, os mecanismos fisiopatogênicos responsáveis são pouco conhecidos, o que dificulta a uma melhor compressão da fisiopatologia dessa doença. Pressupõe-se que a tirosina e seus metabólitos sejam potencialmente tóxicos aos tecidos afetados, contribuindo para a manifestação clínica dos sintomas, mas os mecanismos de toxicidade desses compostos ainda precisam ser estudados. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos *in vitro* do HPP, HPL e HPA sobre o dano oxidativo proteico e lipídico, através da determinação do conteúdo de carbonilas e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), respectivamente, bem como sobre os sistemas antioxidantes não-enzimático e enzimático, pela avaliação das concentrações de glutathione reduzida (GSH) e das atividades da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), em córtex cerebral de ratos com 30 dias de vidas.

Material e Métodos

A amostra foi composta por 6 ratos machos Wistar com 30 dias de vida oriundos do Laboratório de Experimentação Animal da URI – Campus Erechim, acondicionados sob condições ideais de temperatura, água, luz e alimentação. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais (controle, 2 mM HPP, 2 mM HPA e 2 mM HPL) para a avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral. O grupo controle foi realizado na ausência dos metabólitos. O presente estudo experimental *in vitro* foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso



de Animais (CEUA) da URI Erechim.

Para preparação do sobrenadante do córtex cerebral, os ratos foram anestesiados e submetidos a uma perfusão transcardíaca com a posterior decapitação e retirada do cérebro, devidamente homogeneizado em tampão adequado (EVELSON et al., 2001). O homogeneizado foi centrifugado e a partir do sobrenadante realizou-se uma pré-incubação por 30 min (atividade de enzimas) ou 1 hora (demais parâmetros) a 37°C, na presença dos metabólitos testados.

A determinação do conteúdo de grupamentos carbonila foi realizada de acordo com Reznick e Packer (1994) em espectrofotômetro (Kasuaki) a 370 nm. A determinação do TBA-RS foi realizada de acordo com o método de Esterbauer e Cheeseman (1990) em espectrofotômetro (Kasuaki) a 532 nm. A atividade da CAT se deu através do método de Aebi (1984) em espectrofotômetro (Kasuaki) a 240 nm. Já a determinação da atividade da SOD foi medida de acordo com Marklund (1985) em espectrofotômetro (Kasuaki) a 420 nm. A avaliação da ação da GPx foi determinada pelo método de Wendel (1981) espectrofotometricamente (Kasuaki) a 340 nm. Por fim, para a avaliação do sistema antioxidante não-enzimático, a determinação dos níveis de GSH ocorreu pelo método de Salat e colaboradores (2014) em espectrofotômetro (EL 800) a 405 nm.

As proteínas foram determinadas pelo método do Biureto (GORNALL et al., 1949) utilizando-se albumina bovina como padrão. A análise estatística utilizou análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste *post-hoc* de Tukey e os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises estatísticas foram feitas em um computador PC compatível pelo programa GraphPad Prism 5.0. Foram consideradas diferenças significativas quando o $P < 0.05$.

Resultados

Ao se avaliar o efeito dos metabólitos da tirosina sobre o dano oxidativo proteico, percebeu-se que o HPP foi capaz de aumentar significativamente (57,86 %) o conteúdo de grupamentos carbonila ($F_{(3,15)} = 10,91$ $P < 0,001$), indicando que esse composto causa um forte dano oxidativo proteico no cérebro, enquanto que o HPL e HPA não causaram alterações (Figura 1a). Já na determinação da peroxidação lipídica, o HPL (32,89%) e HPA (20,11%) foram capazes de aumentar significativamente os níveis de TBA-RS ($F_{(3,16)} = 13,81$, $P < 0,001$), indicando que esses compostos causam dano oxidativo lipídico no cérebro, enquanto que o HPP não causou alterações significativas (Figura 1b).

Quanto as alterações nas defesas antioxidantes enzimáticas, o metabólito HPP foi capaz de aumentar em 38,13% a atividade da SOD ($F_{(4,25)}=3,002$, $P<0,05$), reduzir em 40,55% a da CAT ($F_{(3,12)}= 6,420$, $P<0,01$) e inibir fortemente a ação da GPx em 55,37% ($F_{(3,12)}= 20,73$, $P<0,001$). Ainda, verificou-se que o HPA foi capaz de reduzir em 45,06% a atividade da CAT ($F_{(3,12)}= 6,420$, $P<0,01$, não causando modificações significativas nas demais enzimas, enquanto que o HPL não alterou significativamente a atividade de nenhuma das enzimas testadas (Figura 1c, d, e). Por fim, observou-se que o HPL (redução de 25,44 %) e o HPA (redução de 28,78 %) foram capazes de reduzir significativamente o conteúdo de GSH ($F_{(3,16)}= 6,497$, $P<0,01$) em córtex cerebral (Figura 1f).

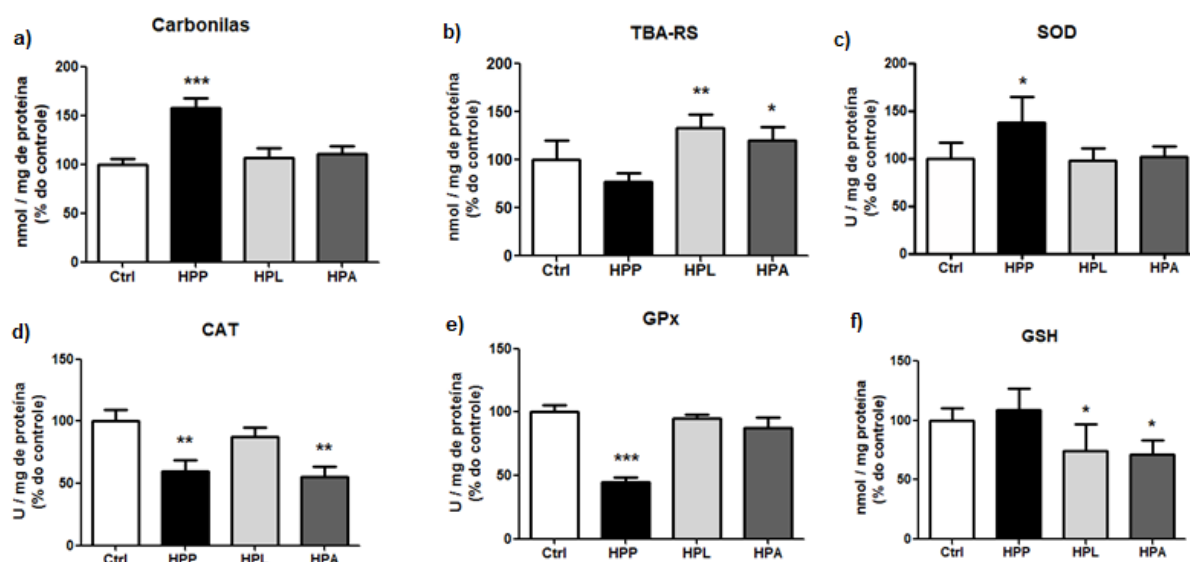


Figura 1. Efeitos *in vitro* do ácido 4-hidroxifenilpirúvico (HPP), ácido 4-hidroxifenilático (HPL) e ácido 4-hidroxifenilacético (HPA) sobre o conteúdo de grupamentos carbonila (a), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) (b), atividades da superóxido dismutase (SOD) (c), catalase (CAT) (d) e glutatona peroxidase (GPx) (e), além dos níveis de glutatona reduzida (GSH) (f), em homogeneizado de córtex cerebral de ratos. Os resultados representam média $\pm$ desvio padrão de três a seis experimentos independentes (animais) expressos como porcentagem (%) do controle. * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$ comparado ao controle.

Discussão

A tirosina é um aminoácido semiessencial, obtido a partir da dieta alimentar ou através da hidroxilação da fenilalanina. Quando alguma enzima do catabolismo da tirosina está deficiente resulta em uma condição patológica chamada de tirosinemia. Destaca-se no presente estudo a tirosinemia tipo II, causada pela deficiência na enzima TAT, onde os pacientes afetados apresentam predominantemente sintomatologia neurológica e são bioquimicamente caracterizados por acúmulo extremo de tirosina e seus metabólitos, especialmente o HPP, HPL e HPA nos tecidos,



líquido cefalorraquidiano, sangue e urina (MITCHELL et al., 2001). Apesar da sintomatologia neurológica ser bem caracterizada, os mecanismos patogênicos responsáveis pelos sintomas são pouco conhecidos e necessitam ser estudados para uma melhor compressão da fisiopatologia dessa doença.

Neste contexto, estudos prévios apontam que a tirosina, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, é capaz de induzir dano oxidativo a proteínas, lipídeos e sobre o DNA, bem como reduzir as defesas antioxidantes em estruturas cerebrais de ratos. Ainda, indicam que o estresse oxidativo provocado pode compreender um mecanismo fisiopatológico em pacientes tirosinêmicos, embora mais estudos sejam necessários para caracterizar esse efeito (SGARAVATTI et al., 2008; SGARAVATTI et al., 2009; STRECK et al., 2017). No entanto, os efeitos dos metabólitos da tirosina HPP, HPL e HPA sobre parâmetros de estresse oxidativo, que também se acumulam acentuadamente nos líquidos biológicos de pacientes com a tirosinemia tipo II, ainda não foram adequadamente estudados. Sendo assim, investigou-se no presente estudo o efeito do HPP, HPL e HPA sobre parâmetros de estresse oxidativo, no intuito de melhor entender os mecanismos responsáveis pela sintomatologia neurológica que pode se manifestar nesses pacientes e, portanto, contribuir para o esclarecimento da fisiopatologia da tirosinemia tipo II. Os resultados obtidos demonstraram que o HPP foi capaz de provocar dano oxidativo a proteínas, enquanto que os metabólitos HPL e HPA provocaram dano oxidativo lipídico em córtex cerebral. Quanto ao funcionamento do sistema antioxidante, os resultados evidenciaram que o HPP e HPA alteraram a atividade de enzimas antioxidantes, enquanto que o HPL e HPA diminuíram os níveis de GSH, que se caracteriza como o principal antioxidante não-enzimático no tecido cerebral.

Portanto, relacionando os resultados deste trabalho com estudos anteriores, acredita-se que a tirosina atue sinergicamente com seus metabólitos HPP, HPL e HPA, provocando estresse oxidativo que pode estar envolvido no surgimento de danos a células cerebrais e levar às alterações neurológicas características de pacientes acometidos pela tirosinemia tipo II, desempenhando assim um papel importante na fisiopatologia dessa doença.

Conclusão

No caso de extrapolar os resultados para uma condição *in vivo* e analisá-los em conjunto, o dano oxidativo proteico provocado pelo HPP e o dano lipídico ocasionado pelo HPL e HPA, associados à alteração do sistema antioxidante enzimático e não-enzimático provocada pelo HPP,



HPA e HPL, indicam para uma alteração da homeostase redox cerebral com indução de estresse oxidativo, condição associada à morte celular. Dessa forma, presume-se que o estresse oxidativo causado pelos principais metabólitos da tirosina, HPP, HPL e HPA, que se acumulam acentuadamente nos líquidos biológicos de pacientes acometidos pela tirosinemia tipo II, possa possivelmente contribuir, em conjunto com a tirosina, para as alterações neurológicas encontradas em pacientes acometidos por essa doença.

Referências

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**. v. 105, p. 121-126, 1984.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

EVELSON, P.; TRAVACIO, M.; REPETTO, M.; ESCOBAR, J.; LLESUY, S.; LISSI, E. A. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 388, n. 2, p. 261-266, 2001.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, p. 751-766, 1949.

MARKLUND, S. L. Pyrogallol autoxidation. In: R. A. Greenwald, (ed). **Handbook of Methods for Oxygen Radical Research**. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 243-247, 1985.

MITCHELL, G. A.; GROMPE, M.; LAMBERT, M.; TANGUAY, R. M. Hypertyrosinemia. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D., (Eds.), **The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001.

REZNICK, A.Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 357-363, 1994.

SALAT, K.; GLUCH LUTWIN, H.; NAWIESNIAK, B.; GAWLIK, K.; PAWLICA GOSIEWSKA, D.; WITALIS, J.; KAZEK, L.; FILIPEK, B.; LIBROWSKI, T.; WIECKOWSKI, K.; SOLNICA, B. Influence of analgesic active 3-[4-(3-trifluoromethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-dihydrofuran-2-one on the antioxidant status, glucose utilization and lipid accumulation in some in vitro and ex vivo assays. **Toxicology Mechanisms and Methods** . v. 24, n. 3, p. 204-11, 2014.

SGARAVATTI, A. M.; VARGAS, B. A.; ZANDONÁ, B. R.; DECKMANN, K. B.; ROCKENBACH, F. J.; MORAES, T. B.; MONSERRAT, J. M.; SGARBI, M. B.; PEDERZOLLI, C. D.; WYSE, A. T.; WANNMACHER, C. M.; WAJNER, M.; DUTRA-FILHO, C. S. Tyrosine promotes oxidative stress in cerebral cortex of young rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**. v. 26, n. 6, p. 551-559, 2008.



SGARAVATTI, A. M.; MAGNUSSON, A. S.; DE OLIVEIRA, A. S.; ROSA, A. P.; MESCKA, C. P.; ZANIN, F. R.; PEDERZOLLI, C. D.; WYSE, A. T. S.; WANNMACHER, C. M. D.; WAJNER, M.; DUTRA-FILHO, C. S. Tyrosine administration decreases glutathione and stimulates lipid and protein oxidation in rat cerebral cortex. **Metabolism Brain Disease**. v. 24, n 3, p. 415-425, 2009.

STRECK, E. L.; DE PRÁ, S. D. T.; FERRO, P. R.; CARVALHO-SILVA, M.; GOMES, L. M.; AGOSTINI, J. F.; DAMIANI, A.; ANDRADE, V. M.; SCHUCK, P. F.; FERREIRA, G. C.; SCAINI, G. Role of antioxidant treatment on DNA and lipid damage in the brain of rats subjected to a chemically induced chronic model of tyrosinemia type II. **Molecular and Cellular Biochemistry**. v. 435, n. 1-2, p. 207-214, 2017.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 325-333, 1981.



UTILIZAÇÃO DE NANOTECNOLOGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA E ÓLEO DE AÇAÍ

Ana Carolina da Silva¹; Karina Paese²; Juliana Roman³

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim
acarolina_silva@hotmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul

³ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim

Resumo

A nanotecnologia, no setor farmacêutico, demonstra grande potencial quando se aplica ao encapsulamento, carregamento e liberação de princípios ativos. Dentre os nanossistemas, as nanopartículas poliméricas apresentam inúmeras vantagens como a baixa toxicidade, sendo esta uma das características do biopolímero quitosana. Ainda, devido às propriedades farmacológicas que óleos vegetais possuem, como o óleo de açaí, eles podem ser utilizados na produção de novos medicamentos. Diante disso, essa pesquisa objetivou desenvolver e caracterizar nanopartículas de quitosana e óleo de açaí. Duas diferentes formulações de nanopartículas compuseram as amostras para análise, uma contendo óleo de açaí (F1) e outra contendo miristato de isopropila (F2). Após a preparação das nanopartículas, a caracterização físico-química foi realizada pela determinação do pH, do diâmetro médio de partícula e do potencial zeta. Quando avaliados os resultados físico-químicos, as nanopartículas apresentaram características nanotecnológicas aceitáveis, independente da substância veiculada. Observa-se, portanto, que a nanotecnologia amplifica, ainda mais, o potencial de uso quando comparada a formulações sem a presença de nanossistemas.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Nanopartículas. Quitosana.

Introdução

Nanociência e nanotecnologia referem-se ao estudo de fenômenos e manipulação de materiais em escalas atômica, molecular e macromolecular, nas quais as propriedades diferem significativamente das de grande escala (FIGUEIRAS; COIMBRA; VEIGA, 2014).

Os materiais em escala nanométrica podem apresentar características químicas, físico-químicas e biológicas diferentes das apresentadas em escalas maiores, sendo este o princípio desta ciência (ROSSI-BERGMANN, 2008). Objetivando explorar estas características, a nanotecnologia foca-se em encontrar e criar materiais, dispositivos e sistemas melhorados (FIGUEIRAS; COIMBRA; VEIGA, 2014).

Nas áreas farmacêutica e médica, particularmente, a nanociência visa projetar nanomedicamentos que apresentem vantagens em relação aos demais medicamentos,



principalmente pelo seu tamanho reduzido, ou seja, pelo aumento na área superficial em relação ao volume (DIMER et al., 2013).

É no encapsulamento de um princípio ativo que se encontra a aplicabilidade de um nanossistema de liberação de fármacos. Este é mais eficiente que os sistemas de encapsulação convencional devido ao fato de possuir menor tamanho, assim, facilitando a administração por diversas vias e posterior liberação e ação sistêmica no organismo.

Proteção do princípio ativo contra degradação, controle espacial e temporal da liberação, aumento da solubilidade aparente e biodisponibilidade e minimização de efeitos tóxicos são algumas outras vantagens associadas aos nanossistemas de encapsulação (DIMER et al., 2013; FAHNING; LOBÃO, 2011; MARCONE, 2015).

Principais características das nanopartículas poliméricas

Para melhorar as propriedades físico-químicas de formulações farmacêuticas, a veiculação de substâncias ativas em nanossistemas tem-se mostrado promissora. De acordo com Gonçalves (2014), a aplicação da nanotecnologia na produção de medicamentos e produtos de saúde pode determinar a eficácia terapêutica, conferindo uma maior possibilidade de atingir o objetivo pretendido.

Sistemas nanoestruturados podem conduzir as substâncias ativas encapsuladas a determinado tecido ou célula alvo, tendo como consequência a sua liberação no local e diminuição da distribuição em tecidos saudáveis. Adicionalmente, selecionando adequadamente o tipo de nanossistema a ser utilizado desenvolvem-se sistemas com perfis de liberação controlada do fármaco, mantendo sua concentração plasmática constante em função do tempo. Essas duas vantagens propiciam o aumento do efeito terapêutico e redução de reações adversas relacionadas à administração de elevadas doses (GONÇALVES, 2014).

Assim sendo, esta pesquisa objetiva desenvolver, caracterizar e viabilizar o uso de nanopartículas de quitosana e óleo vegetal, neste caso o óleo de açaí.

Material e Métodos

A pesquisa desenvolvida tratou-se de um estudo experimental *"in vitro"*.

Duas diferentes formulações de nanopartículas compuseram a amostra para análise, como apresenta a Tabela 1. A formulação F1 é constituída por óleo de açaí e quitosana. Já a formulação

F2 é composta pelo miristato de isopropila, óleo de característica inerte, e pela quitosana para fim comparativo.

Tabela 1 - Componentes das diferentes formulações de nanopartículas

Componentes	F1	F2
Quitosana	X	X
Lecitina	X	X
Óleo de açaí	X	
Miristato de isopropila		X

Preparação das nanopartículas

As formulações contendo nanopartículas foram preparadas de acordo com o método previamente descrito por Haas et al. (2014), apresentando algumas modificações. De maneira geral, as formulações foram obtidas pela injeção de uma fase orgânica composta por 4 mL de solução etanólica contendo 8 mg/mL de lecitina (Lipoid S45[®]) e 10 mg/mL de óleo (óleo de açaí ou miristato de isopropila) com o auxílio de um funil em 46 mL de uma solução aquosa contendo 4 mg/mL de quitosana. As suspensões foram cisalhadas mecanicamente utilizando um Ultraturrax (5 min, 25.000 RPM, Ultra Turrax[®] IKA[®] T18 basic). A solução aquosa de quitosana foi obtida previamente na concentração de 4 mg/mL, em solução de ácido acético 1% (v/v) em água destilada, com agitação mecânica moderada por um período de 24 horas.

Determinação do pH

Os valores de pH das formulações foram determinados com o auxílio de um potenciômetro calibrado (Quimis Q-400A) e sem diluição prévia da formulação.

Determinação do diâmetro

O perfil de distribuição e o diâmetro médio das partículas (D_{4,3}) em suspensão foram avaliados utilizando o método de difração de laser (Malvern[®] 2000 Mastersizer, Malvern Instruments, Reino Unido), utilizando obscuração do laser de 2 a 8%. O span foi determinado pela equação matemática abaixo:

$$\text{Span} = (d_{0,9} - d_{0,1})/d_{0,5}$$

em que: d_{0,1}, d_{0,5} e d_{0,9} correspondem a 10, 50 e 90% da distribuição de diâmetro cumulativo.

Uma vez que o diâmetro de partículas em sistemas nanométricos é uma das principais características a serem avaliadas, metodologias complementares devem ser empregadas. Nesse intuito, após a determinação do diâmetro por difração de laser, o z-average foi determinado diluindo-se a amostra 500 X em água ultrapura e submetendo-a a análise por espalhamento múltiplo de luz em Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido), esta última sendo uma análise mais específica para sistemas nanométricos.

Determinação do potencial zeta

Para determinação do potencial zeta as amostras das formulações foram diluídas em uma solução aquosa de NaCl 10mM previamente filtrada em membrana de 0,45 μ m, 500 vezes. A análise foi realizada a 25°C, por mobilidade eletroforética em instrumento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido).

Resultados

As características físico-químicas das formulações influenciam alguns parâmetros como a sua cinética, por exemplo. Os resultados referentes às análises dos parâmetros físico-químicos das formulações de nanopartículas são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores dos parâmetros físico-químicos analisados: pH, diâmetro médio de partícula e potencial zeta

	pH	Potencial zeta (mV)	D4,3 (nm)	Span	z-average (nm)	PDI
F1	3,75 $\pm$ 0,05	34,83 $\pm$ 1,70	364,67 $\pm$ 70,67	2,50 $\pm$ 1,18	269,00 $\pm$ 89,01	0,25 $\pm$ 0,03
F2	3,88 $\pm$ 0,05	16,40 $\pm$ 3,56	163,33 $\pm$ 2,52	1,48 $\pm$ 0,02	152,67 $\pm$ 10,02	0,15 $\pm$ 0,01

Legenda: Os resultados representam a média dos valores dos parâmetros físico-químicos realizados em triplicata $\pm$ desvio padrão.

Conforme a Tabela 2, as formulações das nanopartículas contendo óleo de açaí e óleo de miristato de isopropila apresentaram D4,3 de 364,67 nm e 163,33 nm e span, indicativo de dispersão dos valores de diâmetro, de 2,50 e 1,48, respectivamente, evidenciando uma distribuição homogênea e sem a presença de populações micrométricas, o que pode ser observado na Figura 1.

Quanto ao z-average, verificado através de espalhamento de luz dinâmico, as formulações F1 e F2 apresentam respectivamente 269,00 nm e 152,67 nm (Figura 2) e índice de polidispersão (PDI) de 0,25 e 0,15 indicando, assim, diâmetro nanométrico.

Figura 1 - Perfil granulométrico obtido por difração de laser

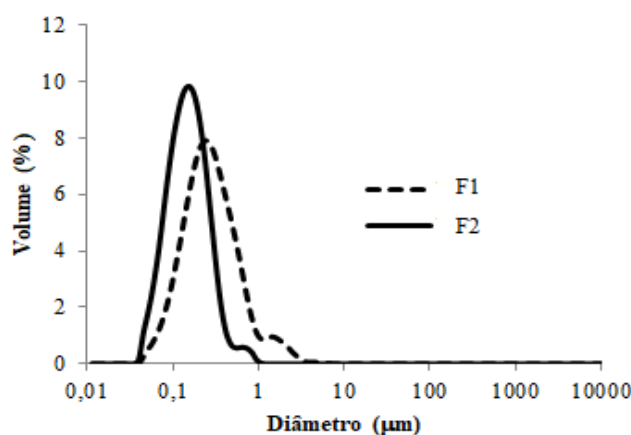
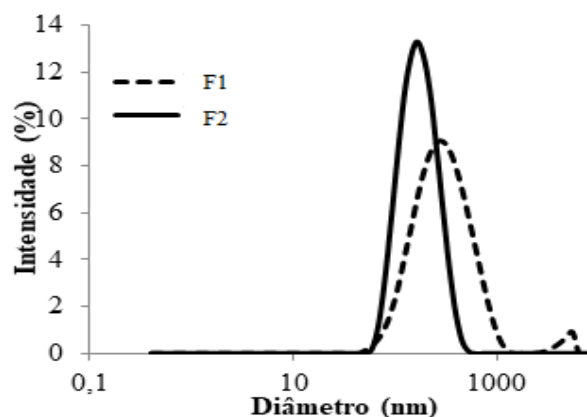


Figura 2 – Perfil de distribuição de diâmetro obtido por espalhamento múltiplo de luz



Discussão

As nanopartículas poliméricas são utilizadas em larga escala em produtos farmacêuticos e biotecnológicos. A cinética do fármaco e outros parâmetros são influenciados pelas características físico-químicas que o polímero, a substância ativa e os excipientes possuem, por isso é importante uma escolha criteriosa do polímero e do método de obtenção das nanopartículas de acordo com a via de administração, o tecido alvo e principalmente a substância à veicular (GONÇALVES, 2014).

A quitosana é insolúvel em água, solventes e bases orgânicas, porém mostra-se solúvel na maioria dos ácidos com pH menor que 6,0 (HAAS et al., 2014). Devido a isto, foi utilizado ácido acético 1% (v/v) na preparação das nanopartículas para permitir a sua solubilização. Os valores de pH apresentaram-se ácidos devido a influência da característica ácida do solvente.

O potencial zeta (mV) é um indicativo referente à carga de superfície das partículas. No caso de partículas de quitosana espera-se um potencial zeta positivo devido à carga positiva que este biopolímero possui.

Valores de potencial zeta diferentes de zero são importantes, pois garantem que não haja agregação de partículas na formulação. Além desta característica, ressalta-se a importância das propriedades superficiais dos nanossistemas carreadores e sua interação com as membranas das



células. Cargas positivas na superfície das nanopartículas facilitam a interação com cargas negativas de membranas (HAAS et al., 2014).

Quando comparado o potencial zeta das duas formulações de nanopartículas, a formulação F1 apresenta um valor maior que a F2 (Tabela 2), possivelmente pela presença das diferentes substâncias constituintes nas formulações. Considerando que o potencial zeta é medido próximo da interface entre partícula e meio aquoso, os resultados indicam que, não apenas a quitosana é responsável por sua determinação, mas também constituintes do óleo de açaí, que não foram encapsulados e mantiveram-se próximo à superfície da partícula.

É imprescindível o controle do diâmetro de partículas durante a preparação dos nanossistemas, tanto em escala laboratorial quanto em escala industrial, pois o diâmetro influencia inúmeros fatores como a interação com membranas celulares (GONÇALVES, 2014). Quanto menor o tamanho das nanopartículas maior é a sua área superficial, este é um fator importante para a atividade das partículas devido à capacidade de incorporação de um maior número de moléculas na sua superfície (AI et al., 2011).

Pela análise dos resultados, pode-se concluir que algumas características do óleo encapsulado modificam o diâmetro das partículas formadas, como a viscosidade, em geral quanto maior a viscosidade do óleo maior o diâmetro de partícula. Ainda assim, observa-se uma distribuição homogênea.

Quanto ao perfil obtido pela técnica de espalhamento de luz dinâmico observa-se uma população micrométrica na formulação de nanopartículas de açaí relacionada também ao seu maior valor de PDI quando comparado ao PDI da formulação de nanopartículas de miristato, bem como ao maior diâmetro médio da primeira formulação. Semelhantemente ao observado na técnica de difração de laser, o diâmetro da formulação F1 foi superior àquele da formulação F2.

Em geral, quando comparados os resultados de diâmetro das duas formulações observamos a influência do óleo de açaí, que origina partículas maiores e mais heterogêneas, provavelmente devido à viscosidade maior que o mesmo apresenta em relação ao miristato de isopropila, porém estes resultados não impossibilitam o uso das nanopartículas.

Conclusões

Foi possível desenvolver, com esta pesquisa, nanopartículas com características nanotecnológicas aceitáveis, independente da substância veiculada, quando analisadas as



características físico-químicas das mesmas. Verifica-se, ainda, confiabilidade no processo de obtenção e caracterização, visto que durante sua realização foi obtido controle científico para alcançar resultados fidedignos, os quais são de fundamental importância para estudos posteriores.

Agradecimentos

A Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões por todo apoio científico e estrutural.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela parceria e por todo apoio científico e estrutural.

Referências

AI, J. et al. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 1117-1127, 2011.

DIMER, F. A. et al. Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

FAHNING, B. M.; LOBÃO, E. B. **Nanotecnologia aplicada a fármacos**. 2011. 88 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Farmácia, Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo, Espírito Santo, 2011.

FIGUEIRAS, A. R. R.; COIMBRA, A. B.; VEIGA, F. G. B. Nanotecnologia na saúde: aplicações e perspectivas. **Boletim Informativo Geum**, v. 5, n. 2, p. 14-26, 2014.

GONÇALVES, J. C. **Nanotecnologia aplicada à pele**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014.

HAAS, S. E. et al. Development of innovative oil-core self-organized nanovesicles prepared with chitosan and lecithin using a 2³ full-factorial design. **Pharmaceutical Development and Technology**, Londres, v. 19, p. 769-778, 2014.

MARCONE, G. P. S. Nanotecnologia e Nanociência: aspectos gerais, aplicações e perspectivas no contexto do Brasil. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.7, n. 2, p. 1-24, 2015.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.



PREVENÇÃO DE PARASIToses EM CRIANÇAS ATRAVÉS DE EDUCAÇÃO SANITÁRIA

Raquel Tonello¹; Luiz Carlos Cichota²; Neiva Aparecida Grazziotin³

¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim

³ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim

Introdução: As parasitoses são doenças causadas por parasitas, seres vivos que vivem em dependência metabólica com seus hospedeiros. Com isso, as chances de ocorrer algum dano em seres humanos são grandes. Pessoas com baixo nível socioeconômico são as mais propensas, principalmente as crianças, onde os cuidados de higiene são insuficientes. Ascaridíase, giardíase, escabiose e pediculose são as doenças mais prevalentes e de fácil transmissão. *Ascaris lumbricoides* é popularmente conhecida como lombriga ou bicha, sua transmissão ocorre pela ingestão de ovos infectantes provenientes do solo, alimentos ou água contaminada com fezes humanas. Esses vermes tornam-se adultos no intestino do homem. Os sintomas são variados, desde dores abdominais, náuseas, vômitos e diarreia até obstrução intestinal. A giardíase é causada pela *Giardia lamblia*, onde o principal sintoma é a diarreia prolongada o que culmina em perda de peso. Sua transmissão é semelhante à ascaridíase, por isso é de suma importância o saneamento básico, lavar bem os alimentos antes do consumo, preferir alimentos cozidos e água tratada. Enquanto isso, a escabiose, transmitida pelo contato direto através do *Sarcoptes Scabiei*, causa intensa coceira, pois o parasita aloja-se na superfície do hospedeiro. A parte do corpo mais afetada é o tronco, mas pode se espalhar para as pernas e os braços. Essa doença está muito relacionada com cachorros, pois são considerados os principais transmissores e também pelo fato das crianças brincarem muito com eles. *Pediculus humanus capitis*, também é um ectoparasita sendo o mais conhecido de todos por causar a pediculose. Por muito tempo essa doença foi associada apenas a população de baixa renda, mas hoje ela é comum em crianças de diferentes níveis socioeconômicos pois sua transmissão é extremamente rápida e fácil. Conhecido como piolho, o parasita aloja-se na cabeça e, quando adulto, alimenta-se do sangue do hospedeiro, causando intensa coceira. A presença apenas das lêndeas (ovos do piolho) é assintomática e sua remoção pode ocorrer penteando os cabelos com um pente fino. **Objetivo:** O objetivo do trabalho foi promover atividades educativas às crianças, professores e funcionários para prevenção de parasitoses em crianças de creches municipais de Erechim/RS além de fornecer informações educativas sobre os ectoparasitas e parasitas intestinais mais frequentes em crianças. **Método:** As atividades foram realizadas com crianças de 4 a 6 anos de idade. A metodologia utilizada foi de forma lúdica para que as crianças assimilassem com facilidade o que estava sendo passado a elas. **Resultados/Discussão:** Inicialmente foi falado sobre cada parasita e ectoparasita, salientando as doenças, sintomas e transmissão. Vídeo sobre a importância em lavar as mãos, atividade cujo objetivo era ligar o parasita ao hospedeiro que apresentava o sintoma, histórias e jogos, como o jogo da memória, foram as atividades propostas às crianças. Ao final de tudo, perguntas eram realizadas para observar o aprendizado das mesmas. Os resultados foram 100% satisfatórios. Mesmo as crianças apresentando pouca idade, foi possível perceber o aprendizado delas assim como a participação das mesmas, pois conseguiam associar o assunto com algo já vivido. O conhecimento adquirido pelas crianças permite que elas alcancem uma mudança de comportamento em relação ao seus



hábitos de higiene, porque, ao explicar as consequências de determinadas doenças há uma preocupação em como evitá-las. Conclusão: A associação tradicional à forma lúdica resulta na melhoria do aprendizado porque, assim, as crianças sentem-se entusiasmadas para aprender o conteúdo passado em sala de aula, assim como outros problemas de saúde pública.

Palavras-chave: Prevenção de Parasitoses. Crianças. Ludicidade.



Avenida Sete de Setembro, 1621 | Fone +55 (54) 3520-9000
Caixa Postal 743 | CEP 99709-910 | Erechim-RS | Brasil