

DESTAQUE DESTA EDIÇÃO

Quanto maior a facilidade em localizar artigos de um periódico científico, maior a possibilidade de fidelizar leitores e maiores as chances de ser citado em uma pesquisa. Com este propósito o BJNS disponibiliza seus artigos completos em indexadores de qualidade científica comprovada como: DOAJ - DIADORIN - LATINDEX - CROSSREF DOI - CC/BY - ORCID - GOOGLE ACADÊMICO - CROSSREF SIMILARITY CHECK - IDENTIFICAÇÃO INTERNACIONAL DE PUBLICAÇÕES SERIAIS - SCIENCE DIRECT - SCOPUS.

Essa é nossa revista! Respeitando com ética e responsabilidade nosso pesquisador!

O Brazilian Journal of Natural Science é uma publicação oficial do Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais - iooe, e tem como missão publicar artigos científicos relevantes no sentido mais amplo dos diferentes aspectos das ciências naturais. Com periodicidade trimestral, nosso objetivo é interagir com pesquisadores, professores e alunos em instituições de ensino e pesquisa como: Projetos de atividade extracurricular, seminários, palestras, resumos, resenhas, projetos de ensino, experiências e criação literária na área da química, física e biologia.

Editor Chefe:

Carlos Jorge Rocha Oliveira

Instituto de Osmologia e Óleos Essencias, iooe, São Paulo, Brasil.

Editores Associados:

Valeria Maria de Souza Antunes, Universidade Anhembi Morumbi , UAM, São Paulo, Brasil.

Maira de Oliveira Jardim, Faculdades Oswaldo Cruz, São Paulo, Brasil.

Prof. Dr. Daniel Antunes Junior, Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil.

Luis Fernando do Amaral, Instituto de Osmologia e Óleos Essencias - iooe - São Paulo Brasil.

Corpo Editorial:

Ana Maria de Lauro Castrucci, Departamento Fisiologia-IB-USP (Dep. Physiology, IB, USP).
São Paulo Brasil.

Carlos Rocha Oliveira. Universidade Anhembi Morumbi - UAM-SP - São Paulo - Brasil.

Claudia Bincotto Trindade, Departamento de Farmacologia - Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP - Brasil.

Ivarne Luis dos Santos Tersariol, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, Brasil.

Maria Cristina Marcucci Ribeiro, Universidade Anhanguera de São Paulo - UNIAN- São Paulo, Brasil.

Revisores Ad hoc:

Ana Lúcia Severo Rodrigues, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
Rogério da Silva Veiga, Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, Brasil

Periodicidade: Quadrimestral.

Autor Corporativo:

Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais

Rua Dr. Mario Pinto Serva, 64, Bairro Casa Verde, São Paulo, Brasil

CEP: 02555-090 - CNPJ: 25.299.891/0001-50

CONTEÚDO

<i>Página</i> 214	Editorial Carlos Jorge Rocha Oliveira
Artigos Originais	
<i>Página</i> 215	DETERMINAÇÃO DE PH IDEAL PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE NO PROCESSO DE BIOTRANSFORMAÇÃO DE ESTEROIDES Cleiton Oliveira Leite, Jailson Cardoso dos Santos, Dalton Giovanni Nogueira da Silva
<i>Página</i> 225	INCREMENTO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA E ANTIOXIDANTE DE COSMÉTICOS CONTENDO EXTRATOS VEGETAIS DA CAATINGA Regina Guimarães de Sousa, Alessandra Dayane da Silva Lima, Ellison Neves de Lima
<i>Página</i> 231	ANÁLISE ACIDENTE EM BRUMADINHO - MINAS GERAIS - UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE BARRAGENS NA CONSTRUÇÃO CIVIL Beatriz Illipronti Laurino, Carla Tamires de Jesus Oliveira Preto, Cleber do Prado Ferreira Junior
<i>Página</i> 239	POLYMERIC NANOPARTICLES CONTAINING TITHONIA DIVERSIFOLIA (HEMSL) A. GRAY FLOWERS ALCOHOLIC EXTRACT AND COATED BY HYALURONIC ACID: DEVELOPMENT, SYNTHESIS, AND CHARACTERIZATION Fernanda Arriel Pedrozo Rezende, Anna Luiza de Aveiro Ruocco, Bruno Batista da Silva, Robson Miranda da Gama, José Armando-Jr, Marcelo Guimarães
Artigo de Revisão	
<i>Página</i> 249	MELALEUCA SPP ESSENTIAL OIL AND ITS MEDICAL APPLICABILITY. A BRIEF REVIEW Thaís Rossini de Oliveira, Anderson Laerte Teixeira, Janaina Priscila Barbosa, Simone N. Busato de Feiria, Giovana C. Boni ¹ , Flávia Maia, Paula Cristina Anibal, Gayan Kanchana Wijesinghe, José Francisco Höfling
<i>Página</i> 259	ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DO ALCALOIDE N, N – DIMETILTRIPTAMINA (DMT) Lilian Carvalho Machado, Renan Honorato da Cruz, Soraia Sayuri Higa, Thamires Raquel Barros Silva, Thamyras Cavalcante Lima, Robson Seriani

<i>Página</i> 268	ALIMENTOS COM AÇÃO FOTOPROTETORA: POSSÍVEL PREVENÇÃO NO CÂNCER DE PELE? Franciele Cristina Batista, Vanessa Yuri Suzuki, Lorena Dal Collina Sangiuliano, Heitor Carvalho Gomes, Renato Santos de Oliveira Filho, Carlos Rocha Oliveira, Lydia Masako Ferreira
<i>Página</i> 274	IMPACTO DOS MEDICAMENTOS BIOSSIMILARES UTILIZADOS NA IMUNOTERAPIA CONTRA O CÂNCER DE MAMA NO BRASIL Debora Queila Brandão Dias, Carina Rocha Souza Kudo, Prof. Dr. Daniel Moreno Garcia
<i>Página</i> 287	GERMINAÇÃO DE GRÃOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE COMO OS PROCESSOS BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS AFETAM O CONTEÚDO E O PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E SUAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES Gabriela Boscariol Rasera, Ruann Janser Soares de Castro

EDITORIAL

Numa sociedade em que se convive com a supervalorização do conhecimento científico e com a crescente intervenção da tecnologia no dia-a-dia, não é possível pensar na formação de um cidadão crítico à margem do saber científico. Mostrar a Ciência como um conhecimento que colabora para a compreensão do mundo e suas transformações, para reconhecer o homem como parte do universo e como indivíduo, é a meta que se propõe o Brazilian Journal of Natural Sciences (BJNS). Em apropriação desses conceitos e procedimentos acreditamos ser possível contribuir para o questionamento do que se vê e ouve, para a ampliação das explicações acerca dos fenômenos da natureza, para a compreensão e valoração dos modos de intervir na natureza e de utilizar seus recursos, para a compreensão dos recursos tecnológicos que realizam essas mediações, para a reflexão sobre questões éticas implícitas nas relações entre Ciência, Sociedade e Tecnologia.

As ciências naturais abarcam todas as disciplinas científicas que se dedicam ao estudo da natureza. Tratam dos aspectos físicos da realidade, ao contrário das ciências sociais, que estudam os fatores humanos. Pode-se mencionar cinco grandes ciências naturais: a biologia, a física, a química, a geologia e a astronomia.

Nesta edição o BJNS traz artigos que se entrelaçam com essas informações científicas e disponibiliza de forma clara a contribuição dos pesquisadores. Tenham uma boa leitura!

Carlos Jorge Rocha Oliveira
Editor Chefe

EDITORIAL

In a society in which there is an overvaluation of scientific knowledge and the growing intervention of technology in everyday life, it is not possible to think about the formation of a critical citizen on the margins of scientific knowledge. Showing Science as a knowledge that contributes to the understanding of the world and its transformations, to recognize man as part of the universe and as an individual, is the goal proposed by the Brazilian Journal of Natural Sciences (BJNS). In the appropriation of these concepts and procedures, we believe it is possible to contribute to the questioning of what is seen and heard, for the expansion of explanations about the phenomena of nature, for the understanding and valuation of the ways of intervening in nature and of using its resources, for the understanding of the technological resources that carry out these mediations, for reflection on ethical issues implicit in the relations between Science, Society and Technology.

The natural sciences encompass all scientific disciplines that are dedicated to the study of nature. They deal with the physical aspects of reality, unlike the social sciences, which study human factors. Five great natural sciences can be mentioned: biology, physics, chemistry, geology and astronomy.

In this edition, the BJNS brings articles that intertwine with this scientific information and makes the contribution of researchers clearly available. Have a good reading!

Carlos Jorge Rocha Oliveira
Editor-in chief

Artigo Original

DETERMINAÇÃO DE pH IDEAL PARA AUMENTO DE PRODUTIVIDADE NO PROCESSO DE BIOTRANSFORMAÇÃO DE ESTERÓIDES

Autores: Cleiton Oliveira Leite¹; Jailson Cardoso dos Santos¹; Dalton Giovanni Nogueira da Silva^{2,A}

¹Discentes do Curso de Farmácia, Faculdade Estácio de Carapicuíba, São Paulo, Brasil.

²Professor da Faculdade Estácio de Carapicuíba, São Paulo, Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:
Fermentação,
biotransformação, pH.

Resumo

O desenvolvimento dos esteroides é um dos mais fascinantes campos da medicina, química e microbiologia industrial, principalmente devido ao fato de vários esteroides discrepantes, como os ácidos biliares e os hormônios sexuais, dentre outros, serem essenciais para os processos biológicos. O termo de biotransformação ocorre devido ao processo em que substâncias como o fármaco, nutrientes, dejetos e toxinas dentro de um organismo passam por reações químicas, sendo geralmente medidas por enzimas, que as transforma em um composto contrário do insólito administrado. Para o tratamento de algumas doenças foi necessária a administração de esteroides ou hormônios, mas, devido a sua complexidade, a obtenção da forma sintética dessas moléculas é proibitivamente cara. Desencadearam-se então experimentos com biotransformação; isso pode ocorrer com a presença do microrganismo ou pode-se produzir a enzima através do crescimento do microrganismo e posterior extração. A maior vantagem da biotransformação em relação à síntese química é a seletividade e a economia de processos. Devido a gama de opções na biotransformação de esteroides passou-se a ser factível a obtenção de novas moléculas até então não existentes na natureza, o que proporcionou a criação de medicamentos melhores e com menos efeitos colaterais. Estudos feitos com uma cepa do fungo *Curvularia lunata* mostraram que o controle de pH é necessário para manter a enzima no melhor nível de produção, e que o máximo de crescimento do microrganismo foi atingido quando o pH foi controlado em 7,0. Posto isto, os resultados descobertos entre as condições experimentais foram paragonados as porcentagens do esteroide formado contra a porcentagem de esteroide de partida, pH, crescimento e esterilidade.

^AAutor correspondente:

Dalton Giovanni Nogueira da Silva – E-mail: dalton@dalton.pro.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7607-1612>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.79> - Artigo recebido em: 21 de outubro de 2019 ; aceito em 10 de fevereiro de 2020 ; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:

Fermentation,
bio-transformation, pH.

Abstract

The development of steroids is one of the most fascinating fields of medicine, chemistry and industrial microbiology, mainly due to the fact that many discrepant steroids, such as bile acids and sex hormones, among others, are essential for biological processes. The term biotransformation occurs due to the process in which substances such as the drug, nutrients, waste and toxins within an organism undergo chemical reactions, being generally measured by enzymes, which turns it into an opposite compound of the unusual administered. For the treatment of some diseases the administration of steroids or hormones has been necessary but due to their complexity, obtaining the synthetic form of these molecules is prohibitively expensive. Experiments with bio-transformation began; This may occur with the presence of the microorganism or the enzyme may be produced by microorganism growth and subsequent extraction. The biggest advantage of bio-transformation over chemical synthesis is selectivity and process economics. Due to the wide range of options in steroid bio-transformation, it was now feasible to obtain new molecules not previously found in nature, which led to the creation of better drugs with less side effects. Studies with a strain of the fungus *Curvularia lunata* showed that pH control is necessary to keep the enzyme at the best production level, and that the maximum growth of the microorganism was reached when the pH was controlled at 7.0. That said, the results found between the experimental conditions were compared to the percentages of the steroid formed against the percentage of starting steroid, pH, growth and sterility.

Introdução

A história do desenvolvimento dos esteroides é uma das mais fascinantes e destacadas no campo da medicina, química e microbiologia industrial. Principalmente devido ao fato de que vários esteroides diferentes, como os ácidos biliares, os hormônios sexuais, dentre outros, serem essenciais para os processos biológicos. Os sistemas biológicos obedecem às leis da química, sendo que o termo de biotransformação ocorre devido às modificações da estrutura química que são realizadas a temperaturas de 20 a 40°C, requerendo um significativo aporte energético e que, geralmente são realizadas em meio aquoso. Atualmente os microrganismos são utilizados como reativos químicos para a preparação de intermediários, ou para a produção econômica de produtos. Para o tratamento de algumas doenças era necessária a administração de esteroides ou hormônios e devido a sua complexidade, a obtenção de forma sintética dessas moléculas é proibitivamente cara. Iniciaram-se então experimentos com biotransformações, ou seja, transformação

com auxílio de um sistema enzimático gerado por microrganismos. Isso pode ocorrer com a presença do microrganismo ou pode-se produzir a enzima através do crescimento do microrganismo e posterior extração (CASTRO, H. F. et al., 2004).

A biotransformação é um processo biológico pelo qual um composto orgânico é modificado para um produto recuperável, mediante reações simples, quimicamente definidas, catalisadas por enzimas celulares. As biotransformações diferem das fermentações, nas quais os produtos, como antibióticos, enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos e solventes originam-se a partir de um complexo sistema Biosintética do metabolismo primário ou secundário. Outras transformações utilizadas atualmente em escala industrial, tem utilizado diferentes microrganismos (ANDRADE, J. S., PANTOJA, L., MAEDA, R. N., 2003).

A fermentação ou biotransformação, microrganismos podem ser usados para converter compostos a partir de outras estruturas para produtos de maior valor agregado. As células microbianas comportam-se como catalisadores quirais com grande especificidade

posicional e estereoespecificidade. Assim, processos microbiológicos são mais específicos que processos químicos, promovendo modificações ou removendo grupos funcionais em locais específicos numa molécula complexa. As reações catalisadoras incluem desidrogenação, oxidação, hidroxilação, desidratação e condensação, descarboxilação, aminação, deaminação e isomerização. Os processos microbianos têm ainda a vantagem sobre os processos químicos de operação em baixas temperaturas e pressões, (BAS-TOS, REINALDO GASPAR, EDUFSCAR, 2010).

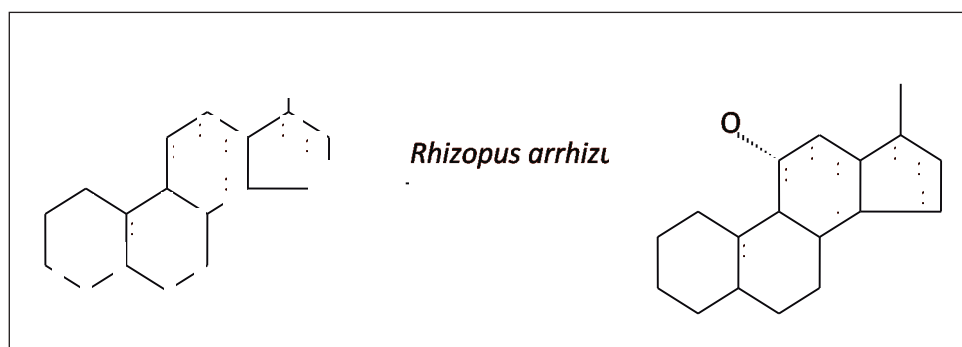
A maior vantagem da biotransformação em relação à síntese química é a seletividade e a economia de etapas. O que é feito facilmente com a biotransformação podem necessitar de mais de 30 reações químicas fazendo com que a viabilidade econômica não exista. Existe praticamente para cada reação orgânica um processo enzimático equivalente que tem como vantagens a quimiosseletividade, a regioseletividade,

a diastereosseletividade e a enantioseletividade, (FABER, 1997).

Devido a gama de opções na biotransformação de esteroides passou-se a ser factível a obtenção de novas moléculas até então não existentes na natureza, o que proporcionou a criação de medicamentos melhores e com menores efeitos colaterais. Estudos feitos com uma cepa do fungo *Curvularia lunata* mostrou que o controle de pH é necessário para manter a enzima no melhor nível de produção, e que o máximo de crescimento do microrganismo foi atingido quando o pH foi controlado em 7,0 (BANERJEE & SRIVASTAVA, 1992).

A hidroxilação é realizada pelas enzimas hidroxilases; no caso do fungo *Rhizopus arrhizus* a enzima é a 11 α -hidroxilase, esse nome é dado devido ao fato da hidroxila ser colocada na posição 11 do esqueleto esteroideal e com a configuração espacial aa-hidroxilase, conforme mostrado na figura 1.1.

Figura 1.1 - Hidroxilação realizada através de biotransformação.



Fonte: Autores

Material e Método

Preparação do meio de cultura:

Para realização do estudo, foi preparado meio de cultura, iniciando pela pesagem das matérias primas (meio de cultivo), pesando-se, em balança analítica, 0,600 kg de Dextrose, 0,150 kg de Peptona e 0,003 kg de Silicone, os matérias foram transferidos para um béquer de 2 litros contendo, 1 litros de água destilada, agitou-se a 100 rpm, com auxílio de agitação magnética, até dissolução das matérias primas. Após a completa dissolução o volume foi avolumado para 1,5 L com água destilada e aliqotado para 14 Erlenmeyer de 500 mL, sendo transferido 100 mL do meio de cultivo para cada Erlenmeyer. Posteriormente distribui-

ção do meio, os frascos foram numerados de 1 a 14.

Como o objetivo era avaliar o efeito do pH, tivemos de garantir que os frascos tivessem o seu pH controlado durante o experimento fermentativo, para isso foi efetuado, com a adição de soluções tampões 4,00, 7,00 e 9,00 nos frascos onde o pH necessitava ser controlado e nos frascos onde o pH deveria ser livre adicionou-se a mesma quantidade de água destilada para equivalência das concentrações dos nutrientes. Conforme descrito na **tabela 1**, foi adicionado a cada frasco, 10 mL da solução descrita na **coluna 2**.

Após a distribuição das soluções, os frascos foram fechados com tampão de gaze e esterilizados em autoclave a 121°C durante 30 minutos. A autoclavagem e aquecimento a 121°C durante 30 minutos a 1.02 atm. são processo mais eficaz, pois o seu poder de penetra-

ção é maior, numa atmosfera húmida e a uma temperatura elevada, os microrganismos morrem quando se dá a coagulação e desnaturação das enzimas e proteínas que fazem parte da sua estrutura. Este processo de eliminação de todos contaminantes é de extrema importância para o processo fermentativo, pois posteriormente realiza-se a inoculação do nosso microrganismo e para obtenção de bons resultados, deve-se ter somente o nosso microrganismo, caso todos os contaminantes não sejam eliminados, estes competiram com o nosso microrganismo *Rhizopus arrhizus*, desta forma interferindo no crescimento e na produtividade.

Tabela 1 – Distribuição de tampão em cada frasco, correspondendo às diferentes situações de crescimento de *Rhizopus arrhizus*.

Frasco	Solução a ser adicionada
01	Água destilada
02	Água destilada
03	Água destilada
04	Água destilada
05	Água destilada
06	Solução Tampão pH 4,0
07	Solução Tampão pH 4,0
08	Solução Tampão pH 4,0
09	Solução Tampão pH 7,0
10	Solução Tampão pH 7,0
11	Solução Tampão pH 7,0
12	Solução Tampão pH 9,0
13	Solução Tampão pH 9,0
14	Solução Tampão pH 9,0

Fonte: Autores

Inoculação e crescimento do fungo

Dois tubos de fungo *Rhizopus arrhizus* foram inoculados em fluxo laminar, um para o frasco 01 e outro tubo o frasco 02. Em seguida os tubos foram incubados em Scheker com agitação de 150 rpm e temperatura de 27° C por um período de 48 a 72 horas, tempo determinado para a adaptação e crescimento de microrganismo:

A. Crescimento microbiano: É normalmente associado ao crescimento de uma população de células de

um dado microrganismo, ou seja, aumento do número de células da população.

B. Incubadora Shaker: É um equipamento de laboratório responsável pela agitação de experimentos em temperatura controlada e proteger essa ação de fatores externos, promovendo assim a incubação, exerce um movimento orbital de forma contínua, pode se ter o efeito de aquecimento ou resfriamento. As substâncias são agitadas sem que haja contato com o ambiente externo. Não havendo interferência de elementos indesejados.

Após crescimento, foram misturados os conteúdos dos frascos 01 e 02 (inóculo), para homogeneizá-los, minimizando diferenças no inóculo dos frascos subsequentes e coletada amostra para realização de análise de esterilidade, pH e crescimento. Foi transferido 10 mL do inóculo dos frascos 01 e 02 para cada frasco, de 03 a 14 e posteriormente foram incubados por 24 horas sobre agitação de 150 rpm e temperatura de 27° C, sendo coletada amostras para análises de esterilidade, crescimento e pH. Após 24 horas de crescimento, foi adicionado 0,05 g/L de esteroide estéril (progesterona) em cada um dos frascos e posteriormente foram incubados por mais 48 horas (tempo de biotransformação) mantendo agitação de 150 rpm e temperatura de 27°C. Após 48 horas de transformação, os frascos foram retirados da incubadora e efetuado análise de esterilidade, crescimento e pH de cada frasco e avaliação da biotransformação.

Parâmetros físico e físico-químicos que devem ser considerados no processo de fermentação

O oxigênio: é um dos substratos gasosos mais importantes para o metabolismo microbiano. Não é um gás muito solúvel em água, sendo que uma solução saturada contém aproximadamente 9 mg O₂/L (25°C) e devido aos ingredientes do meio de cultivo a saturação é ainda menor. Portanto é necessário injetar ar no meio de cultura, através de aeradores, durante o processo fermentativo. O ar é injetado na parte inferior geralmente através de difusores para controlar o tamanho das bolhas. Pode-se dissolver centenas de gramas de glicose em água, mas a solubilidade do oxigênio a 1 atm. a 35°C é da ordem de 7mgO₂/L (7ppm). Desta forma de nada adianta colocar centenas de gramas por litro de glicose do meio de cultivo se não se consegue transferir oxigênio ao microrganismo numa velocidade suficientemente grande para suportar um

crescimento exclusivamente aeróbio (BERNARDES, T. F., et al., 2008). **Temperatura:** o controle de temperatura é efetuado através de camisa com circulação de água gelada e água quente, ligado a um termostato de acordo com o comportamento do microrganismo, sendo este um parâmetro muito importante, pois todos os microrganismos possuem uma temperatura ótima para o processo de biotransformação, uma temperatura alta ou baixa, irá alterar o metabolismo do microrganismo impactando assim na síntese do fármaco (VOLPE, P. L. O., 1997).

Esterilização: a esterilização de um meio de cultivo ou ambiente é a operação de eliminação de formas vegetativas e esporuladas de microrganismos. A esterilização difere da desinfecção pelo fato de que neste último processo ocorre o emprego de uma substância que destrói ou inibe o crescimento de certos microrganismos em determinados meios. Os agentes físicos entendem-se calor, filtração e radiação, como agentes químicos temos o emprego de ácidos, bases, sais, halogênios, álcoois, éteres e fenóis. A esterilização pelo calor seco é feita a temperatura de 160-170°C por duas horas, não sendo aplicados a meios de cultivos ou líquidos, mas na vidraria, no material de laboratório e no recheio dos filtros de ar. A esterilização com calor úmido é feita num ambiente de vapor saturado a 1 atm. de pressão ($T = 121^{\circ}\text{C}$) durante 15-20 minutos, condições suficientes para eliminação das formas mais resistentes, os esporos de bactérias. (BASTOS, REINALDO GASPAR, EDUFSCAR, 2010).

Agitação: Os processos microbianos conduzidos em aerobiose encontram uma situação de enorme destaque entre os cultivos microbianos de interesse industrial, incluindo a produção de antibióticos, enzimas, vitaminas, biomassa, proteínas recombinantes e tratamento biológico de águas residuárias, em todos esses casos há necessidade de um adequado dimensionamento do sistema de transferência de oxigênio, que compreende a operação de dissolução do oxigênio contido na fase gasosa para a fase líquida, em que ocorre o consumo pelos microrganismos. (BASTOS, REINALDO GASPAR, EDUFSCAR, 2010).

O pH: influencia a atividade enzimática interferindo na estabilidade dos grupos ionizáveis das enzimas, no sítio ativo e na conformação tridimensional das moléculas, O pH adequada propicia que os grupamentos do sítio ativo fiquem na forma química adequada para interagirem com o substrato. Em geral, as enzimas são ativas numa faixa limitada de pH e em

muitos casos existe um valor ótimo, (BASTOS, REINALDO GASPAR, EDUFSCAR, 2010).

O controle de pressão: está relacionado a uma das condições ideais de biotransformação do microrganismo. Caso exista uma pressão extrema dentro dos biorreatores, o microrganismo poderá ser afetado, não evoluindo de forma esperada para a produção do produto desejável.

Feed: Fonte de nutrientes, para manter a constância do crescimento do microrganismo, é possível identificar quando será necessário ser realizado esta adição, acompanhando os parâmetros acima, onde regras de monitoramento, tanto de pH, temperatura, vazão e aeração são fundamentais e indispensáveis para que se tenha o máximo de aproveitamento enzimático para alcançar o produto desejado (RODRIGUES, P. H. M., et al., 2004).

Análise de esterilidade, pH e PCV (volume de células compactadas)

Para confirmação da esterilidade, pH e PCV, foram realizadas as seguintes análises:

TSB: Tubos de caldo de soja tripticaseína, 9 mL de TSB mais 1 loop da amostra: transferência de alíquota da amostra em tubo de ensaio de maneira asséptica e incubação em estufa a uma temperatura entre 34,5 a 39,5°C, por 24 horas.

TSA: Estrias no meio em placa: semeadura da amostra em placa de petri de maneira asséptica e incubação em estufa a uma temperatura entre 34,5 a 39,5°C, por 48 horas.

MEA: Estrias no meio em placa: semeadura da amostra em placa de petri de maneira asséptica e incubação em estufa a uma temperatura entre 23 a 26°C, por 120 horas. Durante os experimentos realizados não foi evidenciado nenhum tipo de contaminação (ausência de microrganismo estranho).

PCV: transferência de 10 mL da amostra em tubo e centrifugação por 10 minutos a 900 rpm. Ao final da centrifugação avaliar o volume depositado no fundo do tubo, usando a escala de volumétrica do tubo, multiplicar o volume por 10.

Ex.: sólido depositado igual a $15 \times 10 =$ a 15% de PVC.

Nos experimentos realizados obteve-se todos os crescimentos acima da especificação de 20% para o microrganismo de interesse, os resultados obtidos encontram-se na tabela 03.

pH: inserir o eletrodo do pHmetro, devidamente calibrado, no frasco contendo a amostra, e registro do valor apresentado no visor do aparelho, assim que este valor se mostrar estável. os resultados obtidos encontram-se na **tabela 03**.

Análise da Biotransformação

Para avaliar o rendimento da biotransformação, foram transferidos 10,0 g do caldo fermentado de cada um dos frascos para béquer de 50 mL, posteriormente foram adicionados 10,0 g de metanol e cada um dos béqueres, em seguida agitou cada frasco por 10 minutos, após agitação, os conteúdos dos béqueres, foram filtrados em papel de filtro qualitativo. Após filtração as amostras foram analisadas para quantificação da biotransformação em HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance) Agilent, conforme método descritas abaixo:

Utilizou-se uma coluna de aço inox (250,0 mm x 4,6 mm) C-18 fase reversa e 5,0 mm tamanho de partícula, com a coluna a temperatura ambiente, a fase móvel utilizada foi acetonitrila/água (60:40), com um fluxo da fase móvel de 1,0 ml min⁻¹, o volume injetado foi de 2 microlitros, o detector utilizado foi VWD (comprimento de onda variável), com um comprimento de ondas de 242 nm.

Utilizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE; em inglês: High performance liquid chromatography, HPLC) por ser um método de separação

de compostos químicos em solução, a qual é utilizada na química analítica para identificar e quantificar cada componente em uma mistura, por ter boa sensibilidade, na separação de compostos não voláteis e termicamente estáveis.

RESULTADOS

Os resultados analíticos encontrados foram avaliados entre as condições do experimento. Foram comparadas as porcentagens do esteroide formado contra a porcentagem de esteroide de partida, pH, crescimento e esterilidade. Através da análise dos resultados analíticos nos cromatogramas, verificando-se os perfis cromatográficos avaliou-se o impacto da variação do pH para a biotransformação bem como para o crescimento do microrganismo. As cópias dos cromatogramas das respectivas análises encontram-se em anexo.

Na **tabela 2** encontramos os valores de porcentagem do esteroide formado e do esteroide de partida, e na **tabela 3** são apresentados os dados de crescimento, pH e esterilidade antes e após a biotransformação.

Podemos observar que os frascos sem controle de pH através de tamponamento do meio tiveram uma maior variação no pH após a biotransformação do que nos frascos tamponados. Observamos também que os maiores crescimentos foram encontrados nos frascos com pH livre e pH controlado em 7,0 assim como os melhores resultados de biotransformação.

Tabela 2 – Análise do esteroide de partida e formado por HPLC

Frasco	Condição de pH	% Esteroide formado			% Esteroide de partida		
		Individual	Média	Erro	Individual	Média	Erro
03	Livre	97,55	97,54	0,01	0,98	0,99	0,01
04		97,53			1,00		
05		97,53			0,99		
06	4	68,04	68,03	0,01	30,92	30,92	0,02
07		68,02			30,94		
08		68,04			30,91		
09	7	98,51	98,51	0,01	0,00	0,00	0,00
10		98,51			0,00		
11		98,52			0,00		
12	9	19,47	19,68	0,22	80,43	80,22	0,22
13		19,90			80,00		
14		19,68			80,22		

Tabela 3 – Dados de crescimento, pH e esterilidade antes da Biotransformação

Frasco	Condição de pH	Antes da Biotransformação					
		pH			% Crescimento		
		Individual	Média	Erro	Individual	Média	Erro
01 e 02	Inóculo	6,8	-	-	30	-	-
03	livre	6,7	6,7	0,1	28	28,7	0,6
04		6,6			29		
05		6,7			29		
06	4	4,0	4,0	0,1	25	26,3	1,2
07		4,1			27		
08		4,0			27		
09	7	6,8	6,9	0,1	30	29,3	0,6
10		7,0			29		
11		6,9			29		
12	9	8,7	8,8	0,1	20	20,0	2,0
13		8,9			18		
14		8,9			22		

Fonte: Autores

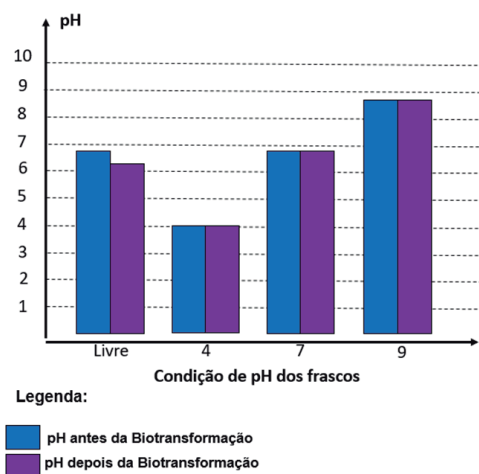
Tabela 4 – Dados de crescimento, pH e esterilidade após a Biotransformação

Frasco	Esterilidade antes da biotransformação	Após a biotransformação					
		pH			% Crescimento		
		Individual	Média	Erro	Individual	Média	Erro
01 e 02	Positivo	-	-	-	-	-	-
03	Positivo	6,2	6,1	0,1	25	25,3	0,6
04	Positivo	6,1			25		
05	Positivo	6,1			26		
06	Positivo	3,9	4,0	0,1	20	21,0	1,0
07	Positivo	4,1			21		
08	Positivo	3,9			22		
09	Positivo	6,8	6,9	0,1	27	26,3	1,2
10	Positivo	6,9			27		
11	Positivo	6,9			25		
12	Positivo	8,8	8,8	0,1	17	17,3	0,6
13	Positivo	8,8			17		
14	Positivo	8,9			18		

Fonte: Autores

O **gráfico 1** demonstra que sem controle de pH através de tamponamento do meio, a variação do pH após a biotransformação é maior do que nos meios tamponados.

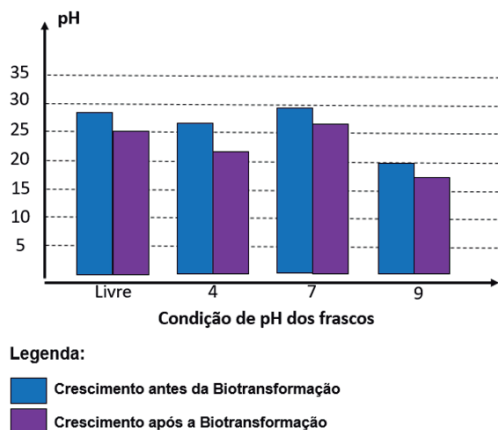
Gráfico 1 – Comparação de pH antes e após a biotransformação.



Fonte: Autores

Pode-se visualizar no **gráfico 2** que a menor variação de crescimento encontrada entre as amostras antes e após a biotransformação ocorreu nos frascos com controle de pH em 7,0. Cabe destacar que em todos os casos a diminuição do crescimento deve-se à curva de crescimento microbiano, onde o microorganismo já começa a entrar na fase de declínio ou desaceleração. Nas outras condições de pH livre, 4,0 e 9,0 a diminuição do crescimento foi mais intensa e isso provavelmente foi acentuado devido a um desvio do pH ótimo de crescimento do microorganismo.

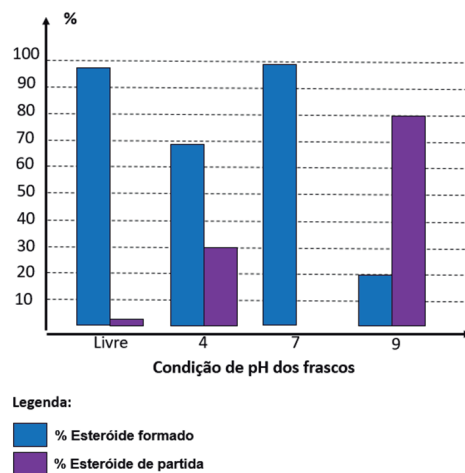
Gráfico 2 – Comparação de crescimento antes e após a biotransformação.



Fonte: Autores

No **gráfico 3** observamos que a melhor condição de biotransformação é a dos frascos com pH controlado em 7,0, onde todo o esteroide de partida foi consumindo e a condição menos favorável foi a de pH controlado em 9,0 onde menos de 20% do esteroide de partida foi transformado.

Gráfico 3 – Rendimento da biotransformação.



Fonte: Autores

Discussão

Os resultados apresentados no **gráfico 3** evidenciaram claramente que com o controle de pH em 7,0 a transformação é completa não restando nenhum esteroide de partida. Como mencionado anteriormente, o controle de pH faz com que tenhamos uma porcentagem de transformação mais eficiente do que os resultados obtidos sem controle de pH (tabela 3). Em contrapartida demonstrou-se também que mesmo com o controle de pH, existe uma faixa ótima de trabalho para que a transformação ocorra. O gráfico 3 evidências de que em pH fora dessa faixa a transformação não é completa. Em pH muito baixo ou muito alto o sistema enzimático fica prejudicado não tendo eficácia na biotransformação conforme os dados apresentados na **tabela 3**.

Segundo estudos realizados por Sukhodol e colaboradores (1984) ficou evidenciado que a biotransformação de esteroides pelo fungo *Curvularia lunata* não sofre alteração para variações de pH de 4,0 a 6,0. Hanc e colaboradores (1961) observaram que a biotransformação de esteroides pela cultura de *Absidia orchidis* tanto em condições ácidas (pH 4,0 a 5,0) quanto em condições alcalinas (pH 7,5 a 8,0) é

inibida. A **tabela 5** mostra os resultados obtidos neste experimento, a faixa de pH utilizada foi mais estreita que a utilizada no nosso caso, mas pode-se muito bem

ver que o pH ótimo para a transformação no caso de Hanc e colaboradores (1961) foi de 6,5.

Tabela 5 – O efeito do pH no curso da transformação de esteroide S (HANC et. al., 1961)

pH	Incubação em horas					
	15		20		24	
	Cortisol %	Epicortisol %	Cortisol %	Epicortisol %	Cortisol %	Epicortisol %
4,4	18,6	17,2	20,0	19,8	23,8	22,4
5,5	44,1	42,8	46,2	44,6	46,0	44,3
6,5	49,7	44,1	48,9	43,9	48,9	43,6
7,3	43,8	40,9	44,6	42,8	45,8	43,0
8,0	27,1	25,4	30,9	26,1	33,5	28,2

Hanc e colaboradores (1961) ainda verificaram que o metanol foi o solvente mais aceitável para a extração do esteroide do meio de cultura em comparação aos solventes etanol e acetona. Para o estudo deste experimento utilizamos o metanol nas extrações do esteroide.

Conclusão

Através das literaturas levantadas e testes realizados no laboratório para este estudo, é possível afirmar que o experimento evidenciou que o sistema enzimático pode ou não ser afetado pela alteração de pH, isso vai depender de qual é o microrganismo gerador das enzimas.

O uso de tampões no meio para o controle de pH garante que a enzima transforme todo o esteroide de partida, tendo, portanto, a melhor relação de transformação.

O melhor para conduzir o processo de biotransformação em *Rhizopus arrhizus* fazendo com que tenhamos o maior rendimento, foi para pH igual a 7,0. Cabe destacar que industrialmente o custo do tamponamento do meio para pH 7,0 pode ser, maior que o ganho em rendimento quando comparado com a condição de pH livre, podendo ser, mais rentável a biotransformação em pH livre. Para utilização em escala industrial, cabe um estudo de viabilidade econômica e também elaboração de uma análise de risco, levando em consideração que o controle do pH, sendo que para o controle em escala industrial será necessário a implementação de tanques adicionais para o ajuste durante o processo fermentativo (crescimento e biotransformação), aumentando os risco de contaminação por intermédio deste tanques adicionais. Podendo estes ajustes serem realizados com soluções

estéreis de base e ou ácidas. Pode ser observado também que após a transformação com a pH controlado em 7 o crescimento mantivesse maior em relação aos outros experimentos.

Nas outras duas faixas de pH devem ocorrer uma alteração na conformação tridimensional da enzima, fazendo com que não tenhamos um resultado satisfatório na biotransformação.

Referências

- AQUARONE E., BORZANI W. & LIMA U.A. **Biotecnologia – Tópicos de Microbiologia Industrial – volume 2**. 1ª edição. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., 1975.
- AQUARONE E., BORZANI W. & LIMA U.A. **Biotecnologia – Engenharia Bioquímica – volume 3**. 1ª edição. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., 1975.
- BASTOS, REINALDO GASPAR. **Tecnologia das fermentações: fundamentos de bioprocessos** / Reinaldo Gaspar Bastos. – São Carlos: EdUFSCar, 2010.
- CASTRO, H. F., MENDES, A. A., SANTOS, J.C., AGUIAR, C. L., 2004, **Modificações de óleos e gorduras por biotransformação, química nova, volume 27**, pág. 146-156.
- FABER K. **Biotransformations in Organic Chemistry A textbook**. 3ª edição. Alemanha: Ed. Springer, 1997.
- GUYTON A. C. & HALL J.E. **Fisiologia Humana e Mecanismos de Doenças**. 6ª edição. Rio de Janeiro:

Ed. Guanabara Koogan, 1998.

G. V. SUKHODOL'SKAYA, B. A. ANGELOVA and K. A. KOSCHEENKO, "Physiological and Biochemical Properties of a Culture of *Curvularia lunata* VKM F-644 with the Ability to Achieve 11 β -Hidroxylation of Steroid Substrates.

HANCE, O., CAPEK, A., KAKAC, B.: Transformation of steroid S (Reichstein) by *Absidia orchidis*. *Folia microbio.* 6:392, 1961.

LIMA U.A., AQUARONE E., BORZANI W. & SCHMIDELL W. **Biotecnologia Industrial – Processos Fermentativos e Enzimáticos – volume 3.** 1ª edição. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., 2001.

MARZZOCO A. & TORRES B.B. **Bioquímica Básica.** 2ª edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1999.

MORRISON R. T. & BOYD R. N. **Química Orgânica.** 13ª edição. Delaware: Ed. Addison-Wesley Iberoamericana, 1997.

MAJORS, R. E.; LC-GC Special Issue on Current Issues in HPLC Technology, May 1997, S8

O. HANC, A. CAPEK, and B. KAKAC, "Microbiological transformation of steroids. XV. Transformation of steroid S (Reichstein) by *Absidia orchidis* 310, *Folia Microbiol.*, 6, N° 6, 392-397 (1961).

SHELDON R. A. **Chirotechnology – Industrial synthesis of optically active compounds.** 1ª edição. New York: Ed. Marcel Dekker Inc.

RAVEN P.H, EVERT R.F. & EICHHORN S.E. **Biologia Vegetal.** 6ª edição. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara – Koogan, 2001. 906p.

RODRIGUES, P. H. M., ALMEIDA, L. F. S., LUCI, C. S., MELLOTTI, L., LIMA, F. R., 2004, **Efeitos da adição de inoculantes microbianos sobre o perfil fermentativo da silagem de alfafa adicionada de polpa cítrica**, revista brasileira de Zootecnia, volume 33, pág. 1643-1653.

TRABULSI L. R. & TOLEDO M. R. F. **Microbiologia.** 2ª edição. Rio de Janeiro: Ed. Atheneu, 1989.

VOLPE, P. L. O., 1997, **Estudo da fermentação alcoólica de soluções diluídas de diferentes açúcares utilizando microcalorimetria de fluxo**, Química nova, pág 20-25.

Artigo Original

INCREMENTO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA E ANTIOXIDANTE DE COSMÉTICOS CONTENDO EXTRATOS VEGETAIS DA CAATINGA

Autores: Regina Guimarães de Sousa¹, Alessandra Dayane da Silva Lima², Ellison Neves de Lima^{3,A}

¹Discente da Instituição Centro universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA localizada na Av. Portugal, 584 - Universitário, Caruaru - PE, 55016-400.

²Farmacêutica, Graduada na Instituição Centro universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA localizada na Av. Portugal, 584 - Universitário, Caruaru - PE, 55016-400.

³Professor Doutor em Ciências Farmacêuticas - Docente da Associação Caruaruense de Ensino Superior ASCES-UNITA localizada em Caruaru-PE.

Informações do artigo

Palavras Chave:
Protetor solar,
extratos vegetais,
radiação solar.

Resumo

A pele é o maior órgão que o homem possui, este tem como função proteger o nosso corpo. Os raios solares ao contato com a pele auxiliam na síntese de vitamina D, porém a exposição prolongada provoca danos a pele. Para isso foi realizado análises de atividade fotoprotetora e antioxidante dos extratos das plantas *Momordica charantia L.* e *Boerhavia diffusa*; Foi a avaliação da atividade antioxidante dos extratos utilizando do método de sequestrar os radicais livres de DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila, ao qual foi possível verificar que a *B. diffusa L.* apresentou atividade antioxidante, enquanto a *M. (charantia L.* mostrou se com atividade bem inferior; A atividade a atividade fotoprotetora teve como avaliação o método de Mansur, ao qual foi realizado a determinação de fotoproteção por espectrofotometria *in vitro*, onde foi determinado o fator de proteção solar (FPS) da incrementação dos extratos. Concluímos que os extratos em estudo apresentaram resultados satisfatórios para proteção solar, já para atividade antioxidante apenas a *B. diffusa L.* mostrou um bons resultados.

^AAutor correspondente:

Ellison Neves de Lima – E-Mail: ellisonlima@asces.edu.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1742-8364>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.83> - Artigo recebido em: 12 de dezembro de 2019; aceito em 15 de fevereiro de 2020; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Sunscreen,
plant extracts,
solar radiation.

Abstract

The skin is the largest organ that man has, its function is to protect our body. Sun rays on skin contact aid in the synthesis of vitamin D, but prolonged exposure causes damage to the skin. For this, photoprotective and antioxidant activity analyzes of the extracts of *Momordica charantia* L. and *Boerhavia diffusa* plants were performed; It was the evaluation of the antioxidant activity of the extracts using the DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) free radical scavenging method, which showed that *B. diffusa* L. showed antioxidant activity, while *M. charantia* L. showed much lower activity; The activity the photoprotective activity was evaluated by the Masur method, which was performed the photoprotection determination by in vitro spectrophotometry, where it was determined the solar protection factor (SPF) of the increment of the extracts. We concluded that the extracts under study showed satisfactory results for sun protection, whereas for antioxidant activity only *B. diffusa* L. showed good results.

Introdução

A pele é o maior órgão do ser humano, ao qual auxilia na produção de vitamina D quando em contato com os raios solares, todavia, a exposição prolongada sem proteção traz modificações na pele. A radiação ultravioleta pode provocar danos ao DNA, imunossupressão, alterações químicas e histológicas na epiderme, envelhecimento precoce, cataratas e carcinogênese, dentre outras deteriorações [1]. Essas modificações na pele causadas pelo sol causam muito transtornos aos indivíduos, atrapalhando em atividade cotidiana. Esses danos podem ser minimizados com o uso de protetores solares pela sua ação profilática e terapêutica [2].

O Brasil apresenta uma grande biodiversidade de plantas com poder fotoprotetor, onde seus princípios ativos extraídos possuem a capacidade de proteger a pele de fatores extrínsecos. Com isso, tem se realizado a incorporação destes ativos em produtos cosméticos para maximizar os resultados. Além disso, a cada dia o mercado vem crescendo pela busca por produtos que tenha propriedades de origem natural, onde esta matéria prima apresenta comprovação de estudos científicos, apresentando eficácia e segurança da sua efetividade [3].

Os filtros solares são agentes que, de acordo com a natureza química e as propriedades físicas dos ingredientes ativos, atenuam a ação das radiações Ultravioleta (UV) por mecanismos de absorção (orgânicos),

dispersão e reflexão (inorgânicos) [2]. As propriedades antioxidantes presentes nas plantas *Momordica charantia* L. e *Boerhavia diffusa* L., atuam na eliminação de radicais livres que promovem danos celulares ocasionados pelos raios ultravioletas, este auxiliando na prevenção do fotoenvelhecimento ocasionado por fatores externos.

A *Momordica charantia* L. popularmente conhecida como melão de São Caetano ou melãozinho, é uma trepadeira pertence à família Cucurbitaceae. O melão de São Caetano possui propriedade antioxidantes presentes principalmente em suas folhas. Os compostos fenólicos do *M. charanti* L., são extraídos por extração com solvente, onde foram relatados para exibir atividade antioxidante [4]. Efeitos fotoprotetores foram encontrados em um estudo, os resultados revelaram que o extrato metanólico de folhas da *M. charantia* L., reduzem efetivamente a produção de espécies reativas de oxigênio e previnem a morte celular em queratinócitos HaCaT irradiados com UVB [5].

Boerhavia diffusa L. é uma planta nativa do Brasil, sendo mais encontrado no norte e nordeste do país, pertence à família da *Nyctaginaceae* e conhecida popularmente como pega pinto ou erva tostão. Esta planta apresenta propriedades antioxidantes provenientes dos extratos de raiz e sua fração bioativa, de metanol e etanol, onde esta atividade protege contra os danos oxidativos ao DNA e inibição da α -amilase [6]. A presença de altos compostos fenólicos e flavonóides na *B. diffusa*, faz com que esta apresente eleva-

do grau de fotoproteção.

Devido a maioria dos filtros solares serem de origem sintética, verificou-se a necessidade de verificar o potencial incremento em formulações cosméticas, utilizando os extratos de *Boerhavia diffusa* L. e *Momordica charantia*, analisando a atividade antioxidante, o comprimento de onda crítico e o incremento da atividade fotoprotetora.

Material e método

As plantas foram coletadas em Pernambuco, no Município Brejo da Madre de Deus, onde se realiza o projeto Farmácia Viva. Em seguida foram levadas para o laboratório escola da ASCES-UNITA, ao qual, as partes que foram utilizadas.

Obtenção de extrato etanólico

A extração foi realizada com as folhas da *Momordica charantia* e as raízes da *Boerhavia diffusa* L., estas foram limpas em água corrente, e secas em estufa a 40 °C. Após esse período, o material foi triturado. Em seguida o material será macerado e adicionado álcool etílico durante (90°GL) 07 dias, na proporção de 1:5, em temperatura ambiente. Logo após, foi submetido à evaporação lenta, em temperatura de 40° C, sob pressão reduzida, em evaporador rotativo.

Avaliação da atividade antioxidante

Para determinar a atividade antioxidante utilizou-se o método de sequestrar os radicais livres de DPPH (0,5mM) utilizando 1 ml na solução, onde ocorre a transferência de elétrons através da ação antioxidante, este deslocamento atribui à molécula uma coloração violeta a amarelo pálido, utilizando como amostra padrão BHT na concentração de 25 a 200 µg.mL⁻¹, mesma concentração utilizada com os extratos, após 30 minutos, foi realizada a leitura em espectrofotometria de $\lambda = 517 \text{ nm}$.

A partir dos resultados obtidos através do cálculo, estes foram adicionados e analisados através do programa estatístico Microcal Origin® v6.0. Através deste software foi observado a regressão linear dos extratos de acordo com as diferentes concentrações e (AS %) percentagem dos radicais [7].

Avaliação do comprimento de onda crítico

A avaliação do comprimento de onda crítico tem por objetivo avaliar o comprimento de onda que o extrato consegue absorver. Para isso foram realizadas diluições dos extratos a 50mg.L⁻¹, seguido de varredura entre λ 290 a 400nm em triplicata, com isso verifica-se a absorção ultravioleta (UVA e UVB), utilizando álcool etílico absoluto como branco [8].

Incremento da atividade fotoprotetora

Para avaliar a qualidade dos produtos cosméticos contendo filtros solares utilizou-se o método de Mansur, onde este irá realizar a determinação de fotoproteção por espectrofotometria *in vitro*, realizada de forma simples por cálculos matemáticos. Concentrações de 1% e 5% dos extratos das plantas *Boerhavia Diffusa* e *Momordica Charantia*, foram incorporadas em formulações tópicas na forma de gel com. As formulações foram diluídas a 0,2µg.mL⁻¹, seguido de varredura entre λ 190 a 400nm [9].

Após a varredura no espectrofotômetro de absorção, com os resultados foram obtidos, foi analisado o FPS com a fórmula matemática de Mandur [10] : $FPS = Fc \cdot \sum_{290}^{320} EE.I. Abs.$

Onde: FC= fator de correção igual a 10. EE(λ)= efeito eritemogênico da radiação solar em cada comprimento de onda (λ) nm. I(λ)= intensidade da radiação solar em cada comprimento de onda (λ)nm. Abs = absorbância do comprimento de onda (λ) da solução de filtro solar.

Resultados e discussão

Avaliação da atividade antioxidante

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante dos extratos foram expressos na **tabela 1**, mostrando as concentrações das amostras, a absorbância e o desvio padrão de cada concentração dos extratos comparados com o padrão.

Os resultados deste teste foram expressos no **gráfico 1**, ao qual pode-se observar a correlação linear (R) entre a concentração e a atividade antioxidante, comparando-se o hidroxitolueno de butila (BHT- 2,6 Di-tert-butyl-4-methylphenol) e os extratos. Sendo que o pega-pinto obteve maior coeficiente angular (a), ou seja, atividade antioxidante semelhante ao BHT . Tal atividade deve-se ao teor de compostos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos [7].

Tabela 1.

	BHT		Pega-pinto		Melão-de-São-Caetano	
Conc.	Abs	DP	Abs	DP	Abs	DP
25	0,599	0,02	0,972	0,223	0,889	0,012
50	0,501	0,029	0,613	0,092	0,870	0,037
100	0,359	0,015	0,326	0,033	0,829	0,104
200	0,170	0,045	0,129	0,010	0,773	0,065

Tabela 1 - Resultados obtidos após a leitura espectrofotométrica; Conc. = concentração em $\mu\text{g.mL}^{-1}$; Abs = absorbância; DP = desvio padrão. Dados dos autores

Gráfico 1.

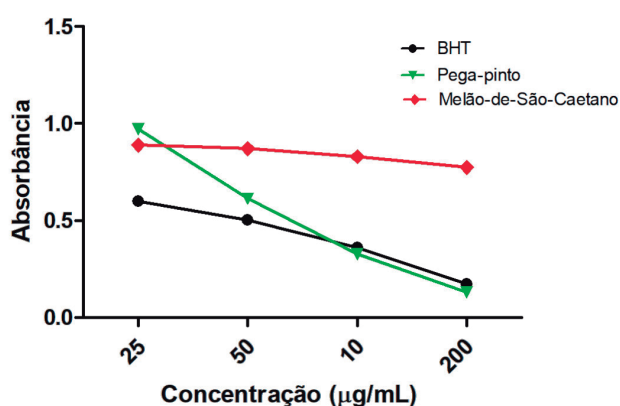


Gráfico 1 - Regressão linear dos extratos em comparação ao BHT – Dados dos autores

Tabela 2.

Produto	R	a
BHT	0,978	-0,0024
Pega-pinto	0,936	-0,004
Melão-de-São-Caetano	0,99	-0,0007

Tabela 2 - Valores de regressão linear dos produtos. R= correlação linear; a= coeficiente angular. Dados dos autores

Avaliação do comprimento de onda crítico

Na avaliação do comprimento de onda crítico, os resultados obtido durante a leitura em espectrofotometria foram calculadas no **gráfico 2** para *Boerhavia diffusa* L. e o **gráfico 3** para *Momordica charantia* L., observando – se que os dois extratos apresentaram boa absorção para a luz UV-A. No entanto a RDC 30 de Junho de 2012 diz que o comprimento de onda

Tabela 3.

Conc.	BHT vs Pega-pinto	BHT vs Melão-de-São-Caetano
	Valor de P	Valor de P
25	P<0.001	P<0.001
50	P > 0.05	P<0.001
100	P > 0.05	P<0.001
200	P > 0.05	P<0.001

Tabela 3 - ANOVA Two-way entre o controle (BHT) e extratos. Dados dos autores

crítico mínimo deve ser de 370 nm , para que um filtro solar seja indicado como adequado na proteção à radiação UV-A e UV-B.

Gráfico 2.

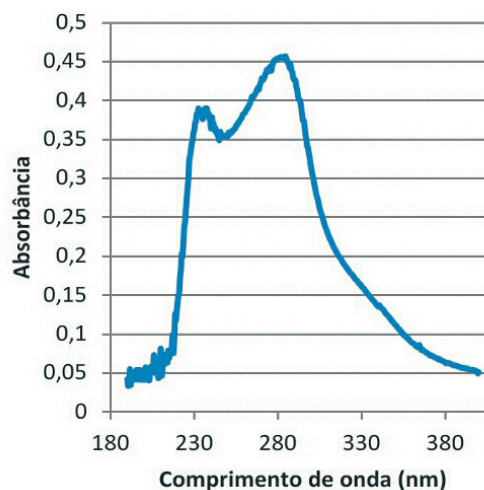
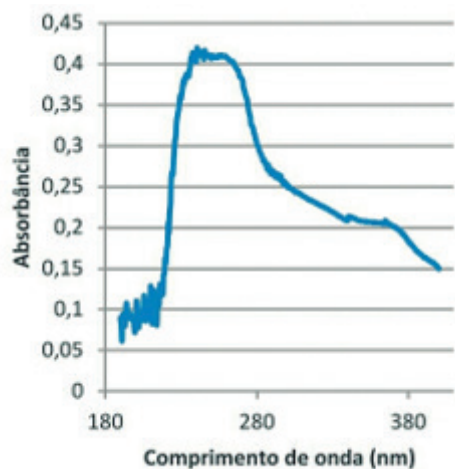


Gráfico 2 - Comprimento de onda crítico da *Boerhavia diffusa* L. Dados dos autores.

Gráfico 3.

Gráfico 3- Comprimento de onda crítico da *Momordica charantia* L. Dados dos autores

Os extratos das plantas analisadas apresentaram os seguintes comprimento de onda crítico: Para *Momordica charantia* L. : 385 nm; Para *Boerhavia diffusa* L. : 327 nm. Desata forma, os extrato que apresenta um bom resultado para fotoprotetor segundo a RDC 30/12, será apenas o *Momordica charantia* L. No entanto, o comprimento de onda crítico não leva em consideração a intensidade de todo espectro, possibilitando que um filtro com proteção inferior possa apresentar mesmo valor de λ_c que outro, com proteção superior [11]. Concomitante a isto, observamos no imagem 3 que a *Boerhavia diffusa* L. apresentou área sobre a curva com boa intensidade de espectro, possibilitando um bom resultado de filtro solar para UV-A.

Incremento da atividade fotoprotetora

Os resultados obtido após a leitura das incorporações dos extratos vegetais em formulações tópicas na forma de gel diluídas, estão presentes no **gráfico 4** e na **tabela 4**, mostrando que apenas a incorporação do extrato de Pega-pinto (PP) a 1% obteve baixa atividade fotoprotetora assim como o gel puro, as demais obtiveram bons resultados, sendo que o PP a 5% obteve o maior FPS.

A atividade fotoprotetora depende da capacidade de absorção de energia UV, compostos aromáticos, com par de elétrons livres, que possuem essa atividade. De acordo com a literatura, confirmam a presença destes compostos nos produtos vegetais [8,9].

Gráfico 4.

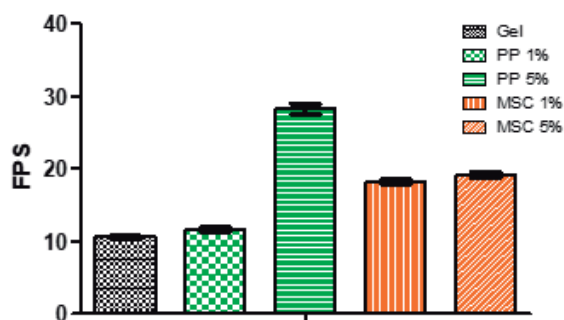


Gráfico 4 - FPS de cada gel protetor sem e com os extratos com a porcentagem de 1% e 5%. Dados dos autores

Tabela 4.

Formulação	FPS	DP	P < 0.05?
Gel	10,57	0,27	-
Gel PP 1%	11,66	0,30	Não
Gel PP5%	28,24	0,74	Sim
Gel MSC 1%	18,25	0,34	Sim
Gel MSC 5%	19,16	0,41	Sim

Tabela 4 - Resultados do incrementos dos extratos após a leitura; FPS=fator de Proteção Solar; DP= desvio padrão. Dados dos autores.

Conclusão

Com estas avaliações realizadas concluiu-se que esses extratos vegetais possuem bons resultados para atividades antioxidante e fotoprotetora. Para atividade antioxidante apenas a *Boerhavia diffusa* L. apresentou resultado semelhante ao BHT, para avaliação do comprimento de onda crítico apenas *Momordica charantia* L. apresentou um bom resultado para fotoprotetor segundo a RDC 30 de Junho 2012. A avaliação do incremento dos extratos vegetais em formulações tópicas na forma de gel diluídas, apenas o extrato de Pega-pinto a 1% apresentou baixo resultado.

Referências

- Balogh TS, Velasco MVR, Pedriali CA, Kaneko TM, Baby AR. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia** [Internet].

FapUNIFESP (SciELO); 2011 Aug;86(4):732-42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000400016>

2. Ferreira FR, Costa Nascimento LF, Rotta O. Fatores de risco para câncer da pele não melanoma em Taubaté, SP: um estudo caso-controle. **Revista da Associação Médica Brasileira** [Internet]. Elsevier BV; 2011 Jul;57(4):431-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302011000400018>

3. Ferrari M, Oliveira MSC, Nakano AK, Rocha-Filho PA. Determinação do fator de proteção solar (FPS) in vitro e in vivo de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Brasileira de Farmacognosia** [Internet]. Elsevier BV; 2007 Dec;17(4):626-30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2007000400023>

4. BUDRAT, Parichat; SHOTIPRUK, Artiwan. Extraction of phenolic compounds from fruits of bitter melon (*Momordica charantia*) with subcritical water extraction and antioxidant activities of these extracts. **Chiang Mai J Sci**, v. 35, n. 1, p. 123-130, 2008.

5. TSAI, Tsung-Hsien et al. Antioxidant, cell-protective, and anti-melanogenic activities of leaf extracts from wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) cultivars. **Botanical studies**, v. 55, n. 1, p. 78, 2014.

6. AKHTER, F. et al. Antioxidant, α -amylase inhibitory and oxidative DNA damage protective property of *Boerhaavia diffusa* (Linn.) root. **South African Journal of Botany**, v. 88, p. 265-272, 2013.

7. ORLANDA JF, VALE VV. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** [Internet]. FapUNIFESP (SciELO); 2015;17(4 suppl 1):730-6. Available from: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/14_012

8. VIOLANTE IMP, SOUZA IM, VENTURINI CL, RAMALHO AFS, SANTOS RAN, FERRARI M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia** [Internet]. Elsevier BV; 2009 Jun;19(2a):452-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2009000300020>

9. CÉSAR DE SOUSA, Bráulio. **Anacardium occidentale: avaliação do efeito fotoprotetor e conservante em preparações cosméticas**. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

10. MANDUR JS, BREDER MNR, MANSUR MCA, AZULAY RD. Correlação entre a determi-

nação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. **An Bras Dermatol**. 1986; 61(4):121-24.

11. VELASCO, Maria Valéria Robles et al. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro)-revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

Artigo Original

ANÁLISE ACIDENTE EM BRUMADINHO - MINAS GERAIS - UTILIZAÇÃO DE REJEITOS DE BARRAGENS NA CONSTRUÇÃO CIVIL

Autores: Beatriz Illipronti Laurino¹, Carla Tamires de Jesus Oliveira Preto¹, Cleber do Prado Ferreira Junior^{2,A}

¹Acadêmicas da Faculdades Metropolitanas Unidas, Engenharia Civil, São Paulo, SP, Brasil.

²Professor da Faculdades Metropolitanas Unidas, Engenharia Civil, São Paulo, SP, Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:

Barragem; Brumadinho;
Materiais de Construção;
Utilização de Rejeitos.

Resumo

Barragens de rejeitos são reservatórios feitos com o objetivo de reter água e resíduos sólidos resultantes da extração de minérios para que evite danos ambientais. No Brasil, existem centenas e apesar de toda tecnologia envolvida, rompimentos continuam acontecendo e trazendo enormes prejuízos ambientais e sociais para a população. Um exemplo recente é o caso da barragem do Córrego do Feijão, localizada no município de Brumadinho, em Minas Gerais, que no dia 25 de janeiro de 2019 desmoronou resultando em um enorme desastre industrial, humanitário e ambiental impactando diretamente todos os habitantes da cidade, trazendo um número grande de vítimas fatais, desaparecidos e desalojados, além de diversos animais mortos, solo e rios contaminados pelos rejeitos de minério. O rejeito de minério de ferro pode ser considerado uma matéria-prima, visto que se torna um produto sustentável e que atende aos requisitos técnicos exigidos pelas normas brasileira e internacional. São diferentes em suas características fazendo com que altere sua função e antes de usá-lo como uma alternativa de reaproveitamento são necessários alguns estudos e testes de ensaio em amostras de materiais de construção para avaliar qual a melhor forma de utilizá-lo. Através de diversas pesquisas e experimentos foram descobertas formas de reuso desse material na construção civil, como por exemplo em blocos cerâmicos. Dessa forma, através desse artigo buscamos uma alternativa para a redução dos passivos ambientais representados por essas barragens de rejeito, diminuindo consideravelmente o volume a ser represado nas barragens. Dar uma destinação para esses rejeitos será uma solução ambiental bastante satisfatória entre outras.

^AAutor correspondente:

Cleber do Prado Ferreira Junior² - E-mail: cleber.ferreira@fmu.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1691-1733>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.86> - Artigo recebido em: 04 de fevereiro de 2020 ; aceito em 17 de fevereiro de 2020; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Sunscreen,
plant extracts,
solar radiation.

Abstract

Tailings dams are reservoirs made to retain water and waste subject to mineral extraction to avoid environmental damage. In Brazil, there are hundreds and despite all the technology involved, disruptions continue occur and cause enormous environmental and social damage to the population. A recent example is the bean dam located in municipality of Brumadinho, Minas Gerais, which on January 25, 2019 collapsed resulting in a huge industrial, humanitarian and environmental disaster directly impacting all the inhabitants of the city, bringing a large number of fatalities, missing and desalinated, and several dead animals, soil and rivers contaminated by ore tailings. Iron ore tailings can be considered as a raw material as it becomes a sustainable product that meets the technical requirements of Brazilian and international. They are different in their characteristics making change their function and before use as a reuse alternative are tests some trials and tests on building materials to evaluate how to best use it. Through this article, we seek an alternative to reduce the environmental liabilities represented by these tailings' dams, considerably reducing the volume to be dammed in the dams. Giving these wastes a destination will be a very satisfactory environmental solution, among others.

INTRODUÇÃO

O manual de segurança e inspeção de barragens define barragem de rejeitos como um barramento construído com a finalidade de reter rejeitos ou materiais estéreis de mineração e de outros processos industriais [1].

Existem no Brasil diversos barramentos destinados a diferentes usos. Recentes acidentes envolveram barragens de rejeitos de mineração, o que desperta atenção para essas estruturas [2].

As barragens de rejeitos são das maiores estruturas geotécnicas terrestres construídas [3] e são reconhecidas por gerarem grande impacto ambiental [2]. São usadas para o depósito dos resíduos e água gerados a partir do processo de mineração [4] que funcionam como uma barreira que pode ser feita de solo compactado, blocos de rocha ou rejeito. Conforme são depositados, acomodam-se ao fundo, deixando a água na parte superior para então ser tratada e ter parte reutilizada para o processo de mineração e parte ser devolvida ao meio ambiente [5].

Rejeito é o material proveniente de beneficiamento do minério, do qual já foi retirada a parte economicamente importante [6]. Por gerarem grande impacto ambiental e não possuírem valor comercial, as em-

presas optam por descartar os rejeitos da forma mais econômica, ou seja, como material para a construção da própria barragem, minimizando os impactos ambientais resultantes [7].

Algumas das barragens atendem as normas de segurança compatíveis com os padrões internacionais exigentes, entretanto muitas ainda permanecem sem fiscalização necessária, o que faz com que estejam sujeitas a ultrapassagem de níveis de segurança, enchentes, entre outros fatores que podem resultar em rompimento da estrutura causando prejuízos ambientais, econômicos e sociais. Uma razão para as falhas é o não seguimento dos critérios adequados de projeto, construção e operação. Essas falhas vêm custando vidas, além de todo impacto ambiental causado [2].

Passados pouco mais de três anos do caso da barragem de Mariana, outra eclosão aconteceu em Minas Gerais, dessa vez em Brumadinho. A barragem Córrego do Feijão da empresa Vale, em 11 de Dezembro de 2018 teve a licença para ampliação da capacidade de produção da barragem de 10,6 milhões de toneladas para 17 milhões de toneladas por ano. A licença foi dada pelo Conselho Estadual de Política Ambiental (COPAM), da Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável de Minas (Semad) [8]. Após 42 dias, em 25 de Janeiro de 2019 a barragem foi palco

para o desmoronamento que lançou lama e dejetos, alcançando moradias e pousadas, além da área rural 290 hectares foram atingidos e as mais de trezentas vidas que foram tiradas [9].

Estudos feitos através dos rejeitos de minério de ferro indicam a possibilidade de reutilização dos mesmos na construção civil, sejam em asfaltos, blocos cerâmicos, argamassas, entre outros, de forma que o volume de rejeitos seja diminuído visando à preservação do meio ambiente.

Material e Método

A pesquisa tem como objetivo mostrar uma solução para barragens de rejeitos que estão em estado de alerta. Sendo assim, foram realizadas diversas pesquisas de artigos buscados na internet junto com uma análise comparativa de rejeito de minério de ferro, argila cinza e argila amarela, para que fosse comprovada a eficiência de utilização de tal material na execução de blocos cerâmicos na construção civil.

Sistema da Barragem I do Córrego do Feijão

O Sistema Córrego do Feijão faz parte do Complexo Minerador Paraopebas, de propriedade da Vale, sendo constituído pelas Barragens I e VI.

A Barragem I da Mina do Feijão foi implantada em 1976 com o intuito de contenção de rejeitos finos e provenientes do beneficiamento de minério. O sistema está localizado na Mina do Feijão, Alto do Curso da Bacia do rio Paraopebas, nas cabeceiras do ribeirão Ferro-Carvão, afluente pela margem direita do Paraopebas, em terras do município de Brumadinho, Minas Gerais.

Foi construída sobre solo rochoso com boa capacidade de suporte e permeabilidade baixa. Os aterros do 4º ao 9º alteamento foram construídos pelo método de montante, que é o mais antigo, simples e econômico para a construção de barragens [2]. Neste método a estrutura do barramento é iniciada a partir de um dique, construído com materiais de boa qualidade como enrocamento ou material argiloso compactado [10].

A barragem tinha o seu monitoramento através da leitura periódica de piezômetros sandpipe ou Casa-grande, indicadores de nível d'água, inclinômetros e medidores de vazão e de percolação. Através da leitura, os dados eram lançados em tabela e gráficos para comparação com os níveis de segurança estabelecidos em premissa: atenção, alerta emergência.

Qualquer barragem é apenas um meio para se atingir o objetivo principal do empreendimento: a criação de um reservatório. Desse modo, é de vital importância a escolha do local onde se pretende construir uma represa. Devem ser levados em consideração os aspectos geológicos, topográficos, climáticos, biológicos, socioeconômicos, etc [11].

No conceito técnico, deve-se ter ciência da importância do projeto, dos materiais utilizados na construção e as necessidades de segurança que a barragem precisará, tendo em mente que com o passar dos anos é comum o aparecimento de trincas, erosão nas estruturas assoreamento e perda de resistência [11].

Ecologicamente falando, a construção de barragens rompe o equilíbrio natural que existe na região. Grandes reservatórios têm grande influência no meio ambiente, alterando até mesmo o clima da região por conta do contato rejeito-ar e rejeito-solo, causando também maiores taxas de evaporação e vapo-transpiração aumentando a umidade do ar. É possível até mesmo ocorrerem cheias trágicas colocando em risco a região e a própria barragem [11].

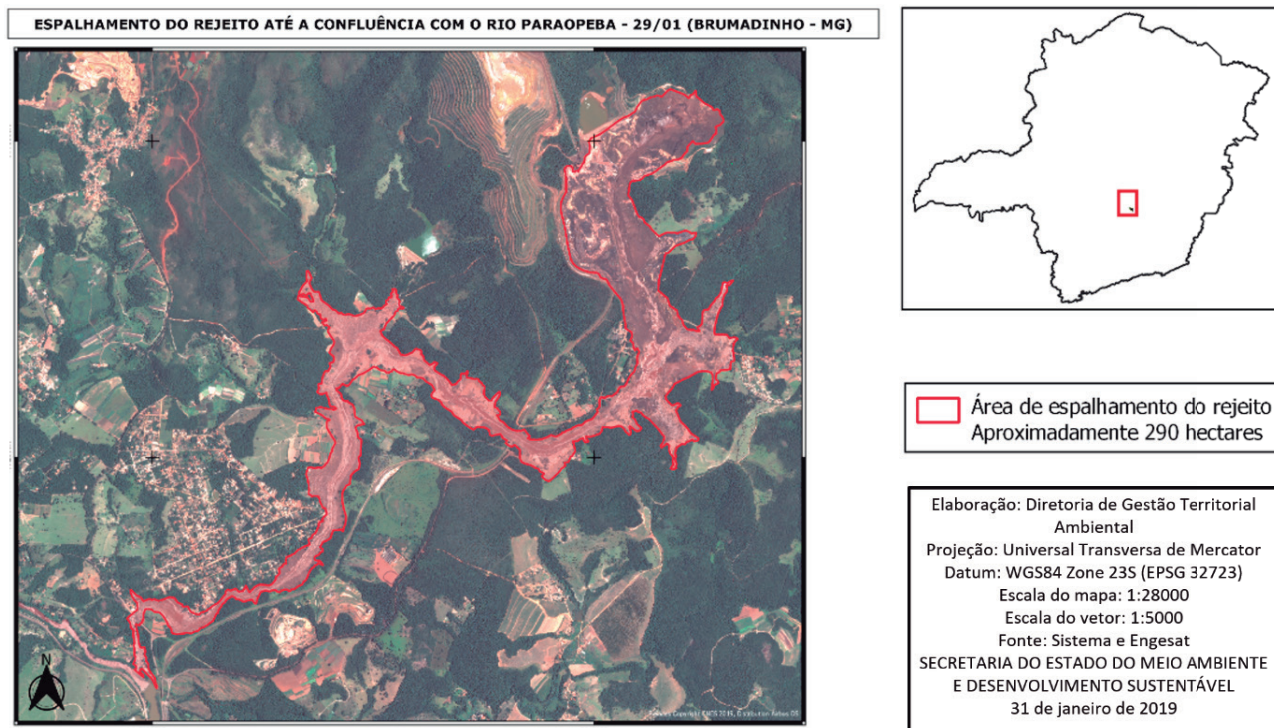
Rompimento da Barragem

A barragem que estava inativa desde 2015 e armazenava 12 milhões de metros cúbicos de lama de rejeitos da mineração de ferro chegou a romper em 25 de Janeiro de 2019 espalhando rejeitos até confluência do rio Paraopeba, como mostrada na **Figura 1**.

Analisando dados do Serviço Geológico do Brasil (CPRM), nota-se que após o rompimento em 25 de Janeiro a velocidade de escoamento dos rejeitos era de 1 km/h fazendo com que chegasse a uma distância de aproximadamente 96 km, na cidade de São José da Varginha em 29 de Janeiro.

As chuvas que ocorreram após uma semana do rompimento levaram os rejeitos até o rio Paraopeba tornando a água imprópria para uso. Foram inviabilizados os serviços de captação de águas nesse rio para o abastecimento de grandes cidades, como por exemplo, Pará de Minas e Belo Horizonte, prejudicando muitos agricultores que não tinham mais como irrigar suas plantações [12].

A tragédia contabilizou aproximadamente 300 vítimas. Além disso, a contaminação da água por elementos químicos nocivos à saúde, em um mês já havia avançado cerca de 250 quilômetros no rio Paraopeba, atingindo pelo caminho 16 municípios [13].

Figura 1 – Espalhamento do rejeito até a confluência com o rio Paraopeba**Figura1.** Fonte: Secretaria de Estado de Meio-Ambiente e Desenv. Sustentável - 29/01/2019 - SEMAD

Os 12 milhões de metros cúbicos de lama devem elevar o transporte de sedimentos ao longo do tempo [14] causando assoreamento do leito e barragens de hidrelétricas dos rios Paraopeba e São Francisco, além da contaminação dos mananciais subsuperficiais. A fauna e flora foram atingidas, pois 51% da área atingida são ecossistemas naturais ricos em biodiversidade, dos quais mais de 65% (98,18 ha) eram matas em estágio ecológico avançado.

Segundo médicos entrevistados pela BBC News Brasil, 13 elementos químicos foram identificados na lama entre eles níquel, magnésio e cádmio que mesmo em quantidades pequenas podem ser prejudiciais à saúde. Por ser uma barragem antiga pode ser altamente tóxica e não é possível medir a concentração atual destes componentes no solo.

Os rejeitos que chegam aos rios contaminam a fauna e flora, afetando a cadeia alimentar, mas os resultados só poderão ser percebidos daqui a décadas.

Reaproveitamento de Rejeitos de Barragem na Construção Civil

Os rejeitos de minério de ferro são diferentes em suas características, variando em função do proces-

so de beneficiamento do minério, do tipo de minério bruto ou mesmo da variabilidade das frentes de lavra e da sua posição na barragem de rejeito [15].

As mudanças nas características devido ao processo de beneficiamento se dão em função do local que são destinados, tamanho das partículas, entre outros fatores [6]. Segundo Lopes [16] existe influência do teor do ferro no comportamento mecânico dos rejeitos. A proporção entre o ferro (>) e a sílica (<) implica diretamente no peso específico dos grãos.

Os rejeitos granulares formados por grãos de areias finas a médias, não plásticas, possuem alta permeabilidade e apresentam baixa compressibilidade, enquanto as lamas formadas por partículas de grãos de siltes e argilas, possuem alta plasticidade, difícil sedimentação e alta compressibilidade [15].

Em estudos sobre os rejeitos de minério de ferro do estado de Minas Gerais realizados por Nery [17] por meio de análise fluorescente de raio X, obteve resultados que mostraram que as partículas finas de rejeito não são tóxicas e apresentam estrutura cristalina estável, inerte, sem presença de substâncias infecciosas ou expansivas [17]. A partir de testes notou que é possível incorporar um teor considerável de minério de ferro na fabricação de blocos cerâmicos de veda-

ção. Para garantir que os blocos sejam aplicados na construção civil sem causar efeitos negativos tanto no meio ambiente quanto na sua utilização na construção, são realizados ensaios de caracterização ambiental. O rejeito de minério de ferro é composto por sílica e óxido de ferro com partículas de diversos formatos e tamanhos similares, o que permite adição do rejeito.

Na **tabela 1**, nota-se que o rejeito de minério

de ferro por conta da sua não plasticidade pode ser considerado um silte arenoso já que possui pequena parcela de argila. Além disso, comparando o limite de plasticidade temos outra vantagem, pois quanto maior o limite, maior a dificuldade de secagem dos corpos de prova o que acarreta problemas na secagem e queima [17].

Tabela 1 – Frações granulométricas

Material	Argila (%)	Silte (%)	Areia fina (%)
Rejeito de mineiro de ferro (RMF)	11,90	49,50	38,60
Argila Cinza (AC)	62,40	30,10	7,50
Argila Amarela (AA)	43,60	20,80	35,60

Fonte: Mendes, 2019 [17]

Tabela 2 – Características físicas

Material	Massa Específica dos Sólidos (g/cm ³)	Diâmetro Médio	Limite de Liquidez	Limite de Plasticidade	Índice de Plasticidade
Rejeito de minério de ferro	2,933	47	0	0	0
Argila cinza	2,609	< 1	60	44	16
Argila amarela	2,748	1,8	56	35	21

Fonte: Mendes, 2019 [17]

Tabela 3 – Composição química obtida por FRX* das matérias primas

Material	Sio ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	CaO	MgO	K ₂ O	P ₂ O ₅	Outros	PF**
Composição química (%)										
Rejeito de minério de ferro	63,091	7,169	25,792	0,280	0,201	0,122	0,319	0,392	0,256	2,279
Argila cinza	44,293	32,531	4,624	1,921	0,443	0,086	0,265	0,329	0,257	15,211
Argila amarela	43,902	27,737	12,387	1,965	0,407	0,434	0,724	0,440	0,398	11,606

Fonte: Mendes, 2019 [17]- *FRX (espectrometria de fluorescência de raios X). **PF – Perda de Fogo

Resultados

Caracterização dos Corpos de Prova

Densidade: Propriedade importante, pois afeta a reação dos blocos cerâmicos durante a queima. Ao adicionar o rejeito de minério de ferro existe um aumento na densidade por conta da sua massa específica e também por apresentar grandes partículas.

Retração Linear: O rejeito de minério atua como preenchimento e consequentemente atua na diminuição da retração linear, independente da temperatura na queima. Sua aplicação pode ser com intuito de controlar a retração linear das peças cerâmicas de forma a melhorar sua estabilidade dimensional, além de resultar numa menor incidência de deformações diminuindo a perda de materiais durante a produção.

Densidade Aparente Pós-Queima: contribui com o aumento desta densidade por conta de sua maior massa específica dos sólidos do material.

Porosidade Aparente: Por conta da grande quantidade de quartzo, contribui no aumento da porosidade quando observado separadamente. Apesar desse fato, o efeito provocado pela inércia foi predominante du-

rante a queima, aumentando significadamente o aumento da porosidade.

Absorção d'água: A adição do rejeito de minério provoca a absorção d'água, causando maior concentração de poros abertos e interligados que não serão "fechados" durante a sinterização. Este é um dos principais parâmetros para a aplicação de peças cerâmicas. De acordo com estudos, os blocos cerâmicos se aplicam perfeitamente na norma estabelecida pela NBR 15270-1.

Resistência a Compressão Axial: o rejeito de minério pode reduzir a resistência mecânica. Ao analisar a temperatura, nota-se que tanto a porosidade quanto a rugosidade da superfície reduzem. Devido ao maior teor de quartzo e hematita (óxido de ferro III) presentes, as amostras que contém porcentagens de rejeito de minério de ferro (M1 e M7) apresentam superfícies mais irregulares.

Determinação Composição Ótima: Segundo a NBR 15270-1 e ASTM C62, os blocos cerâmicos de vedação devem apresentar características de absorção d'água e resistência mecânica de modo a garantir a qualidade técnica do produto como podemos analisar na tabela abaixo.

Tabela 4 - Composições ótimas de acordo com a temperatura de queima

Temperatura	Rejeito de minério de ferro	Argila cinza	Argila amarela	Predição	
				Absorção d'água (%)	Resistência a compressão (Mpa)
850oC	0,291	0,409	0,300	21,72	17,71
950 oC	0,291	0,409	0,300	20,90	17,58
1050 oC	0,233	0,467	0,300	13,69	17,70

Fonte: Mendes [17]

Os blocos cerâmicos produzidos com rejeitos de minério de ferro apresentam melhor comportamento, ocorrendo uma boa imobilização dos metais quando se tornarem resíduos da construção e demolição (RCD) ou de descarte de peças defeituosas. Podem ser classificados como resíduos da Classe II A – não perigosos não inertes.

Pode-se dizer que o bloco desenvolvido com a incorporação de rejeito de minério de ferro, causa baixo impacto ambiental, não sendo agressivo ao meio e à

saúde humana durante a vida útil dos elementos construídos a partir deste (alvenarias de vedação). A única ressalva é a aplicação dos blocos em reservatórios de água cuja alvenaria seja aparente.

Através dos resultados analisados, vemos a possibilidade do reaproveitamento de rejeitos de minério de ferro na construção civil, desde que sejam analisados em laboratório para que a qualidade técnica do material seja garantida e não ocorram problemas tanto na construção quanto ao meio ambiente.

Conclusão

Apesar da barragem do córrego do feijão ter sua construção num local com boa capacidade de suporte, com método seguro e estar avaliada como sendo de baixo risco, o rompimento aconteceu. O rompimento de uma barragem afeta diretamente o meio ambiente, além da parte social e econômica de uma região.

Visto os problemas que podem ser causados perante a operação de uma barragem tanto quanto o descaso que leva à sua ruptura, visamos demonstrar fatores favoráveis de modo a diminuir a quantidade de resíduos existentes fazendo a reutilização dos mesmos em pró da construção civil, conseguindo inclusive a melhoria de resistência mecânica dos blocos cerâmicos, vantagem em relação à massa específica e plasticidade em relação à composição normal do material.

O bloco desenvolvido também gera baixo impacto ambiental, tanto na sua vida útil quanto em caso de se tornar resíduos de demolição. A única contra indicação se deve ao fato de não poder ser utilizado em caso de alvenaria aparente a água devido à sua porosidade.

Portando a reutilização dos rejeitos de minério de ferro é de extrema relevância por diminuir o impacto ambiental gerado pela barragem, uma vez que a retirada causa uma “limpeza”, melhorando a qualidade do ar, poluição nas coleções hídricas, entre outros fatores, e também pela utilização dos blocos obedecerem às normas estabelecidas pela NBR.

Referências

[1] BRASIL. Ministério da Integração Nacional. Secretaria de Infraestrutura Hídrica. **Manual de segurança e inspeção de barragens**. Brasília, 2002.

[2] DUARTE, Anderson Pires. **Classificação das barragens de contenção de rejeitos de mineração e de resíduos industriais no estado de Minas Gerais em relação ao potencial de risco**. Universidade Federal de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Belo Horizonte, 2008.

[3] AZAM, Shahid; LI, Qiren. **Tailings dam failures: a review of the last one hundred years**. *Geotechnical news*, v. 28, n. 4, p. 50-54, 2010.

[4] LOZANO, Fernando Arturo Erazo. **Seleção de locais para barragens de rejeitos usando o método de análise hierárquica**. 2006. Tese de Doutorado.

Universidade de São Paulo.

[5] AMBIENTAL, GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA; BERTOLIN, MARIANE. **Resíduos de desastres ambientais: um olhar diferenciado sobre o rompimento da Barragem do Fundão** (Mineradora Samarco), em Mariana-MG.

[6] MACHADO, William Gladstone de Freitas. **Monitoramento de barragens de contenção de rejeitos da mineração**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

[7] ESPÓSITO, T. de J. **Metodologia probabilística e observacional aplicada a barragens de rejeito construídas por aterro hidráulico**. Brasília: UnB, 2000.

[8] CARVALHO, M.A & Vieira, V. Brumadinho: o segundo alerta. Self – Ver Inst Junguiano São Paulo, 2019.

[9] BRIZA, Dulce Helena Rizzardo. **Brumadinho. Self-Revista do Instituto Junguiano de São Paulo**, v. 4, n. 1, 2019.

[10] HERNANDEZ, H. M. **Caracterização geomecânica de rejeitos aplicada a barragens de aterro hidráulico**. Brasília: UnB, 2002.

[11] BARRETO, Maria José Rezende; CORREA, Elza Maria Staciari. **As barragens e os problemas decorrentes de sua construção (notas preliminares)**. 1983.

[12] BASTOS, Lucas Augusto de Castro. **Utilização de rejeito de barragem de minério de ferro como matéria prima para infraestrutura rodoviária**. 2013.

[13] BOSKOVIC, Alessandra Barichello. **Brumadinho: indenizações acidentárias e a inaplicabilidade do teto fixado pelo art. 223-G da CLT para os danos extrapatrimoniais**. Brumadinho: indenizações acidentárias e a inaplicabilidade do teto fixado pelo art. 223-G da CLT para os danos extrapatrimoniais, 2019.

[14] MAGRIS, R. A.; MARTA-ALMEIDA, M.; MONTEIRO, J. A.; BAN, N. C. 2019. **A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil)**. *Science of The Total Environment*, n. 659, p. 828-840.

[15] FERNANDES, G. (2005). **Comportamento de Estruturas de Pavimentos Ferroviários com Utilização de Solos Finos e/ ou Resíduos de Mineração de Ferro Associados a Geossintéticos**. Tese de Dou-

torado, Universidade de Brasília, UnB, Brasília. 250p.

[16] LOPES, M. C. O. **Disposição hidráulica de rejeitos arenosos e influência nos parâmetros de resistência. 2000.** Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

[17] MENDES, C. B. **Reaproveitamento do rejeito de minério de ferro, liberado no desastre envolvendo o rompimento da barragem de fundão (MG), na produção de blocos cerâmicos. 2019.** Departamento de Engenharia Civil, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, MG.

Original Article

POLYMERIC NANOPARTICLES CONTAINING TITHONIA DIVERSIFOLIA (HEMSL) A. GRAY FLOWERS ALCOHOLIC EXTRACT AND COATED BY HYALURONIC ACID: DEVELOPMENT, SYNTHESIS, AND CHARACTERIZATION

(Compliance with ethical standards: We submitted to the national genetic heritage management system and associated traditional knowledge and was registered in SisGen, in compliance with the provisions of Law 13,123/2015 and certificate number A516224).

Authors: Fernanda Arriel Pedrozo Rezende¹; Anna Luiza de Aveiro Ruocco¹; Bruno Batista da Silva²; Robson Miranda da Gama³; José Armando-Jr³, Marcelo Guimarães^{4,A}.

¹Graduation Student - Pharmacy Course - CCBS - Mackenzie Presbyterian University. São Paulo, SP, Brazil.

²Pharmacist - Semi-industrial Laboratory - Pharmacy Course - CCBS - Mackenzie Presbyterian University. São Paulo, SP, Brazil.

³Teacher - Laboratory of Teaching and Research of the Pharmacy Course, University Health Center, ABC (CUSABC), Santo André, SP, Brazil.

⁴Teacher - Semi-industrial Laboratory - Pharmacy Course - CCBS - Mackenzie Presbyterian University. São Paulo, Brazil. e-mail: marcelo.guimaraes@mackenzie.br.

Article ID

Keywords:

Polymeric nanoparticles;
Tithonia diversifolia
(Hemsl) A. Gray;
poly (n-butyl-cyanoacrylate), hyaluronic acid.

Abstract

Nanoparticles are systems formed by biodegradable, synthetic or natural polymers, that have gained significant importance in different industry segments, as well as being the highlight of essential researches. These tiny particles present various promising characteristics, such as: site-specific and gradual drug release and improvement of active principle solubility and stability. The combination of nanotechnology with medicinal plants could be able to enhance the action of plant extracts, such so that many innovative drug carriers have emerged, including polymeric nanoparticles. The objective of this study was to synthesize and characterize polymeric nanoparticles coated with hyaluronic acid, containing *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray flowers alcoholic extract, aiming to improve the nanoparticle's stability, for possible future applications. The synthesis occurred through emulsion polymerization, where the monomer n-butyl-cyanoacrylate was incorporated with Dextran® into an aqueous HCl solution, with posterior addition of

^ACorresponding author

Marcelo Guimarães – E-mail: marcelo.guimaraes@mackenzie.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9480-2957>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.88> - Article received on: February 26, 2020; accepted February 27, 2020; published on March 10, 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, March 2020. Available online from March 10, 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

the alcoholic plant extract and neutralization reaction with NaOH. Stability parameters, such as hydrodynamic diameter, polydispersity index, zeta potential, spectroscopy (IV), Scanning Electron Microscopy (SEM), thermogravimetry (TG) and Differential Exploration Calorimetry (DSC) were analysed. The nanoparticle system was evaluated taking into consideration particle stability prior and posterior to the addition of the extract, as well as coated and uncoated particles. The results demonstrated the good reactivity of the monomers of cyanoacrylates, as well as effectiveness of hyaluronic acid in relation to the proposed objective, evidenced in the results obtained by Infrared Spectroscopy, by SEM, DSC and, also, TG. The study demonstrated that there are possible future applications for this method.

Informações do artigo

Palavras Chave:

Nanopartículas poliméricas;

Tithonia diversifolia

(Hemsl) A. Gray;

poli (n-butil-cianoacrilato), ácido hialurônico.

Resumo

As nanopartículas são classificadas como qualquer material ou partícula coloidal, farmacologicamente ativo ou inerte, com a capacidade de veicular agentes terapêuticos, que se encontrem no intervalo nanométrico de 10 a 1000 nm (1 µm). Têm sido utilizadas no setor farmacêutico para várias aplicações, obtendo um significativo avanço na liberação de fármacos em sítios específicos. Observa-se uma notável melhora na solubilidade e estabilidade dos princípios ativos incorporados, assim como da velocidade de distribuição. Esse estudo apresenta o processo de desenvolvimento de nanopartículas poliméricas revestidas com ácido hialurônico, contendo o extrato alcóolico de folhas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. O objetivo da pesquisa focou o oferecimento de subsídios nanotecnológicos para aplicações futuras, viabilizando a melhoria da estabilidade do princípio ativo e possivelmente da sua ação terapêutica. A síntese das nanopartículas ocorreu através do processo de polimerização por emulsão, onde foram adicionados a uma solução aquosa de HCl 0,01M (pH 2,5), o monômero *n*-butil-cianoacrilato (BCA), juntamente com Dextran®, com posterior incorporação do extrato vegetal e neutralização do meio. O nanossistema obtido foi avaliado por diferentes métodos físico-químicos que incluíram a avaliação da estabilidade física das nanopartículas pela Espectroscopia (IV), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os resultados das análises a que as amostras foram submetidas apresentam indicativos que sugerem sucesso na obtenção de um nanossistema de liberação de fármacos estável e inovador, bem como uma efetividade do ácido hialurônico em relação ao objetivo proposto, evidenciada nos resultados obtidos por Espectroscopia (IV), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC), bem como pela Termogravimetria (TG).

Introduction

Over the last decade, there has been an intensification in researches involving vectors that can control

drug release at specific sites of action, improving both the rate of distribution and the dosage regime. The main systems studied for these purposes have been microparticles and colloidal systems (liposomes and

nanoparticles). Nanoparticles are systems formed by biodegradable, synthetic or natural polymers, that have gained significant importance in different industry segments, as well as being the highlight of essential researches. These tiny particles are applicable in the health segment due to the easiness of controlling chemical structures, surface functionalities and particle diameter (AKAGI *et al.*, 2007).

Nanostructures present various promising characteristics, such as: site-specific and gradual drug release, as well as improvement of active principle solubility and stability, enhancement of the desired action of a formulation, and allowing the combination of active substances of varying hydrophilic/lipophilic degrees (SINTOV & SHAPIRO, 2004; CUNHA *et al.*, 2003).

Several nanotechnological strategies, such as polymeric nanoparticles, allow substances with different properties to be applied in the same formulation, making it possible to alter the properties and behaviour of a given substance in a biological environment (BONIFÁCIO *et al.*, 2014; GUTERRES, *et al.*, 2012).

Polymeric nanoparticles present diameters ranging from 10 to 1000 nanometers, and can be synthesized through various methods. The most common methods used for the production of polymeric nanoparticles are: in situ polymerization (with dispersed monomers) and precipitation method of preformed polymers. Regardless of the chosen method, the products are obtained as colloidal dispersions or aqueous microemulsions, generating thermodynamically stable systems (BEHAN, *et al.*, 2001; BERTHOLON, *et al.*, 2006).

Compared with conventional formulations, polymeric nanoparticles are capable of increasing the solubility of constituents, reducing the therapeutic dose and improving absorption of active components. Furthermore, when circulating in the bloodstream, nanoparticles have the advantages of being stable, non-toxic, non-thrombogenic, non-immunogenic and non-inflammatory (BONIFÁCIO *et al.*, 2014, SIMEONOVA, 2009).

With the intention of enhancing the stability of the nanoparticles, the present study uses the alternative of hyaluronic acid coating, in an attempt of increasing the effectiveness of the nanosystem as a whole.

In parallel, the use of plants for medicinal purposes has aroused a growing interest in several sci-

entific communities, as it allows the development of innovative products with lower potential side effects (COSTA *et al.*, 2010). Plant extracts provide several beneficial properties with different applications, however they are not physical-chemically stable, which may lead to the loss of their antioxidant properties (DAUDT *et al.*, 2013). Thus, the combination of nanotechnology with medicinal plants might be able to enhance the action of plant extracts, such so that many innovative drug carriers have emerged, including polymeric nanoparticles.

Several authors have studies based on active ingredients derived from plants that present antioxidant and healing properties. Contemplated within the *Asteraceae* family, the species *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray has been used as a medicinal plant (LACERDA *et al.*, 2011), having anti-inflammatory action (OWOYELE *et al.*, 2004) and containing chemical compounds such as total phenols, tannins and flavonoids that also contribute to an antioxidant (GAMA *et al.*, 2013), anticancer (CHOWDHURY *et al.*, 2002; CAI *et al.*, 2004), antimicrobial (NASCI-MENTO *et al.*, 2000; CUSHINE & LAMB, 2005) and healing action (NAYAK & PEREIRA, 2006).

Objective

The objective of this study was to develop, synthesize and characterize polymeric nanoparticles coated with hyaluronic acid, containing *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray flowers alcoholic extract, aiming to improve the nanoparticle's stability, for possible future applications.

Materials and methods

Alcoholic extract preparation

The alcoholic extract is obtained using the flowers of the *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray plant. The flowers undergo a week long drying process using a hot air chamber at approximately 50°C. These flowers are then reduced by a mill, remaining in a 100% ethanol solution, under stirring and at room temperature for 24 hours. This mixture is then subjected to a filtration process and through the use of a rotary evaporator connected to a vacuum pump, the extract is condensed to a concentration of 0.1g/mL (GAMA, R.M. *et al.*, 2014).

HCL and NaOH solutions

Hydrochloric acid solution (HCl) and sodium hydroxide solution (NaOH) were previously prepared. The ideal HCl solution should have a hydrogen potential (pH) close to 2.5, as the polymerization reaction is pH dependent, occurring best in an acidic medium. The NaOH solution is basic, being able to neutralize the acidic pH of the reaction medium and thus interrupt the polymerization reaction (SCHAFFAZIK et al., 2003; VAUTHIER et al., 2003).

Polymerization

The nanoparticles were synthesized through the process of emulsion polymerization, at 800 rpm, where the monomer n-butyl-cyanoacrylate together with 100 mg of Dextran® were incorporated into 10 mL of the aqueous HCl solution (0,01M, pH 2,5), with posterior addition of the alcoholic plant extract and final reaction neutralization with NaOH (pH 7,0 ± 0,3). The resulting polymer poly (n-butyl-cyanoacrylate) (PBCA) was then filtered and stored in an Eppendorf, being labeled as 'Plain' PBCA.

For the incorporation of the extract, the same process was repeated, but after one hour of the continuous stirring, 1mL of PBCA was removed and 1 mL of the alcoholic plant extract was added to the mixture present in the conical flask. The stirring carried on for three hours and then process was then terminated with the addition of the NaOH solution and posterior filtration with a glass funnel and filter paper. The resulting mixture was stored and identified as PBCA-Extract (polymer containing the alcoholic plant extract) (GUIMARÃES, M., 2015).

Hyaluronic acid coating

The process of coating was based on the work of HE and collaborators (2009), where a 1% (w/v) hyaluronic acid dispersion is prepared using purified water, under stirring. The obtained dispersion was posteriorly added, drop by drop, under stirring (800 rpm) to 5 mL of the PBCA-Extract (GUIMARÃES, 2015). After one hour, a sample was collected and labeled as Coated PBCA containing Extract. The same method was applied to 5 mL of the 'Plain' PBCA and the resulting mixture obtained was labeled as Coated PBCA. The final stored samples were posteriorly lyophilized in

order to carry out the absorption spectroscopy in the infrared region and the scanning electron microscopy.

Nanoparticle characterization pH and macroscopic characterization

pH readings were carried out in triplicates for each reading and the mean value for each measurement was calculated. Macroscopic characterization was based on the visual color of the obtained samples, as well as possible presence of precipitates or phase separation posterior to the end of the polymerization reaction.

Medium hydrodynamic diameter, nanoparticle size distribution and zeta potential

The polydispersity index, hydrodynamic diameter and the particle size distribution were performed with the aid of a Zetasizer equipment (3000 HS (Malvern Instruments), at 25 °C and 90°, through the process of light scattering. Zeta potential readings were based on the electrophoretic mobility, utilizing a force field of 20 V/cm.

The analyses were performed in triplicate, aiming to reduce the possible errors associated with the technique.

Infrared absorption spectroscopy (FTIR)

Spectroscopy provides information on the concentration of specific compounds and their chemical and morphological structure. Vibrational spectroscopies, more specifically infrared spectroscopy, allow the identification of functional groups corresponding to the absorption bands generated by the vibration of the molecule/atom. The infrared band most commonly used is the medium infrared (400-4000 cm⁻¹), due to the easiness of associating a band with a specific functional group (CUFFINI, 2009).

For the proposed study, pellets were obtained through sample mixture with potassium bromide (KBr). Spectrums were performed utilizing a Fourier Transform Infrared spectrometer (FT-IR).

Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy (SEM)

SEM has been widely used to evaluate the structures of nanoparticles, including their shape and size, and depending on their formulation, average particle size variation, as well as general effects of the drug in the reactional medium (SCHAFFAZICK et al., 2003). Samples were analyzed with a JEOL microscope, model JSM, 6510LV series and a magnification of 30x – 5000x.

Differential scanning calorimetry (DSC)

Samples of 'Plain' PBCA, PBCA-extract, Coated PBCA coated and Coated PBCA containing Extract were analyzed. The analyses were performed in a DSC 7020 scanning calorimeter (Exstar, SII Nano Technology Inc., Japan), 25 - 400 °C, utilizing approximately 2 mg of each sample, heating ratio of 10°C/min and dynamic atmosphere of nitrogen with flow rate of 50 ml/min.

Thermogravimetry (TG)

Thermogravimetry is contemplated within the thermal analysis methods and aims to verify the weight variation of a certain substance(s), in relation to the temperature and/or time variation, under controlled conditions of temperature and atmosphere (VOGEL, 2017).

The resulting graphs can be used to obtain information regarding the thermal stability of the substance, its composition and intermediate products/residues formed (SILVA et al., 2007). TG analysis was carried out in a Netzsch cell (STA 449F3a) with nitrogen atmosphere. Samples of 'Plain' PBCA, PBCA-extract, Coated PBCA and Coated PBCA containing extract were analyzed

Results and discussion

Regarding macroscopic aspects, the nanoparticle emulsion presented itself as homogeneous, with a whitish color and milky aspect, without the presence of precipitate or phase separation (**Figure 1**). The emulsion remained with its whitish tint even after the addition of the yellow alcoholic plant extract. The aspect of the formulation remained constant throughout the experiment. The non-evidence of phase separation suggests that the combination of extract and polymer obtained a good stability.

Figure 1.



Figure 1 – Appearance of the nanoparticle emulsion before the addition of the alcoholic plant extract

In terms of the pH variation (**Figure 2**), it is possible to see that both 'Plain' PBCA and PBCA-Extract formulations started with a pH 7.0 ± 0.3 , since this is the pH required for the completion of the polymerization reaction. pH value remained relatively stable throughout the weeks, within the variation of ± 0.3 .

Figure 2.

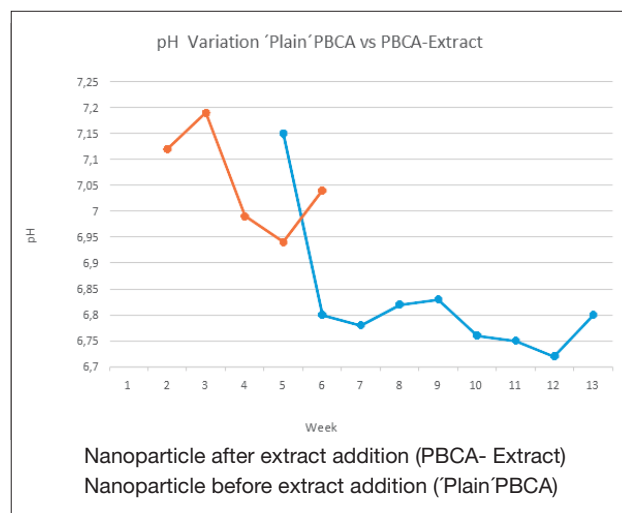


Figure 2 – Weekly pH comparison of the emulsion with and without the alcoholic plant extract

The fact that the pH remained close to neutrality is a good indicator of formulation stability, as an increase in acidity could indicate possible polymer degradation, due to the hydrolysis of the polymeric chain, generating carboxyl groups (SANTOS, 2010).

The nanoparticles presented a mean diameter (151.6 nm for the 'Plain' PBCA and 180.0 nm for the PBCA-Extract), consistent with the range described in literature of 100 – 300 nm (Table 1). The values obtained for PBCA without the extract are similar to those described by Bertholon *et al.* (2006) also using the emulsion polymerization method with Dextran®. An increase in the mean diameter, as well as in the

polydispersity index was observed, which could be explained by the addition of the extract before the end of the polymerization reaction, since it may lead to the formation of larger particles (SCHAFFAZICK, 2003). This average hydrodynamic increase can be indicative of the adsorption of the extract to the Polymer, according to **Table 1**.

Table 1 – Determination of the mean hydrodynamic diameter, polydispersity index and zeta potential of the nanoparticles

Nanoparticle	Mean hydrodynamic diameter (nm)	Polydispersity Index	Zeta potential (mV)
'Plain' PBCA	151,6 ± 5,4	0,06 ± 0,02	- 1,46 ± 1,04
PBCA-Extract	180,0 ± 2,2	0,10 ± 0,33	- 0,70 ± 1,27

* Values expressed as mean ± standard deviation (n=3)

The zeta potential is associated with the surface potential of particles. Results obtained showed slightly negative values, which may be associated with the fact that the reaction occurs in an acidic medium (lower pH), contributing to a reduced dissociation of the free acrylic acid groups (REDDY & MURTHY, 2004).

The polydispersity index is associated with the distribution of the particle weight, being contemplated on a scale from 0 to 1. Both results obtained for the samples (0.06 for the 'Plain' PBCA and 0.10 for the PBCA-Extract) demonstrated a good distribution, given that values below 0.2 present a narrow distribution of size, that is, a system closer to being monodispersed (DAS *et al.*, 2012). The standard deviation was

low, suggesting that the method showed good reproducibility.

According to **Figure 3**, a relatively similar behavior can be perceived between the three samples, with only a small variation in transmittance. The sample presented by a red line on the graph refers to the nanoparticle containing the plant extract but without the hyaluronic acid coating. One can observe that the sample presented significant peaks, demonstrating a greater instability when compared to the other curves. This result suggests that the hyaluronic acid coating of the nanoparticle containing the extract is essential in the process of stabilizing them.

Figure 3.

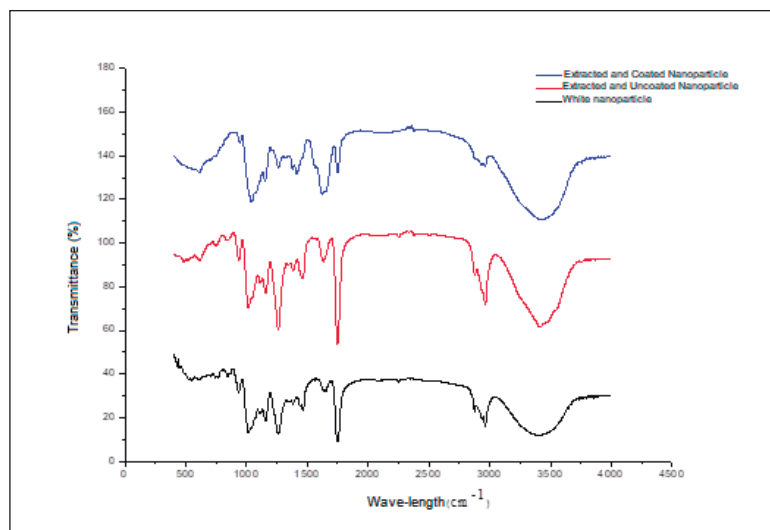


Figure 3 – Infrared spectroscopy of the obtained samples

The characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy (SEM), was also obtained (see Fig res 4, 5, and 6).

Figure 4.

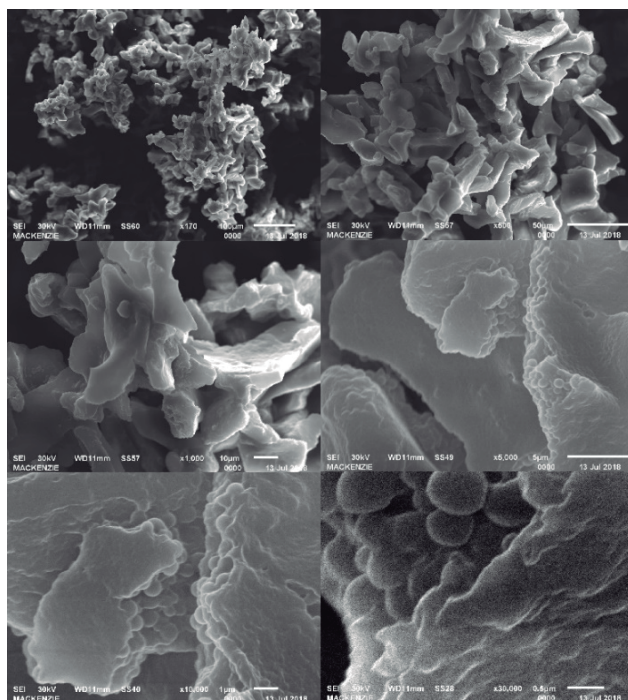


Figure 4 – ‘Plain’ PBCA SEM scan.

Figure 5.

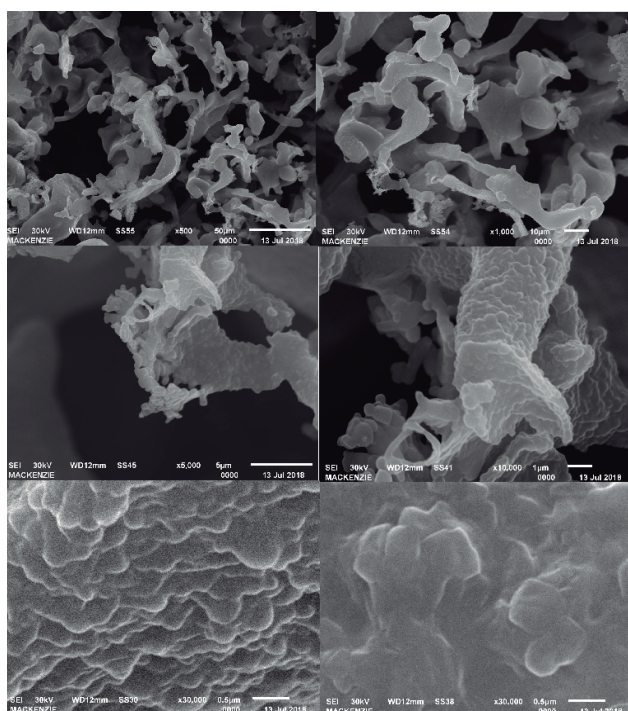


Figure 5 – PBCA-Extract without coating SEM scan

Figure 6.

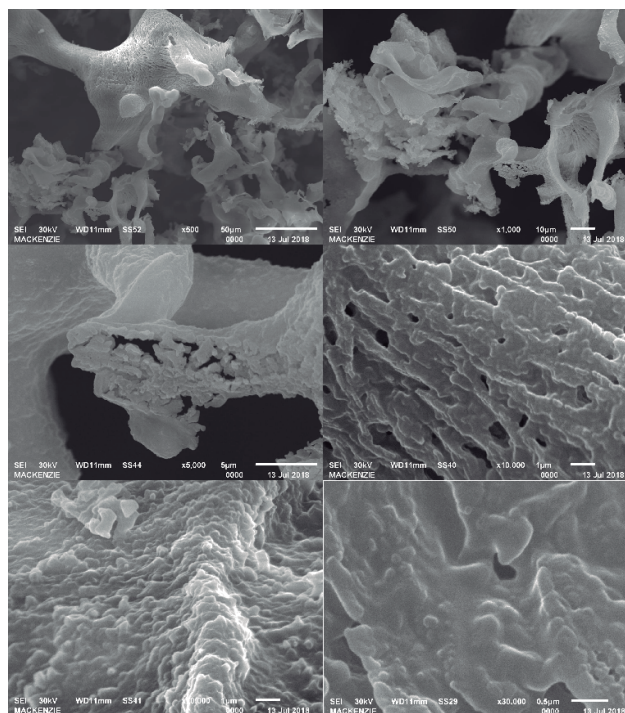


Figure 6 – Coated PBCA with plant extract SEM scan

The images provided by SEM demonstrated that the nanoparticles were not completely spherical, but rather varied in format (Figures 4, 5, and 6). Although no particle size alteration was observed posterior to the addition of the plant extract, a change in the particle agglomeration state could be noticed. Particles were perceived as being more dispersed, possibly due to the presence of the plant extract inside the nanoparticle (Figure 5).

Coated nanoparticles presented different superficial characteristics (Figure 6) when compared to the other two samples. Particles appeared to have a spongy characteristic to them due to clearly visible superficial pores.

The thermal stability of nanoparticles was evaluated through differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TG) (Figure 7).

The curve of the DSC analysis (Figure 7) obtained for the nanoparticle containing the plant extract and the coating presents an endothermic peak in the range of 300-450° C, which is characteristic of simultaneous and/or subsequent events. One can infer that this event occurred due to loss of moisture during the analysis. The beginning of the process of degradation of the polymeric structure referring to the sample with

extract and with coating is approximately at 200 °C.

TG analysis of the main formulation developed in this study (nanoparticles containing plant extract and with coating) demonstrated the absence of an exo-

thermic peak (**Figure 8**). This result may be indicative of possible adsorption of the hyaluronic coating to the surface of the nanoparticles, protecting the latter against degradation.

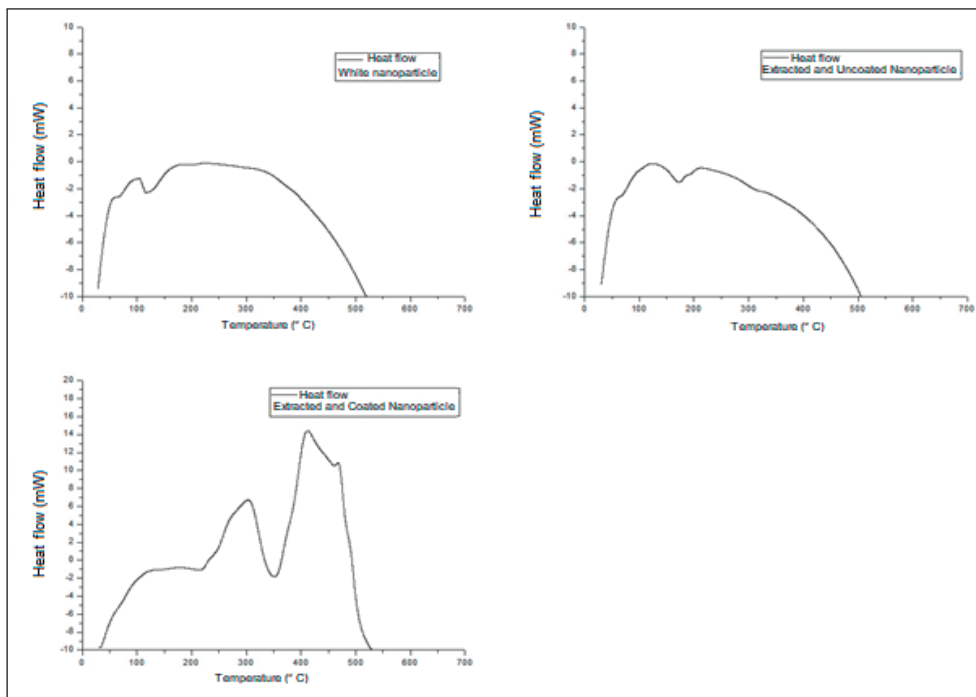


Figure 7 – DSC analysis of ‘Plain’ PBCA, PBCA-Extract without coating and Coated PBCA containing extract, obtained using sealed aluminum capsule, heating ratio 10°C/in and nitrogen atmosphere with a flow rate of 50mL/minute.

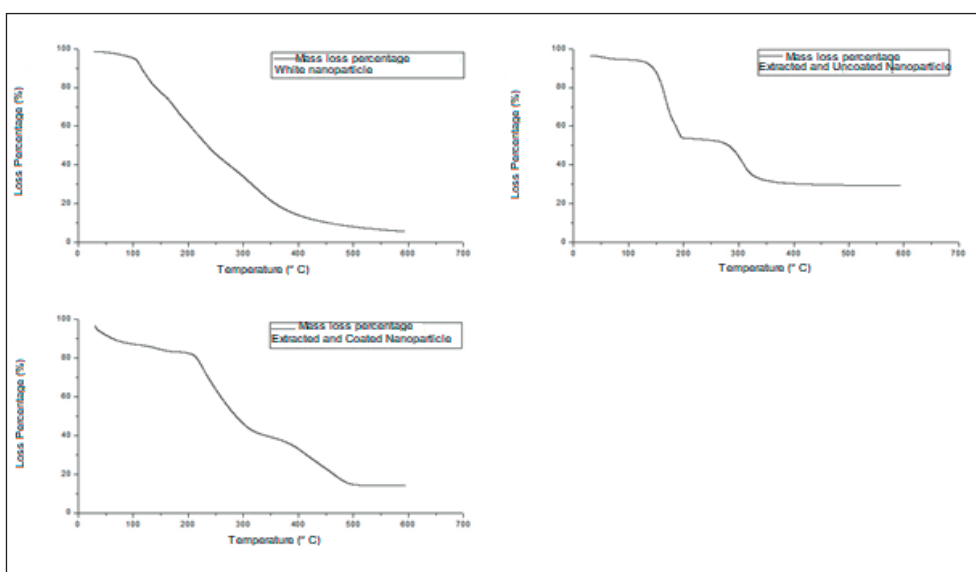


Figure 8 – Curves referring to TG analysis of ‘Plain’ PBCA nanoparticles, PBCA-Extract without coating and Coated PBCA containing extract, obtained using sealed aluminum capsule, heating ratio of 10 °C/min and dynamic nitrogen atmosphere with a flow rate of 100mL/minute.

Furthermore, the endothermic events of the nanoparticles containing plant extract and coating appear wider and/or displaced, indicating possible interactions between particle, extract and the hyaluronic acid coating. This observation also reinforces evidence of nanoparticle coating.

Conclusion

Considering the objectives of this work, one can conclude that the development of the nanoparticles of poly (n-butyl-cyanoacrylate) allowed the addition of the alcoholic extract of the plant *Tithonia diversifolia* (HEMSL) A. Gray, as well as the use of hyaluronic acid as a coating medium. This process generated a nanostructure, which remained stable in relation to its physical, and morphological characteristics. Results evidenced by spectroscopy, SEM, DSC and also by TG, demonstrate the effectiveness of hyaluronic acid as a coating medium, supporting the qualitative aspect of the research to improve the physicochemical stability of the nanosystem. Future studies taking into consideration these analyses may add to the set of nanotechnological subsidies for the pharmaceutical área.

References

- AKAGI T; BABA M; AKASHI M. Polymer 2007, 48, 6729. [CrossRef]. www.crossref.org > Acesso em 8/05/2015.
- BEHAN, N.; BIRKINSHAW, C.; CLARKE, N. Poly n-butyl cyanoacrylate nanoparticles: a mechanism study of polymerization and particle formation. Biomaterials, v.22, p. 1335-1344, 2001.
- BERTHOLON, I.; VAUTHIER, C.; LABARRE, D. Complement activation by core-shell poly(isobutylcyanoacrylate)-polysaccharide nanoparticles: Influences of surface morphology, length, and type of polysaccharide. Pharmaceutical Research, v. 23, p.1313-1323, 2006.
- BONIFÁCIO B V; et al. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. Int J Nanomedicine. 2014; 9: 1-15. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3862741/>> Acesso em: 17 de jul. 2018.
- CAI Y.; et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Science. v. 74, n.11, pp. 2157-2184, 2004.
- CHOWDHURY A R.; et al. Luteolin, an emerging anti-cancer flavonoid, poisons eukaryotic DNA topoisomerase I. Biochemistry Journal. v. 366, n. 5, pp. 653-661, 2002.
- COSTA EMMB, BARBOSA A S, ARRUDA T A, et al. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. J Bras Patol Med Lab. 2010; 46(3):175-180.
- CUFFINI Silvia L; PITALUGA JUNIOR Altivo; TOMBARI Dora. Polimorfismo em Fármacos. In: STORPIRTIS, Sílvia et al. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p. 26-28.
- CUNHA ASC, JR, et al. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. Arq Bras Oftamol. 2003;66(3):385-391.
- CUSHINE T P T.; LAMB A J. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal Antimicrobials Agents. v. 26, n. 5, pp. 343,356, 2005.
- DAUDT R M. et al. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. Cienc. Cult., São Paulo, vol.65, n.3, Julho 2013. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252013000300011&lng=en&nrm=iso > Acesso em: 4 Outubro 2017.
- DAS S; NG W K.; TAN R B H. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs? European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, v. 47, n. 1, p. 139-51, 2012.
- GAMA R M; ARMANDO-JR J, GUIMARÃES M. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray dry flowers. Asian Pac J Trop Biomed 2014; 4(9): 740-742.
- GUIMARÃES M. Desenvolvimento de nanopartículas de poli (n-butil-cianoacrilato) com zidovudina revestidas por ácido hialurônico para veiculação em gel de uso transdérmico. 2015. 149 p. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Produção e Controle Farmacêuticos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- GUTERRES, S.S.; BNVENUTTI, E.V.; POHLMANN, A.R. Nanopartículas poliméricas para administração de fármacos. In: DURÁN, N.; MATTOSO, L.H.C.; MORAIS, C.P. (eds), Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação. 2 ed. Artliber Editora. São Paulo, 2012.

HE, M.; ZHAO, Z.; YIN, L.; TANG, C.; YIN, C. Hyaluronic acid coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles as anticancer drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.373, p.165-173, 2009.

JÚNIOR J.A. Avaliação do efeito do extrato etanólico das flores secas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray veiculado em emulsão no processo de reparação tecidual induzido na pele de ratos wistar. Faculdade de Medicina do ABC. 2014.

LACERDA A.M.; et al. Screening of plants with potential phototoxic. *Revista Brasileira de Farmácia*. v. 92, n. 4, pp. 352-355, 2011.

NASCIMENTO G G F; et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal Microbiology*. v. 31, n. 2, pp. 247-256, 2000.

NAYAK B S; PEREIRA L M P. Catharanthus roseus flower extract has wound- healing activity in Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. V. 6, n.4, 2006.

OWOYELE V B; et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology*. V. 90, n. 2, pp. 317-321, 2004.

RADAIC, A. Como estudar interações entre nanopartículas e sistemas biológicos. *Quím. Nova*, São Paulo, v.39, n. 10, p.1236-1244, Dec. 2016. Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-0422016001001236-&lng=en&nrm-iso >. Access on 25 Mar. 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160146>.

REDDY L H.; MURTHY R. R. Influence of polymerization variables on the particle properties and release kinetics of methotrexate from poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles. *Acta Pharma, India*, n. 54, p.103-118, 26 fev. 2004.

SCHAFFAZICK S R; et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v. 26, n.5, p. 726-737, 2003.

SANTOS J S. Nanopartículas: Aplicações cosméticas e farmacêuticas. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

SILVA E C da et al. Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, São Paulo, v. 43, n. 3, p.347-356, jul. 2007.

SIMEONOVA, M. Physicochemical characterization and in vitro behavior of daunorubicin-loaded poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, v. 5, p. 2109-2121, 2009.

SINTOV A C; SHAPIRO L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. *J Control Release*.2004;95(2):173-183.

VAUTHIER C et al. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. V. 55, n. 4, p. 519-548, 2003.

VOGEL A I et al. *Análise Química Quantitativa*. 6. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 2017. 488 p. Disponível em: [https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/978-85-216-2580-3/epubcfi/6/10\[vnd.vst.idref=copyright\]!/4/10/6@0:0](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/books/978-85-216-2580-3/epubcfi/6/10[vnd.vst.idref=copyright]!/4/10/6@0:0) >. Acesso em: 20 out. 2017.

Review Article

MELALEUCA SPP ESSENTIAL OIL AND ITS MEDICAL APPLICABILITY. A BRIEF REVIEW

Authors: Thaís Rossini de Oliveira¹; Anderson Laerte Teixeira¹; Janaina Priscila Barbosa¹; Simone N. Busato de Feiria¹; Giovana C. Boni¹; Flávia Maia¹; Paula Cristina Anibal¹; Gayan Kanchana Wijesinghe¹; José Francisco Höfling^{1,A}.

¹Piracicaba School of Dentistry - Unicamp - São Paulo - Brazil.

Abstract

Medicinal plants have long been used as an alternative in the treatment of diseases, whether using extracts, essential oils and / or bioactive components. Thus, the use of medicinal plants, with popularly known effects for the treatment of infections, has gained prominence, in research related to extracts and essential oils of medicinal plants, in an attempt to discover and future application of new molecules with antimicrobial and / or effect coadjuvant molecules to antimicrobials on the market. Studies with species of *Melaleuca spp.*, Demonstrate wide application of its essential oil, without treating skin infections, microbial infections, herpes, diseases associated with pathogenic microorganisms of the oral cavity. The emerging microbial resistance to the drugs currently available on the market, has been affected by both researchers and the general population, so that the research experimented with was conducted revealing a high synergistic potential between drugs and natural drugs, present in drugs. In view of the above, this study aimed to present, through a bibliographic survey, a use of medicinal plants in the face of microbial resistance, as well as medicinal therapy based on the use of essential oils from *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca leucadendron* and *Melaleuca quinquenervia*, already inclusion in the literature.

^ACorresponding author

Prof. Dr. José Francisco Höfling – E-mail: hofling2@unicamp.br – ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6054-0688> - Piracicaba School of Dentistry, Avenida Limeira, 901 – 13.414-903, Piracicaba, SP, Brazil

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.89> - Article received on: February 28, 2020; accepted February 29, 2020; published on March 10, 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, March 2020. Available online from March 10, 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

Resumo

Plantas medicinais há muito vêm sendo empregadas, como alternativa no tratamento de doenças, quer pelo uso de extratos, de óleos essenciais e/ ou respectivos componentes bioativos. De tal forma, a utilização de plantas medicinais, com efeitos popularmente conhecidos para tratamento de infecções, ganhou destaque, em pesquisas envolvendo extratos e óleos essenciais de plantas medicinais, na tentativa da descoberta e, futura aplicação, de novas moléculas com efeito antimicrobiano e/ou moléculas coadjuvantes aos antimicrobianos existentes no mercado. Estudos com as espécies de *Melaleuca* spp., têm demonstrado ampla aplicabilidade de seu óleo essencial, no tratamento de infecções de pele, infecções microbianas, herpes, inclusive doenças associadas a microrganismos patogênicos da cavidade oral. A emergente resistência microbiana aos fármacos disponíveis atualmente no mercado, tem preocupado tanto aos pesquisadores, quanto a população em geral, de tal forma, que as atuais pesquisas têm sido conduzidas revelando um elevado potencial sinérgico entre os fármacos e compostos naturais, presentes em óleos essenciais. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo apresentar, por meio de levantamento bibliográfico, a utilização de plantas medicinais frente a resistência microbiana, bem como a terapêutica medicinal a partir do uso dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca leucadendron* e *Melaleuca quinquenervia*, já descritos na literatura.

Introduction

The use of therapeutic plants in medicines has been practiced for thousands of years, being used by most people in the world. The knowledge acquired over time about the use of plants by these peoples has been passed down from generation to generation and is still used today. In the present time, the use of plants as therapeutic alternatives has helped some populations that do not have access to modern treatments and high cost drugs, thus, the use of plants for the treatment of diseases has been empirically used in a widespread way. In recent years, with the scientific advancement, the development of research on this subject has helped to prove the activity of these plants aiming at the search for new compounds with therapeutic properties, allowing the empirical use of plants to make room for scientific foundation. (Cechinel Filho & Yunes, 1998; Santos et al., 2009; Oliveira et al., 2007).

Scientific studies involving the use of medicinal plants and herbal action have already contributed to obtain various drugs used in traditional medicine (Veiga Jr et al., 2005; Cechinel & Yunes, 1998).

In Brazil, studies on medicinal plants are of great importance, especially for the encouragement and appreciation given by the Ministry of Health, with incentive programs with the basic health units in the country. In the Dental area, Phytotherapy is already an integrative and complementary practice to oral health (resolution CFO-082/2008), and its recognition is a great step to regulate the use and performance of the dental surgeon in this area. Studies showed that plant-derived oils and extracts were effective in antimicrobial control, including oral cavity colonizers (Cecanho et al., 1999; Duarte et al., 2004; Buso- Ramos, 2018; Barbosa, 2018; Puppín, 2018; Barbosa et al, 2019; Höfling et al., 2019; Oliveira, 2019). Another alternative for the use of medicinal plants has been the synergistic combination with other existing commercial medicines, in an attempt to reduce or avoid the side effects of conventional medicines. Some reports in the literature indicate that plant derivatives may enhance the efficacy of traditional medicine. Studies point out that some essential oils and phytochemicals have synergistically improved activities with commercial antifungals.

Medicinal plants and microbial resistance

Microbial resistance refers to the ability of a microorganism to withstand a given antimicrobial treatment. Infections caused by multiresistant bacteria and fungi has become a challenge for the control of infectious diseases (Souli et al., 2008). Despite the range of antimicrobials available to control these microorganisms, both fungi and bacteria have developed molecular strategies for the expression of resistance to existing drugs. The resistance of organisms against antimicrobial drugs has become a major problem, especially when it comes to infections in immunocompromised patients. Such evidence has resulted in a drastic increase in the incidence of systemic and opportunistic microbial infections, which leads to a growing need for the development of effective new drugs (Gonçalves, 2016).

Due to multidrug resistance, pharmaceutical companies have sought to develop new antimicrobial agents to combat these bacteria. The search for new drugs derived from medicinal plants has been the target of several studies aiming at producing new drugs to reduce side effects, lower toxicity with lower resistance index and greater spectrum of action (Al-Mariri, 2013; Alvarenga et al., 2007; Sardi et al., 2013). As a result, research on plant species has been important to the discovery of a new antimicrobial compounds that will be of great importance due to the numerous reported cases of drug resistance (Sartoratto et al., 2004).

The use of plants as a source of natural derivatives plays an important role in the development of tools for the treatment of diseases, as well as the confirmation of their action potential with literary findings, which showed in vitro antifungal and antibacterial activity of plant extracts and essentials oils.

Essential oils are a rich source of biological active compounds, chemically derived from the secondary metabolism of plants, and their properties have been widely known since ancient times. (Castro & Lima, 2010; Saad et al., 2010; Tempone et al., 2008). Thus, the discovery and use of natural products with antifungal activity may represent a new tool for the production and use of herbal medicines to combat infectious agents (Khan, et al., 2012; Mendes, 2011; Silva, et al., 2009, Abrantes et al., 2013; Buso- Ramos, 2017; Barbosa, 2018; Puppini, 2018; Barbosa et al, 2019; Hofling 2019; Oliveira, 2019). Therefore, research

with medicinal plants, such as *Melaleuca* spp., has contributed to the discovery of new compounds with antimicrobial potential, associated with the increase of resistance cases showed by some microorganisms, justifying research with this plant in search of new sources of antimicrobial drugs action.

Melaleuca spp.

Melaleuca spp. is a plant used by traditional Australian medicine. It belongs to the *Myrtaceae* family, composed of at least 3,000 species in 130-150 genera, widely distributed in tropical and warm climate regions of the world. *Melaleuca* species are included in the *Myrtaceae* family, which originated in Australia and was spread throughout Southeast Asia, including Indonesia. These plants are well adapted to acidic, soggy, and moderately saline soils (Doran & Turnbull, 1997; Kaufman & Smouse, 2001).

They are essential oil producers by secretory glands in the subdermal regions of the leaves. It is composed of terpene hydrocarbons, mainly monoterpenes, sesquiterpenes and their associated alcohols. The essential oil produced and known for its anti-inflammatory and antimicrobial properties (Saller et al., 1998) has chemical compounds such as terpinen-4-ol, terpinene, cineol, terpinolene, cymene, pinene, limonene, sabinene, globulol and viridiflorol. Its composition exhibits mostly terpene compounds (Brophy et al., 1989; Southwell & Stiff, 1989; Buck et al., 1994), known to destabilize cell envelopes of microorganisms, causing cell membrane lysis. Thus, of all activities associated with oil, the antimicrobial activity is the most recognized, due to studies already found in the literature.

Melaleuca alternifolia

Melaleuca alternifolia (TTO), Chell is a plant used by traditional Australian medicine. Its essential oil is produced by secretory glands in subdermal regions of leaves showing in its constitution chemical compounds such as terpinen-4-ol, terpinene, cineol, terpinolene, cymene, pinene, limonene, sabinene, globulol and viridiflorol, its composition exhibits mostly terpenic compounds (Brophy et al., 1989; Southwell & Stiff, 1989; Buck et al., 1994). Its topical use is widespread in Australia, the United Kingdom, Italy and Brazil for its broad medicinal properties,

with gels, soaps and creams being their most common means of application.

Pharmacological activities include antimicrobial potentials (Mondello et al., 2003; Silva et al., 2003; Carson, Hammer and Riley, 2006; D'Arrigo et al., 2010), antifungal (Hammer, Carson and Riley, 1999; Bagg et al., 2006), antiviral (Carson and Riley, 1993, 1994, 1995; Lis-Balchin, Hart and Deans., 2000; Gruenwald, Brendler and Jaenicke., 2000; Garozzo et al., 2011), in addition to its use in the treatment of skin problems such as infections (Carson, Hammer and Riley, 2006), herpes simplex (Budhiraja et al., 1999) and dental use (Oliveira et al., 2011), among others.

Several therapeutic properties are attributed to *M. alternifolia* essential oil, among which the most cited are antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory and analgesic activity (Peña, 1962; Tong et al., 1992; Carson and Riley, 1993; Buck et al., 1994; Hammer et al., 1996; Hammer et al., 1997).

It has also been reported to be used for the treatment of *Tinea pedis* and *onychomycosis*. Studies have successfully described the use of the oil in the treatment of mucosal infections such as *Trichomonas vaginalis* (Peña, 1962), oral bacteria, and oropharyngeal candidiasis (Jandourek et al., 1998; Groppo et al., 2002; Walker, 1972; Tong et al., 1992; Buck et al., 1994; Syed et al., 1999; Satchell et al., 2002). Among them, the one that attracts the most attention is its antibacterial activity where researchs showing its broad spectrum of action against bacteria and its activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains (Carson et al., 1995; Carson et al., 1996; Hammer et al., 1996; Carson et al., 1998; Halcon and Milkus 2004, Carson 2006; Falci et al., 2015, Oliveira et al., 2016).

Different studies have been performed showing a variety of transient skin microorganisms with susceptibility to essential oils, which even with the use of this oil, provides the maintenance of the microbiota, acting as a barrier against the colonization of pathogens (Hammer et al., 1996; Carson and Riley, 1998; Banes-Marshall et al., 2001; Halcon and Milkus, 2004). Studies also demonstrate activity against *Streptococcus pyogenes* (Carson et al., 1996), β -hemolytic streptococci, *Pseudomonas aeruginosa* (Banes-Marshall et al., 2001; Halcón and Milkus, 2004), kanamycin resistant enterococci, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* (Carson and Riley, 1995; Carson et al., 1995; Hammer

et al., 1996; Nelson, 1997).

Benger et al. (2004) showed the value of 0.1% of the essential oil as a fungistatic concentration for *Tricophyllum rubrum*. Hammer et al. (1998) and Carson et al. (1998) also found in clinical isolates of different *Candida* spp and some reference strains, their susceptibility to oil at dilutions less than or equal to 0.5%. The ability to promote *in vitro* differentiation of monocytes has also been demonstrated (Budhiraja et al., 1999). Anti-inflammatory properties contribute to the healing of chronic wounds based on suppression of inflammatory mediator production by monocyte activation (Finlay-Jones et al., 2001; Hart et al., 2000, Koh et al., 2002; Halcón and Milkus, 2004).

Melaleuca leucadendron

Melaleuca leucadendron Linn. is the most cultivated specie in Indonesia, known by the name of "Kayu Putih". In Indonesia, *M. leucadendron* Linn. is mainly grown in natural forests and plantations. This plant is usually found in Java Island, Maluku, Nusa Tenggara Timur and Sulawesi Island. *Melaleuca leucadendron* Linn. It was planted in Ponorogo of Java for the first time and distributed to Gunung Kidul in Yogyakarta and other areas such as Gundih and Surakarta in Central Java, Mojokerto and Sukun in East Java, and Cikampek, Majalengka and Indramayu in West Java. Over the past four decades, forest owners have explored the leaves of Java plantations.

Cashew oil is used in combination with a large number of other plant drugs and medicinal plants, such as *eucalyptus* and mint essential oils, reflecting various uses and indications (Blumenthal et al., 1998). Cajeput essence is used as a urinary antiseptic (Moreira Filho and Goltcher, 1972 apud Fenner et al. 2006).

There are also other unproven uses: its use for muscle and joint pain in rheumatic diseases, sciatica, low back pain, disc dislocation and low back pain. The oil is also used for muscle tension and pain after sports injuries such as sprains, bruises and stretching of the muscles or ligaments (Gruenwald, Brendler and Jaenicke, 2000).

Other indications and uses include the treatment of rheumatism, neurogenic pain, temporary relief of muscle pain, tendency to infection, wounds, burns and tonic function (Brophy et al., 1989; Johns

and Rudolph, 1992; Leach et al., 1993; Gruenwald, Brendler and Jaenicke, 2000; Monteiro et. al., 2013).

Melaleuca quinquenervia

Melaleuca quinquenervia is an exotic, invasive tree from Australia belonging to the *Myrtaceae* family. It proliferates rapidly, producing large amounts of seeds, adapted to both dry and flooded areas. The species was introduced to the United States in early 1886 as an ornamental plant and also to help dry out marshy areas (Dray Jr. et al., 2004).

Melaleuca quinquenervia is a small to medium tree 4 to 12 m high, with exceptional specimens reaching 25 m (Boland et al., 1984). This species typically occurs in low-lying, seasonally flooded habitats along the east coast of Australia, ranging from Towra Point (Botany Bay) in New South Wales to Cape York Peninsular in Queensland extending south of New Guinea. It is also found in New Caledonia, where extensive settlements occur on well-drained slopes and ridges, especially in the northwestern part of the island. The species has been planted in tropical lowlands in several countries where it supplies fuel, wood, flowers for honey production and leaf essential oil (Doran and Turnbull, 1997, Doran and Turnbull, 1999).

M. quinquenervia is a member of broadleaf *Melaleuca* group, known as the *Melaleuca leucadendra* alliance (Blake, 1968). The alliance is a complex of 15 species, including those known as *Melaleuca cajuputi* Powell, *M. leucadendra* L. and *Melaleuca viridiflora* Sol. Ex Gaertner and *M. quinquenervia*. These species, however, were previously combined under the name of *Melaleuca leucadendron* L. (Craven, 1999). Reports of *M. quinquenervia* essential oil chemistry may therefore appear under various names and often under that of his close relative. *M. viridiflora* (Blake, 1968). Plants identified as *M. viridiflora* in literature prior to 1968, which are outside their natural distribution from tropical regions in Western Australia, the Northern Territory and Queensland, are probably *M. quinquenervia*.

Some of the *M. quinquenervia* leaf essential oils are of commercial interest. *M. quinquenervia* leaves are a rich source of 1,8-cineol essential oil called Niaouli oil, which is used in pharmaceutical preparations for the relief of coughs and colds, rheumatism, neuralgia, and aromatherapy. They have *in vitro* antibacterial action and stimulate circulation (Blumenthal et al.,

1998; Gruenwald, Brendler and Jaenicke, 2000), upper respiratory tract secretion (Blumenthal et al., 1998), treatment of cough and bronchitis (Gruenwald, Brendler and Jaenicke, 2000). Unproven uses include oil for rheumatism, neuralgia and cystitis.

M. quinquenervia has been reported to occur in two distinct chemical forms or “chemotypes”. Chemotype 1 is characterized by acyclic leaf terpenes, in particular high concentrations of sesquiterpene Nerolidol (74-95% of the total oil), and monoterpene linalol (Ireland et al., 2002, Wheeler et al., 2007). Chemotype 2 contains high concentrations of cyclic leaf terpenes, especially sesquiterpene viridiflorol (13-66% of total oil), and monoterpenes 1,8-cineol and α -terpineol (Ireland et al., 2002, Wheeler et al., 2007).

The composition of the essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (*Myrtaceae*) varies widely (different chemotypes). The main components listed for this oil are E-nerolidol and viridifloral, which have distinct biological properties (Padovan et al. 2010; Santiago et al., 2018).

***Melaleuca* essencial oil in researches against microorganisms**

The literature reports the proven effectiveness of TTO in wound healing, promoting skin revitalization (Mertas et al, 2015). A study by Chin and Cordell (2013) tested TTO in patients with wounds infected with *Staphylococcus aureus*. As a result, accelerated healing was observed in patients who used the oil and total revitalization of the injured skin, noting also the reduction of bacteria that infected the wounds.

TTO is an excellent bactericide. Some research has demonstrated the effectiveness of this oil against different strains of bacteria, such as *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila* and *Staphylococcus aureus* (Amri et al, 2012).

Tea tree oil is also used in products in dentistry, mainly those intended to reduce plaque, gingivitis, periodontitis and dental caries. *In vitro* evidence has shown that *Melaleuca alternifolia* has bactericidal and bacteriostatic effects against the most prevalent periodontopathogens. Clinical studies have found effects in the reduction of gingival inflammation, antiplaques, beneficial antioxidant properties for the host and reduced immunoinflammatory responses to pathogens (Santamaria et al, 2014; Graziano et al,

2016; Casarin et al, 2018; Oliveira, 2019).

Melaleuca oil has showed good antibacterial action *in vitro* against microorganisms on the skin surface, oral cavity and its action against microorganisms with multidrug resistance, however, studies of its mechanism of action on microbial cells, studies *in vivo*, and its cytotoxic activity still they are necessary, since their applicability has been spreading to the areas of dentistry, be it in the chemical maintenance of hygiene or prevention of oral diseases, cleaning after skin cleansing and even after podiatry procedures.

Conclusion

The essential oil of *Melaleuca* spp. it can be an important ally of current medicine in combating multidrug-resistant pathogens. Being a plant essential oil, it is a natural treatment and when used correctly it presents a more specific and less aggressive therapeutic activity to the health of compromised patients.

The essential oil has been shown to be effective against several pathogenic microorganisms resistant to conventional drugs. Despite its geographical location, the extraction of this essential oil has in its composition, mainly terpinene-4-ol, a compound already described in the literature with antimicrobial properties that characterize the activity of this essential oil. However, the isolated composition of these components needs to be studied regarding to its mechanisms of action and description of the morphological impairment of these microorganisms. This review highlights the main therapeutic applications of this essential oil and stimulates further studies on the therapeutic employability of the essential oil of *Melaleuca* spp.

References

1. Abrantes M.R.; Lima E.O.; Medeiros M.A.P.; Menezes C.P.; Guerra, F.Q.S.; Milan E.P. Antifungal activity of essential oils on non *Candida albicans* yeasts. Rev. Bras. Farm. 94 (3): 227 – 233, 2013
2. Al-Mariri A, Safi M. The antibacterial activity of selected Labiatae (Lamiaceae) essential oil against *Brucella melitensis*. Iran J Med Sci, 2013; v.38, n.1, p. 44-50.
3. Alvarenga AL, Schwan RF, DRD, Schwan-Estrada KRF, Bravo-Martins CEC. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. Rev Bras Pl Med. 2007; 9:86–91.
4. Amri I, Mancini E, De Martino L, Marandino A, Lamia H, Molshen H, Bossen Y, Scognanidio M, Reveichan E, De Feo V. Chemical composition and biological activities of the essential oil, from tree *Melaleuca* species grown in Tunisia. Int J Mol Sci 2012 Dec; 13(12): 16580-91.
5. Bagg, A. J.; Jackson M. S.; Sweeney M. P.; Ramag G.; Davies A. N. 2006 - Susceptibility to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil of yeasts isolated from the mouths of patients with advanced cancer. Oral Oncology, v. 42, p. 487-492.
6. Banes-Marshall, L.; Cawley, P.; Phillips, C.A. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against bacterial and *Candida* spp. isolates from clinical specimens. British Journal of Biomedical Science, 2001, v.58, p.139-145,
7. Barbosa, J P. Atividade anti-Candida de óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus*. 2018. 1 recurso online (73 p.). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP.
8. Barbosa, JP; Oliveira, TR; Puppín, DGPB, Teixeira, A L, Boni, GC; et al.; *Eucalyptus* spp: Candida albicans Antibiofilm Activity. EC Dental Science 18.5 (2019): 824-840.
9. Benger, S.; Townsend, P.; Ashford, R.L.; Lambert, P. An in vitro study to determine the minimum inhibitory concentration of *Melaleuca alternifolia* against the dermatophyte *Trichophyton rubrum*. The Foot, v.14, p.86-91, 2004. doi: 10.1016/j.foot.2003.11.002
10. Blake, S.T. 1968. A revision of *Melaleuca leucadendron* and its allies (*Myrtaceae*). Contributions from the Queensland Herbarium, v. 1, p. 1–114
11. Blumenthal, M.; Busse, W.R.; Goldberg, A.; Gruenwald, J.; Hall, T.; Riggins, C.W. e Rister, R.S. (eds.) - The Complete Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines. 1998, 1st edition. Boston, MA: American Botanical Council. p. 684 DOI: 10.4236/ad.2016.41004.
12. Boland, D.J., Brooker M.I.H., Chippendale G.M., Hall N., Hyland B.P.M., Johnston R.D., Kleinig D.A., and Turner J.D. 1984. Forest trees of Australia, 4th ed. Thomas Wadsworth, Melbourne, Australia.
13. Brophy JJ, Davies NW, Southwell IA, Stiff IA, Williams LR. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpin-4-ol* type (Australian tea tree). J.Agric. Food Chem, 1998; 37:1330-1335.

14. Brophy, J.J. et al. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca* terpinen-4-ol type (Australian tea tree). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1989.v.37, p.1330- 5.
15. Brophy, J.J.; Davies, N.W.; Southwell, I.A.; Stiff, I.A.; Williams, L.R. - Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca* terpinen-4-ol type (Australian tea tree). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1989, v. 37, p. 1330-5.
16. Buck, D.S.; Nidorf, D.M.; Addino, J.G. Comparison of two topical preparations for the treatment of onychomycosis: *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and clotrimazole. *The Journal of Family Practice*, v. 38, p. 601-605, 1994.
17. Budhiraja, S.S.; Cullum, M.E.; Sioutis, S.S.; Evangelista, L.; Habanova, S.T. - Biological activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil component, terpinen-4-ol, in human myelocytic cell line HL-60. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*, v. 22, p. 447-453. 1999.
18. Buso-Ramos, M M. Atividade anticandida e citotoxicidade do óleo essencial de *Psidium cattleianum* (araçá-amarelo). 2017. 1 recurso online (77 p.). Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP.
19. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan; 19 (1): 50–62.
20. Carson, C.F.; Riley, T.V. - Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology*, 1993 v. 16, p. 49-55.
21. Carson, C.F.; Riley, T.V. - The antimicrobial activity of the tea tree oil. *Medical Journal of Australia*, 1994, v. 160, p. 236.
22. Carson, C.F.; Riley, T.V. 1995 - Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 78, p. 264-269.
23. Carson, C.F.; Riley, T.V.; Cookson, B.D. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. *Journal of Hospital Infection*, v. 40, p. 175-178, 1998
24. Casarin, M; Pazinato, J; Santos, R C V; Zanatta, F B. *Melaleuca alternifolia* and its application against dental plaque and periodontal diseases: A systematic review. *Phytother Res*, 32(2):230-242, Feb. 2018.
25. Castro R.D.; Lima E.O (2010) Atividade antifúngica in vitro de óleo essencial de *Eucalyptus glóbulos* L. sobre *Candida* spp. *Revista de Odontologia da UNESP*, v.39, n.3, p. 179-184
26. Cecanho R, Koo H, Rosalen PLJA, Park YK, Cury JA. Efeito do extrato hidroetanólico de *Mikania laevigata* sobre o crescimento bacteriano e a produção de glucanos por estreptococcus do grupo *mutans*. *Anais da XIV Reunião Anual da FESBE, Caxambu - MG*, 1999; 14: 290.
27. Cechinel Filho V, Yunes RA. Strategies for obtaining pharmacologically active compounds from medicinal plants: concepts about structural modification for improve the activity. *Quím Nova*. 1998 Feb;21(1):99–105.
28. Craven, L. A. 1999 - Behind the names: the botany of tea tree, cajuput and niaouli. In: Southwell, I.A.; Lowe, R.F. (ed.). *Tea Tree: The Genus Melaleuca*, p. 11-28. *Series Medicinal and Aromatic Plants, Industrial Profiles*, vol. 9. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
29. Craven, L.A.; Dawson, J.W. - *Callistemon* of New Caledonia transferred to *Melaleuca* (*Myrtaceae*). *Adansonia*, v. 20, p. 191–194. 1998
30. D'Arrigo, M.; Ginestra, G.; Mandalari, G.; Furneri, P.M.; Bisignano, G. 2010 - Synergism and postantibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine*, v. 17, p. 317-322
31. Doran, J. C., and J. W. Turnbull. 1997. *Australian trees and shrubs: species for land rehabilitation and farm planting in the tropics*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
32. Doran, J. C.; Turnbull, J. W. *Australian trees and shrubs: species for land rehabilitation and farm planting in the tropics*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1997. 384 p.
33. Dray Jr., F.A. et al. Genetic variation in *melaleuca quinquenervia* affects the biocontrol agent *oxyops vitiosa*. *Weed Technol.*, v. 18, n. 1, p. 1400-1402, 2004.
34. Duarte MCT, Figueira GM, Pereira B, Magalhães PM, Delarmina C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. *Rev. Bras. Farmacogn*, 2004; 14(01): 06-08.
35. Falci SPP et al. Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical isolates of antibiotics

resistant *Staphylococcus aureus*. Acta Cirurgica Brasileira, v. 30, n. 6, p. 401-406, 2015.

36. Fenner, R.; Betti, A.H.; Mentz, L.A.; Rates, S.M.K. 2006 - Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 3, p. 369-394.

37. Finlay-Jones, J.; Hart, P.; Riley, T. et al. Anti-inflammatory activity of tea tree oil. Nedlands, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation, 2001.

38. Garozzo, A.; Timpanaro, R.; Stivala, A.; Bisignano, G.; Castro, A. - Activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on Influenza virus A/PR/8: Study on the mechanism of action. Antiviral Research, 2011, v. 89, p. 83-88.

39. Gonçalves, B.; Ferreira, C.; Alves, C.T.; Henriques, M.; Azeredo, J.; Silva, S. Vulvovaginal candidiasis: epidemiology, microbiology and risk factors. Critical Reviews in Microbiology, v. 42, n. 6, p. 905-927, 2016.

40. Graziano, T S; Calil, C M; Sartoratto, A; Franco, GC N; Groppo, F C; Cogo-Müller, K. In vitro effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on growth and production of volatil e sulphur compounds by oral bacteria. J Appl Oral Sci, 24(6):582-589, Nov-Dec. 2016.

41. Groppo, F.C.; Ramacciato, J.C.; Simões, R.P. et al. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. International Dental Journal, v. 52, p. 433-437, 2002

42. Gruenwald, J.; Brendler, T. e Jaenicke, C. 2000 - PDR® for Herbal Medicines™. Montvale, NJ: Medical Economics Company Inc. 858 p

43. Halcón L.; Milkus, K. *Staphylococcus aureus* and wounds: A review of tea tree oil as a promising antimicrobial. American Journal of Infection Control, v. 32, n. 7, 2004

44. Hammer, K.A.; Carson, C.F.; Riley, T.V. In vitro susceptibility of *Malassezia furfur* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Journal of Medical and Veterinary Mycology, v. 35, p. 375-377, 1997

45. Hammer, K.A.; Carson, C.F.; Riley, T.V. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). American Journal of Infection Control, v. 24, p. 186-189, 1996.

46. Hammer, K.L.; Carson, C.F.; Riley, T.V. 1999 - Antimicrobial activity essential oils and other plant

extracts. Journal of Applied Microbiology, v. 86, p.985-990

47. Hart, P.H.; Brand, C.; Carson, C.F. et al. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. Inflammation Research, v.49, p.619-26, 2000.

48. Höfling, JF, et al. "Susceptibility Profile of the Essential Oil from *E. muticus* against *C. albicans* Biofilm". EC Dental Science 18.8 (2019): 1844-1857.

49. Ireland F; Hibbert, D.B., Goldsack R.J, Doran J.C, Brophy J.J. Chemical variation in the leaf essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake Biochemical Systematics and Ecology, 30 (2002), pp. 457-470

50. Jandourek, A.; Vaishampayan, J.K.; Vazquez, J.A. Efficacy of *Melaleuca* oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. AIDS, v. 12, p. 1033-1037, 1998

51. Johns, M.R.; Johns, J.E.; Rudolph, V. 1992 - Steam distillation of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 58, p. 49-53

52. Karen B. Chin and Barbara Cordell. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 2013; v. 19; p. 942-945. <http://doi.org/10.1089/acm.2012.0787>.

53. Kaufman, S. R.; Smouse, P. E. Comparing indigenous and introduced populations of *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) Blake: response of seedlings to water and pH levels. Oecologia, v. 127, n. 3, p. 487-494, 2001.

54. Khan SMA, Malik A, Ahmad I. Anti-Candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. Medical Mycology. 2012, 50:33-42

55. Leach, D.N.; Wyllie, S.G.; Hall, J.G.; Kyratzis, I. - Enantiomeric composition of the principal components of the oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, v. 41, p. 627-32

56. Lis-Balchin, M.; Hart, S. L.; Deans, S.G. - Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum scoparium* or Manuka and *Kunzea ericoides* or Kanuka), originating in Australia and New Zealand. Phytotherapy Research, 2000, v. 14, p.

623–629.

57. Mendes, J. M. Investigação da atividade antifúngica de óleo essencial de *Eugenia coryophyllata* Thunb.sobre cepas de *Candida tropicalis*. 2011. 78p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Concentração: Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.
58. Mertas, A.; Garbusińska, A.; Szliszka, E.; Jureczko, A.; Kowalska, M.; Król, W. The Influence of Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*) on Fluconazole Activity against Fluconazole-Resistant *Candida albicans* Strains. *BioMed Research International*, v.2015, Article ID 590470, 2015.
59. Mondello, F.; De-Bernardis, F.; Girolamo, A.; Salvatore, G.; Cassone, A. - In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole susceptible and resistant human pathogenic yeasts. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, v. 51, p. 1223-1229.
60. Moreira Filho, H.E; Goltcher, A. 1972 - Plantas medicinais I. Curitiba: Imprensa da Universidade Federal do Paraná. 103 p
61. Nelson, R.R.S. In -vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1997, v. 40, p. 305-306,
62. Oliveira FQ, Gobira B, Guimarães C, Batista J, Barreto M, Souza M. Plants species indicated in odontology. *Rev Bras Farmacogn*. 2007 Sep;17(3):466–76.
63. Oliveira, A.C.M.; Fontana, A.; Negrini, T.C.; Nogueira, M.N.M.; Bedran, T.B.L.; Andrade, C.R.; Spolidorio, L.C.; Spolidorio, D.M.P. - Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (*Myrtaceae*) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, 2011, v.13, n.4, p.492-499
64. Oliveira, JB., Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* sp. frente à *Cymbopogon citratus* stapf (capim cidrão): estudo experimental in vitro e in vivo.; Dissertação de mestrado, 2016
65. Oliveira, TR de. Avaliação da toxicidade “in vivo”, atividade antifúngica e efeito anti-proliferativo do óleo essencial de *Melaleuca* spp. (Tea tree, Cajuput e Naiuli) sobre espécies do gênero *Candida*. 2019. 1 recurso online (82 p.). Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP.
66. Padovan A, Keszei A, Kořllner TG, Degenhardt J, Foley WJ (2010) The molecular basis of host plant selection in *Melaleuca quinquenervia* by a successful biological control agent. *Phytochemistry* 71:1237–1244. doi:10.1016/j.phytochem.2010.05.013
67. Peña, E.F. 1962 *Melaleuca alternifolia* oil. Its use for trichomonal vaginitis and other vaginal infections. *Obstetrics and Gynaecology* 19, 793-795.
68. Puppim, D de G P B. Ação antifúngica e toxicidade do óleo essencial de *Elionurus muticus* (capim-limão brasileiro). 2018. 1 recurso online (50 p.). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP.
69. Saller R, Berger T, Reichling J, Harkenthal M. Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian tea tree oil. *Phytomedicine*. 1998;5(6):489–95
70. Santamaria, M J; Petermann, K D; Vedovello, S A; Degan, V; Lucato, A; Franzini, C M. Antimicrobial effect of *Melaleuca alternifolia* dental gel in orthodontic patients. *Am J OrthodDentofacialOrthop*,145(2):198-202, fev. 2014.
71. Santiago JA; Cardoso MG; Batista LR; Santiago WD; Passamani FRF; Rodrigues LMA; Nelson DL.; Effect of the essential oils from *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca quinquenervia* and *Backhousia citriodora* on the synthesis of ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* isolated from tropical wine grapes. *J Food Sci Technol* (January 2018) 55(1):418–423 <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2857-4>
72. Santos EB, Dantas GS, Santos HB, Diniz MFFM, Sampaio FC. Ethnobotanical studies of medicinal plants for oral conditions in the municipality of João Pessoa, Brazil. *Rev Bras Farmacogn*. 2009 Mar;19(1B):321–4.
73. Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Giannini MJSM. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*. 1o de janeiro de 2013 62(Pt 1):10–24.
74. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol*. dezembro de 2004;35(4):275–80
75. Satchell, A.C.; Saurajen, A.; Bell, C. *et al*. Treatment of interdigital *Tinea pedis* with 25% and

50% tea tree oil solution: a randomized, placebo - controlled, blinded study. The Australasian Journal of Dermatology, 2002, v. 45, p. 175 -178

76. Silva FM, Paula JE, Espindola LS. Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. Mycoses. 52(6):511-17, 2009.

77. Silva, S.R.S.; Demuner, A.J.; Barbosa, L.C.A.; Andrade, N.J.; Nascimento, E.A.; Pinheiro, A.L. - Análise dos Constituintes Químicos e da atividade antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia* Cheel. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2003, v. 6, p. 63-70

78. Souli M, Galani I, Giamarellou H (2008) Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. Euro Surveill 13(47):1-11.

79. Southwell IA, Stiff IA. Ontogenetical changes in monoterpenoids of *Melaleuca alternifolia* leaf. Phytochemistry. 1989 Jan 1;28(4):1047-51.

80. Syed, T.A.; Qureshi, Z.A.; ALI, S.M. et al. Treatment of toenail onychomycosis with 2% butenafine and 5% *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in cream. Tropical Medicine & International Health, 1999, v. 4, p. 284 -287.

81. Tempone AG, Sartorelli P, Teixeira D, Prado FO, Calixto IA, Lorenzi H, Melhem MS. Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2008, 103(5): 443-449.

82. Tong, M.M.; Altman, P.M.; Barnetson, R.S. Tea tree oil in the treatment of *Tinea pedis*. The Australasian Journal of Dermatology, 1992, v. 33, p. 145 -149.

83. Veiga Junior, FV; Pinto AC; Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? Quím Nova. 2005; 28(3): 519-528.

84. Walker, M. Clinical investigation of Australian *Melaleuca alternifolia* oil for a variety of common foot problems. Current Pediatrics, v. 43, p. 28-34, 1972

85. Wheeler G.S., Pratt P.D., Giblin-Davis R.M., K.M. Ordnung; Intraspecific variation of *Melaleuca quinquenervia* leaf oils in its naturalized range in Florida, the Caribbean, and Hawaii Biochemical Systematics and Ecology, 2007, 35, p. 489-500.

Artigo de Revisão

ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DO ALCALOIDE N, N – DIMETILTRIPTAMINA (DMT)

Autores: Lilian Carvalho Machado¹, Renan Honorato da Cruz¹, Soraia Sayuri Higa¹,
Thamires Raquel Barros Silva¹, Thamyris Cavalcante Lima¹, Robson Seriani^{2,A}.

¹Acadêmicos do curso de farmácia da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, Brasil.

²Orientador e docente da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:
Dimetiltryptamina,
toxicidade,
efeitos terapêuticos

Resumo

A N, N - dimetiltryptamina (DMT) é um alcaloide alucinógeno presente nas folhas de *Psychotria viridis*, uma planta muito utilizada em chás que são ingeridos durante determinados rituais religiosos, sendo o chá de Ayahuasca um dos mais conhecidos. Devido sua semelhança com o neurotransmissor serotonina (5-HT), a DMT age de forma agonista nos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}, causando diversos efeitos como náuseas, tremores e mudança de humor, alguns relatos apontam alterações no sistema imunológico devido à diminuição dos níveis de linfócitos CD3 e CD4. No entanto, pesquisas recentes apontam, também, os efeitos terapêuticos da DMT, comprovando através de testes in vivo seu potencial antitumoral, antidepressivo e ansiolítico, além de auxiliar no tratamento contra o alcoolismo e tabaco. Considerando o uso crescente de chás que contêm a DMT, esse trabalho tem como objetivo descrever seus principais efeitos farmacológicos e toxicológicos em virtude da limitação de referências e a necessidade de compilação de dados dispersos na literatura. O presente estudo conclui que a DMT possui potencial farmacológico, porém também importantes efeitos adversos, incluindo toxicidade, o que corrobora com a necessidade da realização de mais testes agudos e crônicos, além de pesquisas epidemiológicas focadas na sua ação nas populações que a usam.

^AAutor correspondente

Robson Seriani - E-mail: robson.seriani@anhembi.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5086-6708>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.84> - Artigo recebido em: 31 de janeiro de 2020 ; aceito em 15 de fevereiro de 2020 ; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:

Dimethyltryptamine,
toxicity, therapeutic effects

Abstract

N, N - dimethyltryptamine (DMT) is a hallucinogenic alkaloid present in the leaves of *Psychotria viridis*, a plant widely used in teas that are ingested during some religious ritual, ayahuasca tea is one of the most known. Consider its similarity to the neurotransmitter serotonin (5-HT), DMT acts as an age-agonist at the 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} serotonergic receptors, causing several effects such as nausea, tremors and mood changes, some reports indicated system immune changes due to lower levels of CD3 and CD4 lymphocytes. However, recent researches has also pointed out the therapeutic effects of DMT, proving through in vivo tests its antitumor, antidepressant and anxiolytic potential, in addition it helps in the treatment against alcoholism and tobacco. Considering the increasement use of DMT teas, this work aims to describe its main pharmacological and toxicological effects due to limited references and the need to compile data dispersed in the literature. The present study concludes that DMT has potential pharmacological action, but also important adverse effects, including toxicity, which corroborates the need of doing more acute and chronic tests, in addition to epidemiological research focused on its action in which users use.

Introdução

A N, N-dimetiltriptamina (DMT), **figura 1**, é um alcaloide indólico com potente ação alucinógena que pode ser obtido de forma exógena através de cogumelos, raízes, caules e folhas de diversas plantas, podendo ser encontrada também em tecidos de mamíferos, animais marinhos e anfíbios. Além disso, nos humanos, apresenta síntese endógena, sendo identificada no sangue, urina e no fluido cérebro-espinhal [1,2].

No geral, dentre as plantas consideradas alucinógenas ou expansoras da mente, destaca-se, na produção da DMT, as folhas da espécie *Psychotria viridis*, comumente utilizada nos chás de rituais religiosos por tribos indígenas. Entretanto, devido à metabolização da DMT pelas isoenzimas monoamino oxidase (MAO) hepáticas e gastrointestinais, as folhas do arbusto são utilizadas juntamente do cipó da espécie *Banisteriopsis caapi*, que possui substâncias com potente capacidade de inibição temporária da MAO, aumentando o efeito da DMT [3].

A DMT é estruturalmente semelhante ao neurotransmissor serotonina (5-HT), visto que, ambos são sintetizados a partir do aminoácido essencial trip-

tofano. Durante o processo de síntese da substância ocorre a reação de descarboxilação do aminoácido através da enzima aminoácido aromático descarboxilase (AADC), formando então a triptamina. A partir disso, a triptamina sofre ação da enzima indoletilamina-N-metiltransferase (INMT), responsável por introduzir um grupamento metil na molécula de triptamina. Ademais, outro grupamento metil é introduzido à N-metiltriptamina, gerando então a N, N-dimetiltriptamina (DMT) [4].

Devido à similaridade com a serotonina, a DMT age como agonista parcial nos receptores serotoninérgicos (5-HT) pós-sinápticos [2]. Ela atua principalmente nos subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C}, mas também podem ligar-se a receptores de glutamato, dopamina, acetilcolina, TAAR e sigma-1 [5]. Essas interações resultam no efeito alucinógeno, além de causar outros sintomas como diarreia, náuseas, vômitos, hipertensão, taquicardia e tremores, variando de acordo com a dosagem de DMT [2].

O presente trabalho tem como objetivo reunir dados e informações relacionadas aos efeitos terapêuticos e toxicológicos da DMT através de um levantamento bibliográfico de estudos realizados em

humanos e animais que foram publicados no período de 2000 a 2019. Além disso, consideraram-se os efeitos causados pela Ayahuasca, uma vez que a mesma corresponde a principal forma de consumo de DMT.

Material e Método

Este estudo constitui-se de uma revisão bibliográfica realizada nas bases de dados *Pubmed*, *SciELO* e *Google Acadêmico* utilizando as palavras-chaves “dimetiltriptamina”, “efeitos terapêuticos”, “efeitos toxicológicos” e “Ayahuasca”. A seleção dos artigos e periódicos foi feita de acordo com o seu ano de publicação, sendo inclusas somente as pesquisas realizadas a partir do ano 2000.

Resultados

Chá de Ayahuasca

A partir dos achados na literatura, identificamos que o chá de Ayahuasca é uma rica fonte de DMT, a bebida é conhecida pelo seu efeito alucinógeno e é utilizada, geralmente, por indígenas no noroeste da Amazônia para fins religiosos. Além da DMT, há também a presença de beta-carbolinas monoaminas oxidases, sendo elas harmina, tetrahydroharmina (THH) e harmalina, potentes inibidores que permitem a atividade oral da DMT, visto que, as mesmas são capazes de inibir a enzima monoaminoxidase (MAO), permitindo assim, uma maior disponibilidade da molécula ao Sistema Nervoso Central (SNC) [6].

Figura 1: Estrutura química da N, N-dimetiltriptamina (DMT)

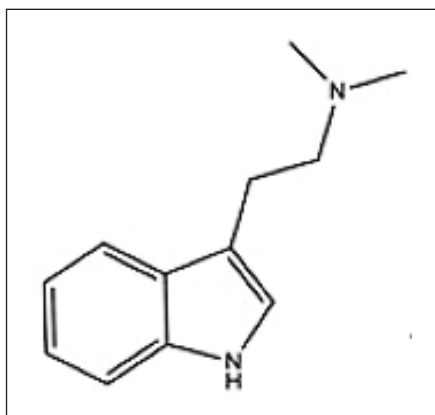


Figura 1. Fonte: Adaptado de Riba *et al.* [10].

Farmacocinética e marcadores toxicológicos

Em relação à farmacocinética da DMT, estudos observaram que os seus efeitos alucinógenos e o pico de concentração no sangue apresentam o tempo médio de 1,5 horas e os valores de base são atingidos após 6 horas de ingestão do chá [7]. Além disso, identificou-se que a inibição da MAO pelas β -carbolinas é de curta duração e principalmente periférica, porém, ainda que a inibição fosse parcial, já seria suficiente para causar efeitos psicoativos [8].

A partir de um método de espectrometria de massas com armadilha de íons de HPLC usando ionização por eletropulverização a quente desenvolvido em humanos para compreensão dos parâmetros bioquímicos, foi possível identificar os compostos ácido indolacético (IAA), DMT-N-óxido (DMT-NO), 5-hidroxi (OHDMT), N-metiltriptamina (NMT), 2 metil-tetrahydro-beta-carbolina (2-MTHBC) e o O-desmetilmetabolito de THH e 7-hidroxi-THH (THHOH), como os principais metabólitos encontrados no sangue e urina, através do consumo de DMT [9].

As análises mostraram que a DMT-NO foi o principal metabólito urinário, e também pode ser encontrada no sangue, atingindo concentrações maiores que a própria DMT. Além disso, observou-se aumentos significativos nos níveis plasmáticos de IAA, o qual foi explicado como uma possível inibição incompleta da MAO-A pelas β -carbolinas (harmalina, harmina e outras) [9].

Apesar dos inúmeros trabalhos citarem a desaminação oxidativa feita pela MAO como principal via de metabolização da DMT, segundo Riba *et al.* [10], esta não é a sua única via de metabolização, há também rotas alternativas como a N-oxidação, N-desmetilação e ciclização, conforme observa-se na **Figura 2**.

Farmacodinâmica

A DMT é um composto que age principalmente nos receptores 5HT_{2A}, 5HT_{2C} e 5HT_{1A}, sendo considerado um psicoativo quando injetado ou fumado, porém, quando ingerido, é metabolizado rapidamente pela atividade da monoamina oxidase (MAO-A) encontrada no trato gastrointestinal, por esse motivo, os alcalóides β -carbolina harmina, tetrahydroharmina (THH) e harmalina encontradas nas bebidas ritualísticas de Ayahuasca, agem como inibidores da MAO, tornando a DMT também um psicoativo por via oral [11].

Figura 2: Vias metabólicas da N, N-dimetiltriptamina. MAO = monoamina oxidase; ALDH = aldeído-desidrogenase.

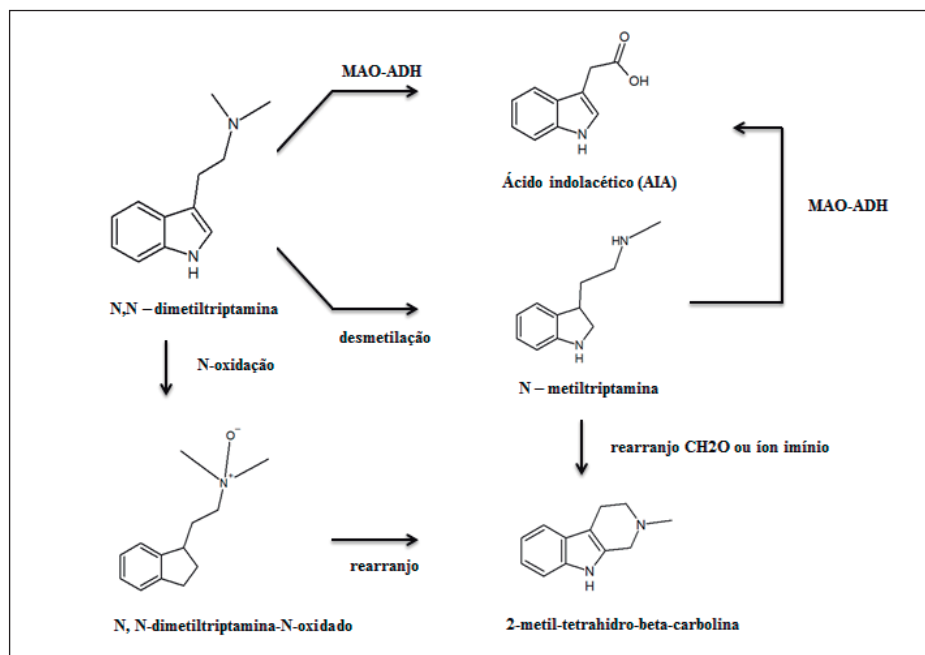


Figura 2. Fonte: Adaptado de Riba *et al.* [10].

O receptor 5-HT_{1A} atua na diminuição do AMP cíclico (adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico) e eleva a hiperpolarização da membrana, devido ao aumento da condução de K⁺. Entretanto, uma vez que os principais efeitos do chá de Ayahuasca são delírios, hipertensão, palpitação, taquicardia, tremores, mi-dríase, euforia e excitação agressiva, além de náuseas, vômitos e diarreia, sugere-se que a maior ligação da DMT seja com os receptores 5-HT₂, já que estes receptores estão distribuídos pelas plaquetas, músculo liso, córtex cerebral e estômago, e são responsáveis pelo aumento do IP₃ (inositol trifosfato). O aumento desta substância está diretamente ligado ao aumento da secreção e da motilidade dos órgãos e tecidos [12].

Efeitos terapêuticos

Nos últimos anos, a quantidade de estudos e revisões sistemáticas sobre o potencial efeito terapêutico oferecido pelos componentes do chá de Ayahuasca vem aumentando, considerando que os resultados obtidos têm demonstrado a eficácia dessas substâncias no tratamento contra a dependência de álcool e tabaco, além de apresentar efeitos antidepressivo e ansiolítico [13].

Através de um questionário realizado na Austrá-

lia com usuários do chá de Ayahuasca entre julho e agosto de 2009, cerca de 75% dos entrevistados consideraram a experiência com o chá significativa e 55% consideraram o uso do chá como uma boa experiência espiritual. Em outra pesquisa feita também na Austrália com participantes que relataram o uso de DMT pelo menos uma vez na vida, obteve-se a informação de que em 31,1% dos casos foi citado que a DMT possuía benefícios psicoterapêuticos. Foi notório um aumento significativo no uso psicoespiritual da substância, sendo informado em 75,5% dos casos como um efeito positivo da DMT fumada, e o uso da Ayahuasca, com 31,1% dos casos [14].

Segundo dos Santos *et al.* [15], o agonismo nos receptores corticais 5-HT_{2A} podem estimular a neurotransmissão de glutamato e pode aumentar a expressão de fatores neurotróficos, como o BDNF e o GDNF, que correspondem, respectivamente, ao fator neurotrófico derivado do cérebro e ao fator neurotrófico derivado da linha celular glial. Estes fatores favorecem a neuroplasticidade e a neurogênese, aumentando o tamanho de espinhos dendríticos em neurônios corticais.

Recentemente, em um estudo realizado com primatas (n = 15) para avaliar o efeito antidepressivo do chá de Ayahuasca, os animais foram separados de seus

respectivos grupos, induzindo-os então a depressão, os mesmos não poderiam ter qualquer tipo de contato a não ser olfatório e auditivo. Durante o estudo, todos os animais foram tratados com uma única dose de Ayahuasca (1,67 mL/300 g de peso corporal via gavagem). Os efeitos comportamentais e fisiológicos foram avaliados 24 horas e 48 horas após a administração do chá e foram considerados rápidos e positivos, demonstrando redução da depressão e de coceira (efeito estereotipado) nos animais. Além disso, houve um aumento na taxa de alimentação e recuperação do peso corporal dos primatas, assim como os níveis de cortisol mantiveram-se conforme os valores de base [16].

Já em um estudo feito com ratos Wistars fêmeas, foi administrado Ayahuasca em doses de 30x e 50x sendo que a análise mostrou que a infusão de ayahuasca continha 0,141 mg/mL de DMT, 1,56 mg/mL de harmina e 0,122 mg/mL de harmalina, onde uma dose da infusão (150 mL) corresponde a 0,302 mg/kg de DMT, 3,34 mg/kg de harmina e 0,261 mg/kg de harmalina. Os resultados demonstraram uma ativação neuronal nas regiões que apresentavam neurotransmissão serotoninérgica e efeitos antidepressivos. Em relação a esses resultados, observou-se que os compostos contidos na Ayahuasca, na qual possuem ação nas vias serotoninérgicas, participam desse processamento emocional em relação à depressão [17].

Santos *et al.* [18], avaliaram um grupo de pessoas que faziam parte do ritual Santo Daime e utilizavam o chá de Ayahuasca por pelo menos 10 anos. O teste controlado por placebo, tinha a finalidade de avaliar as condições emocionais, como pânico, desesperança e ansiedade, sendo que, após 1 hora da ingestão da Ayahuasca, através de um questionário os voluntários relataram redução desses sintomas.

Em outro estudo mais recente [19], foi avaliado a ingestão de uma dose de Ayahuasca em 17 pacientes de uma clínica psiquiátrica que apresentavam diferentes níveis de depressão. Após 8 horas, foi realizada uma tomografia computadorizada por emissão de fóton único que identificou o aumento da perfusão sanguínea no núcleo esquerdo accumbens, ínsula direita e área subgenua esquerda, que são regiões do cérebro envolvidas na regulação do humor e das emoções e que são relacionadas aos efeitos terapêuticos dos antidepressivos tradicionais. Assim, como resultado houve diminuição da depressão e aumento da psicoatividade.

Cameron *et al.* [20] conduziram um estudo com ratos machos adultos, nos quais foram aplicados dimetiltriptamina para avaliar o comportamento de ansiedade e depressão dos mesmos, concluindo que os efeitos duradouros da DMT têm a capacidade de reduzir a ansiedade e facilitar a extinção da memória de medo.

Um estudo realizado *in vitro*, proporcionou a descoberta de que a molécula dimetiltriptamina tem atuação sob a enzima indoleamina-2,3 dioxigenase (IDO), essa enzima faz parte do processo imunológico do tumor. Assim, foi possível identificar uma atividade antitumoral da DMT, que demonstrou atuar como inibidora não competitiva da enzima indoleamina-2,3 dioxigenase (IDO) e também apresentou uma atividade citotóxica nas células mononucleares no sangue periférico e atividade inibitória na linha celular de glioma [21].

Em outro teste realizado *in vitro*, foi possível identificar que a dimetiltriptamina possui relação com os receptores sigma-1, a partir disso, percebeu-se uma atividade anti-inflamatória devido a DMT modular esse receptor e gerar efeitos nos canais de íons [22]. Essa ação no receptor sigma-1, interfere nos canais de íons provocando um influxo de cálcio para as mitocôndrias, gerando despolarização da membrana mitocondrial e, conseqüentemente, um desequilíbrio energético que resulta na indução das células a sofrerem apoptose [23,24].

Em um estudo feito com o intuito de analisar os efeitos da Ayahuasca sobre o sistema imunológico, 10 voluntários foram submetidos à ingestão do chá. Como resultado, houveram aumentos significativos nos níveis de cortisol e de células natural killer (NK), além de reduções significativas nos níveis de linfócitos CD3 e CD4 [25]. Segundo dos Santos [25], isso pode ser causado pela ação agonista da DMT sobre os receptores 5-HT_{2A} centrais e periféricos em leucócitos e outras células ou tecidos imunológicos, prejudicando sua diferenciação e funcionalidades. Ainda assim, as alterações dos níveis de linfócitos não representam riscos patológicos e o aumento das células NK pode ser favorável no combate a células cancerígenas ou infectadas por vírus [26].

Recentemente, um estudo relatou que a DMT causa aumento expressivo dos níveis de interferon- γ e interferon- β em culturas de células NK humanas e células dendríticas em seguida a administração *in vitro*, indicando que esse efeito pudesse ter interven-

do pelo receptor sigma-1, revelando um aumento nas expressões dos genes do interferon tipo I e II nessas células, mas não sendo relacionado a mutações no mRNA, nem nos níveis de proteína das citocinas inflamatórias [27].

No entanto, em um estudo mais recente, foram investigados os efeitos do DMT e da 5-metoxi-N, N-dimetiltriptamina (5-MeO-DMT) nos receptores sigma-1 em células imunes mielóides humanas sob condições inflamatórias e foi constatado que ambos reduziram o mRNA e os níveis secretados das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF α e quimiocina IL-8, enquanto elevaram a secreção da citocina anti-inflamatória IL-10. Assim, cessou-se a possibilidade de as células mielóides humanas desencadear respostas imunes adaptativas mediadas pelas células inflamatórias T auxiliar 1 (Th1) e T auxiliar 17 (Th17) [28].

Um estudo *in vitro* referiu que a DMT foi constatada no sobrenadante de uma linha celular de melanoma, onde a oxidação da DMT foi catalizada por peroxidases e, sugerindo então pelos autores que, como a atividade da peroxidase é largamente identificada em condições inflamatórias, a metabolização da DMT pode ser pertinente em patologias onde há inflamação [29].

A Ayahuasca pode auxiliar no tratamento de alguns tipos de distúrbios como uso abusivo de substâncias químicas e alcoolismo. Em uma notícia anunciada em uma rádio (BBC) foi relatado o uso bem-sucedido da Ayahuasca no tratamento de dependentes de cocaína em uma clínica de reabilitação localizada no Peru. Isso indicou que o tratamento com a Ayahuasca, em um contexto psicoterapêutico pode ser realmente eficaz. Um estudo teve como objetivo confirmar o uso da Ayahuasca no tratamento de alcoolismo. Nele, os candidatos selecionados para participar do estudo deveriam passar por tecnologias de neuroimagem com o intuito de rastreá-las inicialmente quanto à existência de déficits de transportadores de serotonina central. A interrupção da ingestão do álcool esteve interligada com o uso da Ayahuasca, causando elevação de longo prazo na densidade dos transportadores de 5-HT em plaquetas [6].

Efeitos toxicológicos

Existem poucos relatos sobre reações graves com risco de vida envolvendo a DMT no uso da Ayahuasca.

Alguns relatos televisivos e revistas descreveram casos fatais isolados, e outros sobre reações adversas, entretanto, os achados não forneceram evidências forenses, como, por exemplo, autópsia de composições químicas do composto ingerido, análise de sangue para alcaloides beta-carbolina, composição da bebida e quantidade ingerida [30].

Segundo Bilhimer *et al.* [30], há preocupações sobre interações da Ayahuasca e substâncias inibidoras da MAO, assim como, medicações serotoninérgicas, considerando a rota de metabolização da DMT pela MAO e o mecanismo de ação nos receptores de serotonina, respectivamente, que podem resultar na síndrome de serotonina. Este fenômeno não foi observado comumente em pessoas que utilizam antidepressivos concomitantemente com Ayahuasca, entretanto, os casos existem.

A síndrome de serotonina é um evento que pode ser potencialmente fatal e que envolve o excesso de estimulação dos receptores de serotonina (principalmente os receptores 5-HT1A e 5-HT2A) no sistema nervoso periférico e central. Este incidente pode ocorrer com o excesso de exposição a drogas serotoninérgicas, como Inibidores Seletivos da receptação de serotonina (ISRS) e/ou inibidores da MAO [31,32].

Referente ao uso da Ayahuasca em mulheres grávidas e adolescentes, os únicos estudos que avaliaram alguns destes aspectos, concluíram que adolescentes expostos ao chá de Ayahuasca em vários estágios de seu desenvolvimento, desde o útero, incluindo infância e adolescência, foram considerados normais do ponto de vista psiquiátrico, psicológico e neuropsicológico. Entretanto, vale ressaltar que não há publicações científicas sobre efeitos tóxicos da Ayahuasca em mulheres grávidas ou até mesmo no feto, apesar do consumo de Ayahuasca por anos em rituais [32].

Em um estudo realizado com ratas prenhas, os animais foram tratados com Ayahuasca por via oral (1x, 2x, 4x e 8x a dose ingerida por um adulto saudável durante um ritual religioso), sendo que a dose humana equivalente (1X) desta infusão corresponde a 0,30 mg/kg pc/dia DMT, do sexto ao vigésimo dia de gestação e no vigésimo primeiro dia foram avaliadas as informações coletadas do estudo. Cerca de 44% dos animais tratados com 4x a dose normal ingerida por um humano morreram durante o estudo, enquanto que, 52% dos animais tratados com 8x a dose normal, também morreram, a parte sobrevivente apresentou efeitos tóxicos como, por exemplo, perdas neuronais,

atraso no crescimento intrauterino, óbitos induzidos por embriões e aumento da ocorrência de anomalias fetais, além de degenerações hidrópicas nas células renais dos animais [33].

A hipótese mais plausível para a morte dos animais envolvidas no estudo anterior descrito é de que a Ayahuasca apresentou efeitos neurotóxicos, visto que, antes das mortes registradas as amostras apresentaram tremores, rigidez, hiperextensão dos membros posteriores e convulsões, sintomas típicos de uma síndrome de serotonina [33].

Em outro estudo, sintomas como diarreia, náusea e vômito, assim como elevação de frequência cardíaca e pressão arterial foram observados após o consumo da DMT [20, 34]. Também foi verificado que uma dose oral de 1 mg/kg de DMT é suficiente para o aparecimento desses efeitos. Quando administrado por via intravenosa, pequenas doses entre 0,1 e 0,2 mg/kg já são suficientes para ocasionar os efeitos supracitados [35].

A dose oral letal média para 50% da população (DL50) de DMT é de 8mg/kg. Esse dado foi obtido através de experimentos com animais de laboratório, estimando que uma dose total letal para um adulto de 70kg é de 560 mg. Em cerimônias, é consumido em média uma dose de cerca de 27 mg. Levando em consideração a DL50, podemos supor que a margem de segurança para o uso de Ayahuasca é de aproximadamente 0,385 mg/kg para um indivíduo adulto e saudável de 70kg [34].

Conclusão

Baseando-se nos resultados apresentados durante esta revisão de literatura, pode-se concluir que o chá de Ayahuasca e o seu componente alucinógeno DMT apresentam grande potencial terapêutico, com efeitos que incluem benefícios psicoterapêuticos, ação anti-depressiva e antitumoral, despertando cada vez mais o interesse da comunidade científica.

Apesar dos seus importantes aspectos farmacológicos, a DMT também pode causar efeitos adversos consideráveis, incluindo toxicidade, o que corrobora com a necessidade da realização de mais testes agudos e crônicos, além de pesquisas epidemiológicas focadas na sua ação nas populações que a utilizam, considerando a limitação de estudos e dados sobre esse assunto.

Referências

1. Strassman R. DMT: The spirit molecule, a doctor's revolutionary research into the biology of near-death and mystical experiences. South Paris, ME: Park Street Press, 2001.
2. Almeida DE, Silva ALP, Assis TJCF. Dimethyltryptamine: hallucinogenic alkaloid on the Central Nervous System. *Acta Brasiliensis*. 2018; 2(1); 28-33. <http://www.revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/43>.
3. De Souza PA. Alcaloides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos "estados alterados da consciência" induzido por alucinógenos. *Rev. bras. plantas med.* 2011; 13 (3): 349-358. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516=05722011000300015-&script=sci_arttext&tlng=pt.
4. Gomes MM. Dietilamida do ácido lisérgico (LSD) e N,N-dimetiltriptamina (DMT) como substratos de peroxidases: uma possível rota de metabolização [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2008.
5. Carbonaro TM, Gatch MB. Neuropharmacology of N, N-dimethyltryptamine. *Brain research bulletin*. 2016; 126: 74-88. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0361923016300909>.
6. McKenna, DJ. Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacology & therapeutics*. 2004; 102(2), 111-129. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725804000464>.
7. Riba J, Valle M, Urbano G, Yritia M, Morte A, Barbanoj MJ. Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003; 306(1): 73-83. <http://jpet.aspetjournals.org/content/306/1/73.short>.
8. Domínguez-Clavé E, Soler J, Elices M, Pascual JC, Álvarez E, de la Fuente Revenga M et al. Ayahuasca: pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain research bulletin*. 2016; 126: 89-101. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0361923016300454>.
9. McIlhenny EH, Riba J, Barbanoj MJ, Strassman R, Barker, S. A. Methodology for determining major constituents of ayahuasca and their metabolites in blood. *Biomedical Chromatography*. 2012; 26(3): 301-313. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/>

bmc.1657.

10. Riba J, McIlhenny EH, Valle M, Bouso JC, Barker SA. Metabolism and disposition of N, N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. *Drug testing and analysis*. 2012; 4(7-8): 610-616. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dta.1344>.

11. Barbosa PCR, Mizumoto S, Bogenschütz MP, Strassman RJ. Health status of ayahuasca users. *Drug testing and analysis*. 2012; 4(7-8): 601-609. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dta.1383>.

12. Costa MCM, Figueiredo MC, Cazenave SDOS. Ayahuasca: uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. *Rev. psiquiatr. Clín.*. 2005; 32(6), 310-318. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-60832005000600001&lng=pt&nrm=iso.

13. Souza RC, Zandonadi FS, Freitas DP, Tófoli LF, Sussulini A. Validation of an analytical method for the determination of the main ayahuasca active compounds and application to real ayahuasca samples from Brazil. *Journal of Chromatography B*. 2019; 1124: 197-203. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023219301825>.

14. Cakic V, Potkonyak J, Marshall A. Dimethyltryptamine (DMT): Subjective effects and patterns of use among Australian recreational users. *Drug and alcohol dependence*. 2010; 111(1-2): 30-37. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0376871610001341>.

15. Dos Santos RG, Osorio FL, Crippa JAS, Hallak JE. Classical hallucinogens and neuroimaging: A systematic review of human studies: Hallucinogens and neuroimaging. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2016; 71: 715-728. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0149763416302354>.

16. Da Silva FS, Silva EA, Sousa Jr GMD, Maia-de-Oliveira JP, Soares-Rachetti VDP, de Araujo DB et al. Acute effects of ayahuasca in a juvenile non-human primate model of depression. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2019; 41(4), 280-288. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-44462018005009104&script=sci_arttext.

17. Pic-Taylor A, da Motta LG, de Moraes JA, Junior WM, Santos ADFA, Campos LA et al. Behavioural and neurotoxic effects of ayahuasca infusion (Banisteriopsis caapi and Psychotria viridis) in female Wistar rat. *Behavioural processes*. 2015; 118: 102-110. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0376635715001278>.

18. Santos RD, Landeira-Fernandez J, Strassman RJ, Motta V, Cruz APM. Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. *Journal of ethnopharmacology*. 2007; 112(3): 507-513. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874107002139>.

19. Osório FDL, Sanches RF, Macedo LR, Dos Santos RG, Maia-de-Oliveira JP, Wichert-Ana L et al. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a preliminary report. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2015; 37(1): 13-20. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-44462015000100013&script=sci_arttext&lng=pt.

20. Cameron LP, Benson CJ, Dunlap LE, Olson DE. Effects of N, N-dimethyltryptamine on rat behaviors relevant to anxiety and depression. *ACS chemical neuroscience*. 2018; 9(7): 1582-1590. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acscchemneuro.8b00134>.

21. Tourino MC, de Oliveira EM, Bellé LP, Knebel FH, Albuquerque RC, Dörr FA et al. Tryptamine and dimethyltryptamine inhibit indoleamine 2, 3 dioxygenase and increase the tumor-reactive effect of peripheral blood mononuclear cells. *Cell biochemistry and Function*. 2013; 31(5): 361-364. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbf.2980>.

22. Cozzi NV, Gopalakrishnan A, Anderson LL, Feih JT, Shulgin AT, Daley PF et al. Dimethyltryptamine and other hallucinogenic tryptamines exhibit substrate behavior at the serotonin uptake transporter and the vesicle monoamine transporter. *Journal of neural transmission*. 2009; 116(12): 1591. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00702-009-0308-8>.

23. Walter L, Hajnóczky G. Mitochondria and endoplasmic reticulum: the lethal interorganelle cross-talk. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 2005; 37(3): 191-206. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10863-005-6600-x>.

24. Jose C, Bellance N, Rossignol R. Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation: a tumor's dilemma? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2011; 1807(6): 552-561. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272810007206>.

25. Dos Santos RG. Ayahuasca physiological and subjective effects, comparison with d-amphetamine, and repeated dose assessment. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Farmacolo-

gia, Terapèutica i de Toxicologia: 2012.

26. Dos Santos RG. Immunological effects of ayahuasca in humans. *Journal of psychoactive drugs*. 2014; 46(5): 383-388. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02791072.2014.960113>.

27. Frecska E, Szabo A, Winkelman MJ, Luna LE, Mckenna DJ. A possibly sigma-1 receptor mediated role of dimethyl- tryptamine in tissue protection, regeneration, and immunity. *Journal of Neural Transmission*. 2013; 120(9): 1295-303. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00702-013-1024-y>.

28. Szabo A, Kovacs A, Frecska E, Rajnavolgyi E. Psychedelic N, N-dimethyltryptamine and 5-methoxy-N, N-dimethyltryptamine modulate innate and adaptive inflammatory responses through the sigma-1 receptor of human monocyte-derived dendritic cells. *PloS one*. 2014; 9(8): e106533. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0106533>.

29. Gomes MM, Coimbra JB, Clara RO, Dörr FA, Moreno ACR, Chagas JR et al. Biosynthesis of N, N-dimethyltryptamine (DMT) in a melanoma cell line and its metabolization by peroxidases. *Biochemical pharmacology*. 2014; 88(3): 393-401. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295214000744>.

30. Bilhimer MH, Schult RF, Higgs KV, Wiegand TJ, Gorodetsky RM, Acquisto NM. Acute Intoxication following dimethyltryptamine ingestion. Case reports in emergency medicine. 2018; 2018: 1-3. <https://www.hindawi.com/journals/criem/2018/3452691/>.

31. Volpi-Abadie J, Kaye AM, Kaye AD. Serotonin syndrome. *The Ochsner Journal*. 2013; 13(4): 533-540. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3865832/>.

32. Dos Santos, RG. Safety and side effects of ayahuasca in humans - an overview focusing on developmental toxicology. *Journal of psychoactive drugs*. 2013; 45(1): 68-78. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02791072.2013.763564>.

33. Da Motta LG, de Moraes JA, Tavares ACA, Vianna LMS, Mortari MR, Amorim RFB et al. Maternal and developmental toxicity of the hallucinogenic plant-based beverage ayahuasca in rats. *Reproductive Toxicology*. 2018; 77: 143-153. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623817307037>.

34. Gable RS. Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction*. 2007; 102(1): 24-34. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1360-0443.2006.01652.x>.

[0443.2006.01652.x](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1360-0443.2006.01652.x).

35. Riba J, Rodríguez-Fornells A, Urbano G, Morte A, Antonijoan R, Montero M. Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology*. 2001; 154(1): 85-95. <https://link.springer.com/article/10.1007/s002130000606>.

Artigo de Revisão

ALIMENTOS COM AÇÃO FOTOPROTETORA: POSSÍVEL PREVENÇÃO NO CÂNCER DE PELE?

Autores: Franciele Cristina Batista¹, Vanessa Yuri Suzuki², Lorena Dal Collina Sangiuliano³, Heitor Carvalho Gomes⁴, Renato Santos de Oliveira Filho^{5,A}, Carlos Rocha Oliveira⁶, Lydia Masako Ferreira⁷

¹Aluna do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp.

²Profa. Coorientadora do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp.

³Aluna de Iniciação Científica, Graduação em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo.

⁴Prof. orientador do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp.

^{5,A}Prof. Afiliado e Prof. Orientador do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp.

⁶Prof. da Universidade Anhembi Morumbi. Doutor em Biologia Molecular pela Universidade Federal de São Paulo.

⁷Profa. Titular da Disciplina Cirurgia Plástica da Unifesp. Coordenadora do Programa Pós-graduação em Cirurgia Translacional da Unifesp. Pesquisadora CNPq 1A.

Informações do artigo

Palavras Chave:
neoplasias cutâneas,
dieta, fotoproteção.

Resumo

O câncer de pele é o mais frequente no Brasil e representa 30% de todos os tumores malignos registrados no país. Alguns compostos bioativos presentes nos alimentos como carotenoides (betacaroteno, licopeno), probióticos e ômega-3, extrato de própolis, podem auxiliar na proteção da pele contra os danos causados por raios ultravioleta. Para atingir o objetivo foi realizada uma revisão bibliográfica para avaliar a ação fotoprotetora dos compostos bioativos, nas principais bases de dados em saúde *Pubmed*, *Lilacs* e *SciELO*, com palavras-chave: neoplasias cutâneas, dieta, fotoproteção, nos idiomas português e inglês, considerando o período de 2008 a 2019. O uso de betacaroteno na fotoproteção mostrou-se eficaz, com suplementação diária entre 15 mg e 180 mg e protegeu a pele contra queimaduras solares. Extrato de tomate contendo licopeno conferiu proteção contra danos agudos à pele causados pela exposição solar à longo prazo. A suplementação de licopeno e luteína protegeu a pele contra danos à pele causados pela radiação solar.

^AAutor correspondente

Renato Santos de Oliveira Filho - E-mail: renato.filho2@einstein.br - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7464-973X>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.87> - Artigo recebido em: 10 de fevereiro de 2020 ; aceito em 27 de fevereiro de 2020; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

A ingestão diária da bebida polifenol chá verde por 12 semanas apresentou efeito fotoprotetor. Observou-se que substâncias não tóxicas consumidas na dieta como polifenóis em frutas, vegetais, vinho, chá e cafeína, ou disponíveis na forma oral de suplementos, podem aumentar a produção de ATP e inibir a produção de ROS ou diminuir a produção de PGE2, causando redução dos danos induzidos pela luz solar em humanos e protegendo a pele por vários mecanismos potenciais. Extrato de própolis tem sido utilizado no preparo de alimentos e bebidas com a finalidade de melhorar ou prevenir o câncer, e a fruta romã pode exercer ação anti-inflamatória, antiproliferativa e ter efeitos anti-tumorigênicos. Conforme os artigos estudados, o consumo dos compostos bioativos carotenoides como betacaroteno e licopeno, flavonóides, polifenóis, cafeína, ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, vitamina E, e minerais como o selênio, são estratégias eficientes na proteção da pele contra a radiação solar, diminuindo o risco do câncer de pele. Entretanto, mais estudos clínicos randomizados precisam ser realizados para confirmar seus efeitos e estabelecer doses adequadas para efeito fotoprotetor.

Article ID

Keywords:
skin cancer, diet,
photoprotection.

Abstract

Skin cancer is the most common in Brazil and represents 30% of all malignant tumors registered in the country. Some bioactive compounds present in foods such as carotenoids (beta carotene, lycopene), probiotics and omega-3 propolis extract, can help protect the skin from damage caused by ultraviolet rays. To achieve the objective, a literature review was performed to evaluate a photoprotective action of bioactive compounds in the main health databases Pubmed, Lilacs and SciELO, with keywords: skin cancer, diet, photoprotection, in Portuguese and English, considering the period from 2008 to 2019. The use of beta-carotene in photoprotection was effective, with daily supplementation between 15 mg and 180 mg daily and protects the skin against sunburn. Included lycopene tomato extract provides protection against acute skin damage caused by long-term sun exposure. Lycopene and lutein supplementation protected the skin from damage to the skin caused by sun damage. A daily intake of polyphenol green tea drink for 12 weeks shows photoprotective effect. Note that non-toxic substances that consume diet such as polyphenols in fruits, vegetables, wine, tea and coffee, or make oral supplements available, may increase ATP production and inhibit ROS production or decrease PGE2 production, causing harm reduction. induced by sunlight in humans and protect the skin by various mechanisms used. Propolis extract was used for the preparation of food and beverages to improve or prevent cancer, and pomegranate fruit can exert anti-inflammatory, antiproliferative action and anti-tumor effects. According to the articles studied, the consumption of carotenoid bioactive compounds such as beta-carotene and lycopene, flavonoids, polyphenols, caffeine, omega-3 polyunsaturated fatty acids, vitamins and minerals such as selenium, are effective in protecting the skin against sun pollution, improving or prognosis of skin cancer. However, further randomized clinical trials need to be performed to confirm their effects and to define doses used for the photoprotective effect.

Introdução

O câncer de pele é o mais frequente no Brasil e representa 30% de todos os tumores malignos registrados no país, segundo o Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA 2018).

O câncer de pele não melanoma é a neoplasia maligna de maior incidência no Brasil, segundo dados epidemiológicos nacionais, sendo considerado um grave problema de saúde pública, pois pode levar a deformidades físicas e ulcerações graves, onerando os custos dos serviços de saúde. Nos Estados Unidos, a incidência de câncer de pele tem aumentado exponencialmente, chegando a uma média de 900.000 a 1.200.000 casos/ano, elevando significativamente os custos das seguradoras de saúde (FERREIRA *et al.*, 2011).

A radiação solar é considerada o fator ambiental mais importante no desenvolvimento do câncer de pele. Os estudos apontam que 80% de toda a exposição solar em nossa vida até os 18 anos de idade, e a experiência médica mostra que as pessoas que manifestam câncer de pele foram expostas a grandes quantidades de sol ao longo da vida ou receberam picos intensos dessa exposição, com queimadura solar. A radiação solar é capaz de provocar mutações e alterações nas células, e essas alterações podem ser transmitidas para as células novas resultantes do processo de multiplicação celular. Com o tempo, elas podem acumular outras mutações causando câncer de pele (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

A alimentação é um fator responsável por manter o sistema imunológico funcionando adequadamente, o que auxilia na prevenção do surgimento do câncer de pele. Por esse motivo torna-se relevante uma alimentação balanceada, regular e variada, rica em verduras, legumes e frutas, optando por produtos naturais e evitando os processados industrialmente, que contêm corantes e conservantes. (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

A nutrição pode auxiliar como fator de prevenção primária do câncer, através da ingestão de alimentos que atuam como fator de proteção contra esta doença, e evitando-se a ingestão de alimentos que contenham fatores cancerígenos. (GOMES *et al.*, 2010)

O consumo de frutas, verduras e hortaliças, que apresentam agentes naturais com potencial antioxidante, anti-inflamatório, antimutagênico, anticarcinogênico e propriedades imunomodulatórias, demonstra surpreendentes efeitos inibitórios em di-

versos processos moleculares e celulares e, portanto, atualmente ganha destaque nos estudos de prevenção de danos cutâneos causados por radiações UV (FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2003; 2014; BETTA *et al.*, 2018).

Existem alguns alimentos, nutrientes e compostos bioativos de alimentos (CBAs) como carotenoides, flavonoides, polifenóis, cafeína, ácidos graxos poli-insaturados ômega-3, vitamina C, vitamina E, e o selênio, que podem apresentar capacidade fotoprotetora da pele através de seu consumo regular (BOELSMA, HENDRIKS, ROZA, 2001; STAHL, SIES, 2007, 2012; ANUNCIATO, ROCHA FILHO, 2012).

Considerando o acentuado impacto do consumo de fotoprotetores orais na prevenção e tratamento do câncer de pele, torna-se relevante avaliar o impacto de nutrientes e compostos bioativos contra a radiação ultravioleta.

Material e Método

Foi realizada uma revisão bibliográfica nos periódicos disponíveis nas principais bases de dados em saúde *Pubmed*, *Lilacs* e *SciELO*, utilizando as palavras-chave: neoplasias cutâneas, câncer de pele, dieta, fotoproteção, vitaminas, minerais, ômega-3 nos idiomas português e inglês, considerando o período de 2008 a 2019. Foram considerados como critérios de inclusão, estudos que avaliaram o consumo e a suplementação oral de alimentos com ação fotoprotetora em pacientes adultos e idosos.

Resultados

FORTES *et al.* (2018), em estudo de caso-controle em hospital em Roma, avaliaram 304 pacientes recém-diagnosticados com melanoma e 305 pacientes controle responderam questionário de frequência alimentar. Após o controle de vários fatores, como histórico médico, exposição ao sol e pigmentação da pele, mostraram que aqueles que consumiram dieta típica do Mediterrâneo tiveram menor incidência de melanoma. O consumo de frutas, legumes, chá, peixe, marisco e peixe rico em ácidos graxos ômega-3 foi encontrado para ter efeito protetor. Peixes ricos em ácidos graxos ômega-3 incluem sardinha, anchova, atum e salmão. O consumo de vegetais cozidos (mais de cinco vezes por semana), vegetais crucíferos (mais de três vezes por semana), vegetais de folhas verdes (três vezes por semana), frutas (mais de uma vez por

dia), frutas cítricas (mais de cinco vezes) por semana), e o uso de ervas frescas (quatro ou mais regularmente) foi significativamente associado a diminuição do risco de melanoma.

KOPCKE, KRUTMANN (2008), em meta-análise realizada com base em sete estudos, avaliaram a eficácia do uso de betacaroteno na fotoproteção em humanos com suplementação diária entre 15 mg e 180 mg, e demonstraram que a suplementação deste carotenoide protegeu a pele contra queimaduras solares e que esta proteção foi dependente do tempo de duração da intervenção. O tempo mínimo de suplementação para alcance da proteção foi de dez semanas, com aumento médio do efeito protetor de 0,5 desvio padrão para cada mês adicional de suplementação. A dose ideal para fotoproteção mesmo sendo controversa, apresentou efeito fotoprotetor com doses diárias a partir de 24 mg.

RIZWAN *et al.* (2011), em estudo clínico, avaliaram vinte mulheres que consumiram 55g de extrato de tomate por dia, correspondente a 16 mg de licopeno, acompanhado de 10g de azeite de oliva, por 12 doze semanas. Os autores demonstraram que extrato de tomate contendo licopeno conferiu proteção contra danos agudos à pele causados pela exposição solar e potencialmente, também a longo prazo.

GAMBA *et al.* (2013), para investigar o aconselhamento nutricional sobre os efeitos de dieta com baixo teor de gordura no risco de câncer de pele, avaliaram mais de 48.000 mulheres na pós-menopausa, randomizadas para controle ou grupo de intervenção dietética. A intervenção dietética incluiu várias sessões educacionais nas quais nutricionistas instruíram os participantes sobre como diminuir o consumo total de gordura para menos de 20% do total de calorias, consumir cinco ou mais porções diárias de vegetais e consumir seis ou mais porções diárias de grãos. Após oito anos de acompanhamento, não houve diferenças na incidência de melanoma ou câncer de pele não melanoma entre os dois grupos de mulheres. Mesmo após a análise de sensibilidade, em que os participantes que não cumpriram totalmente os requisitos do estudo foram excluídos, ainda não houve associação entre a intervenção com baixo teor de gordura e o risco de câncer de pele.

FARRAR *et al.* (2015), em estudo clínico randomizado duplo-cego controlado por placebo 50 adultos com idade entre 18 a 65 anos e fototipo de pele I e II, consumiram 1350 mg de extrato de chá verde encapsu-

ulado com 50 mg de vitamina C, duas vezes ao dia durante três meses. Os autores observaram que não houve diferença significativa entre os grupos controle e placebo em relação a eritema cutâneo, infiltração de leucócitos e efeito inflamatório de UVR.

FREITAS *et al.* (2015), em estudo transversal, mostraram os efeitos de antioxidantes na prevenção do câncer de pele em 84 indivíduos com idade entre 38 a 84 anos. No grupo 1, n = 60, os voluntários foram diagnosticados com câncer de pele não melanoma. O grupo 2, n = 24 foi composto de indivíduos saudáveis que nunca tiveram câncer de pele. Os autores mostraram que a ingestão de concentrações dietéticas de minerais, antioxidantes, zinco, cobre e selênio no grupo 1 foi significativamente menor em comparação ao grupo 2. A correlação entre marcadores de estresse oxidativo e concentrações dietéticas, nutrientes e antioxidantes mostrou a influência da ingestão de alimentos de vitaminas A, E na redução do estresse oxidativo.

SOKOLOSKI, BORGES, BAGATIN (2015), em ensaio clínico randomizado, mostraram os efeitos da suplementação oral de licopeno em 20 mulheres saudáveis na faixa etária de 40 anos, durante dez semanas. No grupo (C/ GC) dez mulheres consumiram 16 mg de licopeno em cápsulas por dia. No grupo controle (T/GT) dez mulheres consumiram duas colheres de sopa de molho de tomate com uma colher de sopa de azeite, diariamente. A ingestão oral e regular de licopeno foi segura, contudo os resultados encontrados não apresentaram nenhum efeito para foto-proteção sistêmica contra radiação ultravioleta.

BECK *et al.* (2017), em estudo cruzado, randomizado, duplo-cego controlado por placebo, demonstraram os efeitos da suplementação oral de 5 mg licopeno e 10 mg luteína diariamente por doze semanas. No grupo de estudo licopeno, 33 indivíduos foram recrutados, sendo homens e mulheres com idade média de 40 anos. No grupo luteína, 32 indivíduos foram selecionados, sendo homens e mulheres com idade média de 47 anos. No grupo de estudo licopeno, houve redução da radiação UV. No grupo luteína, houve redução da radiação de UVA e UVB. Em ambos os grupos suplementados com licopeno e luteína a concentração de carotenoides aumentou significativamente. Os autores observaram que a suplementação de licopeno e luteína pode proteger contra danos à pele causados pela radiação solar.

HEINRICH *et al.* (2011), em estudo clínico rando-

mizado duplo-cego, controlado por placebo, mostraram os efeitos de polifenóis de chá verde em 60 mulheres durante 12 semanas. No grupo GT (tratado) as participantes consumiram um litro de chá verde / 1402mg de catequinas, diariamente. No grupo C (placebo) consumiram bebida constituinte correspondente com o mesmo sabor. A fotoproteção, estrutura e função da pele foram medidas em linha de base (semana 0), semana seis e semana doze. Após a exposição das áreas da pele a 1,25 dose eritérmica mínima de radiação de simulador solar, o eritema induzido por UV diminuiu significativamente no grupo de intervenção GT em 16 e 25% após seis e 12 semanas, respectivamente. Os autores mostraram que a ingestão diária da bebida polifenol chá verde por 12 semanas apresentou efeito fotoprotetor.

ANDREW *et al.* (2014), em revisão de literatura, observou que substâncias não tóxicas consumidas na dieta ou disponíveis na forma oral de suplementos que aumentam a produção de ATP, inibem a produção de ROS ou diminui a produção de PGE2, pode ajudar a reduzir os danos induzidos pela luz solar em humanos e proteger a pele por vários mecanismos potenciais. Estas substâncias incluem polifenóis em frutas, vegetais, vinho, chá e cafeína.

A própolis tem sido utilizada por muitos povos no preparo de alimentos e bebidas com a finalidade de melhorar ou prevenir doenças como o diabetes mellitus, inflamações, doenças cardíacas e câncer (BURDOCK, 1998; BANKOVA *et al.*, 1998). A partir do conhecimento empírico sobre as suas propriedades medicinais, a própolis tem sido alvo de diversos estudos científicos com a finalidade de elucidar suas propriedades químicas e biológicas, determinando assim, suas possíveis substâncias ativas e mecanismos de ação SFORCIN *et al.* (2005), apresentou trabalhos que têm evidenciado o potencial inibitório das própolis brasileiras e de alguns dos seus componentes sobre diversos tipos de células neoplásicas, como demonstradas por LI e colaboradores (2008). De acordo com KAMIYA e colaboradores (2012), o extrato etanólico da própolis vermelha brasileira e seu componente isolado, o ácido caféico éster fenetil é capaz de induzir apoptose em células de carcinoma mamário MCF-7. Ainda não existem estudos semelhantes que demonstrem estas atividades biológicas para a própolis G6 originada da região de Mata Atlântica, situada no Estado da Bahia, Brasil, embora a atividade antimicrobiana de uma substância isolada a partir da própolis

G6 baiana já tenha sido relatada por CASTRO e colaboradores (2009).

A *Punica granatum L.*, uma planta da família *Lythraceae* originária da região mediterrânea é rica em compostos fitoquímicos. Em artigo de revisão, SHARMA, MCCLEES, AFAQ (2017), observaram a fruta romã, como promissor de agente quimiopreventivo, por exercer ação anti-inflamatória, antiproliferativa e ter efeitos anti-tumorigênicos.

As berries possuem uma grande quantidade de antioxidantes e flavonóides, que possuem implicações potenciais positivas no câncer. Em estudo duplo- cego controlado por placebo os autores avaliaram o efeito fotoprotetor do suco de groselha. Os participantes consumiram 250 ml de suco de groselha quatro vezes ao dia durante seis semanas. Contudo, os resultados obtidos não mostraram efeito protetor dos raios UVA e UVB na pele S. RAY *et al.*, (2016).

Conclusão

De acordo com a literatura científica, a suplementação de nutrientes como frutas, legumes, chá verde, peixe rico em ácidos graxos ômega-3, betacaroteno, licopeno e luteína foram associados a ação quimiopreventiva no câncer de pele. Entretanto, mais estudos clínicos randomizados devem ser realizados para confirmar seus efeitos e estabelecer a dose adequada de cada nutriente.

Referências

- ANDREW C. CHEN.; DIONA L. DAMIAN & GARY M. HALLIDAY. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* Oral and systemic photoprotection. 2014; 30: 102–111.
- ANUNCIATO T.P., DA ROCHA FILHO P.A. Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals. *J Cosmet Dermatol.* 2012 Mar;11(1):51-4.
- BECK. G.; MARINI, T.; JAENICKE, W. STAHL AND J. KRUTMANN. Molecular evidence that oral supplementation with lycopene or lutein protects human skin against ultraviolet radiation: results from a double-blinded, placebo-controlled, crossover study* *British Journal of Dermatology* (2017) 176, pp1231–1240.
- BÚFALO, M.C; CANDEIAS, J.M.G; SFORCIN, J.M. In vitro cytotoxic effect of brazilian Green propo-

lis on human layngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. Evidence-based complementary and alternative medicine, v. 6, p. 483-487, 2007

BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology, v. 36, p. 347-363, 1998.

CASTRO, M.L. et al. Bioassay guided purification of the antimicrobial fraction of a Brazilian propolis from Bahia state. BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 30, p. 9-25, 2009.

DANIEL ARCUSCHIN DE OLIVEIRA, HEITOR CARVALHO GOMES, RENATO SANTOS DE OLIVEIRA FILHO, LYDIA MASAKO FERREIRA. Câncer de pele: Conhecer para melhor combater. Editora Senac São Paulo – São Paulo – 2018.

FARRAR, M.; NICOLAOU, A.; CLARKE, A.; MASON, S.; MASSEY, K.; DEW, T.; WATSON, T.; WILLIAMSON, G.; RHODES, L. A. randomized controlled trial of green tea catechins in protection against ultraviolet radiation-induced cutaneous inflammation. Am J Clin Nutr 2015; 102:608-15. Printed in USA

Fernández-García E. Skin protection against UV light by dietary antioxidants. Food Funct. 2014 Sep;5(9):1994-2003.

FORTES, C.; MASTROENI, S.; MELCHI, F. E. e cols. Um efeito protetor da dieta mediterrânea para o melanoma cutâneo. *Int J Epidemiol.* 2008; 37 (5): 1018-1029.

FREITAS, A. CASTRO, L.; AGUIAR, J.; ARAUJO, C.; VISAED, M.; TUAN, B.; PINCINATO, E.; MODEL. P. Nutrición Hospitalaria: Antioxidant capacity total in non-melanoma skin cancer and its relationship with food consumption of antioxidant nutrients. 2015;31 (4): 1682-168.

FERREIRA, F.R, NASCIMENTO, L.F.C.; ROTA, O. Fatores de risco para câncer da pele não melanoma em Taubaté, SP: Um estudo caso-controle. Rev Assoc Med Bras. 2011; 57(4):431-437.

GAMBA, C.S.; STEFANICK, M.L.; SHIKANY, J.M. et al. Dieta com baixo teor de gordura e risco de câncer de pele: a iniciativa de saúde da mulher randomizou um ensaio controlado de modificação alimentar. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* . 2013; 22 (9): 1509-1519.

GOMES, R.; MOURA, R.F. Nutrição e câncer. In: Antunes RCP, Perdicaris AAM. Prevenção do Cancer, Barueri – SP: Manole; 2010. P. 363-74.

HEINRICH, U.; MOORE, C.; SPIRT, S.; TRON-

NIER, H.; STAHL, W. green Tea Polyphenols Provide Photoprotection, Increase Microcirculation, and Modulate Skin Properties of Women. J. Nutr. 141: 1202-1208, 2011.

Instituto Nacional do Câncer [homepage na internet]. Incidência de Câncer no Brasil. [acesso em 20 maio 2019]. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>.

KOPCKE, W.; KRUTMANN, J. Protection from sunburn with beta-Carotene--a meta- analysis. Photochem Photobiol. 2008 Mar-Apr;84(2):284-8.

Pomegranate for Prevention and Treatment of Cancer: An Update. Pooja Sharma¹, Sarah F, McClees Farrukh Afaq². *Molecules* **2017**, 22(1), 177; <https://doi.org/10.3390/molecules22010177>

RIZWAN, M.; RODRIGUEZ-BLANCO I.; HARBOTTLE A.; BIRCH-MACHIN MA.; WATSON, R.E.; RHODES, L.E. Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photodamage in humans in vivo: a randomized controlled trial. Br J Dermatol. 2011 Jan;164(1):154-62.

SOKOLOSKI, L.; BORGES, M.; BAGATINI, E. Lycopene not in pill, nor in natura has photoprotective systemic Effect. Arch Dermatol Res, 2015.

Artigo de Revisão

IMPACTO DOS MEDICAMENTOS BIOSSIMILARES UTILIZADOS NA IMUNOTERAPIA CONTRA O CÂNCER DE MAMA NO BRASIL

Autores: Debora Queila Brandão Dias¹; Carina Rocha Souza Kudo¹; Prof. Dr. Daniel Moreno Garcia^{2,A}

¹Discente da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, Brasil.

²Docente da Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:

Biossimilar,

Câncer de mama;

Anticorpos monoclonais.

Resumo

O desenvolvimento de medicamentos biossimilares tem sido uma solução inovadora na área da saúde, pois tem oferecido oportunidade de crescimento e avanço biotecnológico para as indústrias farmacêuticas, assim como novas opções de tratamento para pacientes oncológicos. O HER2 é um alvo terapêutico clinicamente estabelecido na terapia contra a neoplasia maligna da mama, estima-se que a superexpressão de HER2 ocorre em aproximadamente 20% dos casos de carcinoma mamário; diversos medicamentos biológicos estão em desenvolvimento, porém atualmente apenas alguns anticorpos monoclonais foram autorizados no Brasil para o tratamento de câncer de mama positivo para HER2, incluindo trastuzumabe, pertuzumabe, trastuzumabe entansina (T-DM1) e CT-P6. Com a aprovação de novas moléculas e expiração das patentes destes fármacos, houve um aumento das opções de produtos biológicos disponíveis a custos potencialmente mais baixos. O presente estudo é uma revisão bibliográfica, que possui como objetivo abordar sobre a terapia-alvo realizada com biossimilares no tratamento da neoplasia da mama com superexpressão do HER2 que possui um dos piores prognósticos em relação aos demais subtipos. Posteriormente apresentamos estudos sobre a eficácia clínica dos anticorpos monoclonais aprovados pela ANVISA. Em conclusão, estudos têm comprovado os benefícios no uso de biossimilares quando adicionados à quimioterapia adjuvante e neoadjuvante, melhorando significativamente a sobrevida do paciente. O tratamento do câncer de mama metastático positivo para HER2, foi desenvolvido com anticorpos monoclonais humanizados, os quais aumentam significativamente o resultado e eficácia da terapêutica e, devido aos excelentes resultados apresentados, novos medicamentos direcionados ao HER2 estão em desenvolvimento.

^AAutor correspondente

Daniel Moreno Garcia – E-mail: danielm-g@hotmail.com - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0060-6865>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.80> - Artigo recebido em: 22 de outubro de 2019 ; aceito em 12 de fevereiro de 2020 ; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Biosimilar;
Breast cancer;
Monoclonal antibodies.

Abstract

The development of biosimilar medicines has been an innovative health-care solution, as it has provided opportunities for biotechnological growth and advancement for the pharmaceutical industries, as well as new treatment options for cancer patients. HER2 is a clinically established therapeutic target in therapy against breast malignancy; it is estimated that HER2 overexpression occurs in approximately 20% of breast carcinoma cases; several biological drugs are under development, but currently only a few monoclonal antibodies have been authorized in Brazil for the treatment of HER2 positive breast cancer, including trastuzumab, pertuzumab, trastuzumab emtansine (T-DM1) and CT-P6. With the approval of new molecules and the expiration of these drugs patents, there was an increase in biological product options available at potentially lower costs. The present study is a literature review that aims to address the biosimilar target therapy in the treatment of HER2 overexpressed breast cancer, which has one of the worst prognoses in relation to the other subtypes. Subsequently, we present studies on the clinical efficacy of ANVISA approved monoclonal antibodies. In conclusion, studies have proven the benefits of using biosimilars when added to adjuvant and neoadjuvant chemotherapy, significantly improving patient survival. The treatment for HER2-positive metastatic breast cancer has been developed with humanized monoclonal antibodies, which significantly increase the outcome and effectiveness of therapy, and due to the excellent results presented, new HER2-targeted drugs are under development.

Introdução

O câncer é uma doença crônica degenerativa onde ocorre uma falha nos mecanismos que regulam o crescimento normal das células, levando a proliferação desordenada, incontável e agressiva de células anormais e, eventualmente, pode disseminar-se para outras áreas do corpo [1].

Através de recentes estudos oncológicos, a diferença entre os tipos de câncer de mama ficou específica e objetiva, segundo a FEMAMA (Federação Brasileira de Instituições Filantrópicas de Apoio à Saúde da Mama) o câncer pode ser classificado em 4 tipos, são eles: Luminal A, Luminal B, HER2 e Triplo negativo [2].

O Luminal A possui receptores hormonais como estrogênio e progesterona positivos, cujo desenvolvimento celular é lento. O Luminal B apresenta receptores estrogênio e/ou progesterona positivos, cujo desenvolvimento é mais acelerado em comparação ao Luminal A. O subtipo HER2, possui alta expressão da proteína HER2, não expressam receptores hormonais

e apresenta o segundo pior prognóstico em relação aos demais. E o Triplo negativo, não expressa receptores hormonais e HER2, sendo negativo para estrogênio, progesterona e HER2. Este tipo de câncer possui o pior prognóstico, pois, o aumento do crescimento celular é acelerado, os pacientes não respondem ao tratamento com o uso das terapias hormonais, terapia anti-HER2 e dos inibidores de aromatase. A origem desse tipo de tumor não é esclarecida o que dificulta a busca por medicamentos eficazes. Devido a essas condições as chances de produção de metástases e recidiva são ampliadas [3].

O câncer de mama é uma das neoplasias mais frequentes entre o gênero feminino, sendo estimadas 522 mil mortes em 2012, o que representa 14,7% de todos os óbitos [4]. Mesmo com a evolução da biotecnologia, centros médicos especializados e indústrias farmacêuticas, é notável um alto índice de mortalidade em portadores de carcinoma mamário metastático que recebem o tratamento convencional, identificando assim a necessidade de novas pesquisas e estudos clínicos para o desenvolvimento de novos métodos de

tratamento mais assertivo aos pacientes [5].

O INCA - Instituto Nacional do Câncer, analisa índices periodicamente para o acompanhamento da mortalidade de pacientes com tumor maligno em diversos estados do Brasil. Calcula-se que no ano de 2017 houveram 16.724 óbitos por câncer de mama, representando 16,1% dos casos da doença e estima-se que entre os anos de 2018 a 2019, aproximadamente 59.700 novos casos de neoplasia da mama surgirão entre mulheres brasileiras, totalizando 29,5% dos quadros. Com o envelhecimento da população e estilo de vida irregular em que as pessoas vêm adotando nos últimos anos, a tendência é que este cenário aumente consideravelmente [4].

Recentemente existem tratamentos e diagnósticos aptos a identificar um quadro clínico de câncer durante seu desenvolvimento, porém a indisponibilidade de atendimento médico ou até recursos financeiros públicos podem postergar este diagnóstico nas fases iniciais, dificultando o início do tratamento para o paciente, colaborando então com a redução de sobrevida dos pacientes por esta patologia em específico. Este tem sido um desafio proeminente para o governo brasileiro, assim como de diversos países emergentes [6].

As alternativas terapêuticas para o tratamento do câncer são complexas e são realizadas de acordo com o estágio da doença, existem várias hipóteses, que incluem, cirurgia, hormonioterapia, radioterapia (RxT), quimioterapia (QT), terapia alvo específica ou combinação de duas ou mais modalidades [7].

Com os avanços biotecnológicos, surgiram métodos de engenharia genética para a produção de novos fármacos a partir da manipulação do DNA, sendo possível realizar a troca de material genético entre diferentes estruturas e viabilizando a síntese de novas moléculas de DNA, ou seja, DNA recombinante (rDNA) [8].

Com o deferimento e comercialização dos fármacos biológicos, houve uma evolução considerável nos tratamentos oncológicos, proporcionando maior qualidade de vida aos pacientes. Após a expiração de algumas patentes dos biofármacos, foi possível a comercialização de medicamentos biossimilares, diminuindo custos nos sistemas de saúde e viabilizando o acesso ao tratamento [9,10].

Metodologia

Realizou-se um estudo bibliográfico com o obje-

tivo de descrever os principais biossimilares disponíveis atualmente utilizados para o tratamento do câncer de mama HER2. Para a realização do estudo, foi elaborado um levantamento de pesquisas em artigos científicos obtidos nas bases de dados Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Eletronic Library Online (SCIELO) e National Library of Medicine (PUBMED). Utilizou-se as seguintes palavras-chave: “Biosimilar”, “Breast cancer” e “Monoclonal antibodies”. Após uma pré-seleção dos títulos e resumos, a eleição de artigo constituiu na realização da leitura integral da publicação. Pesquisou-se 138 estudos, os principais foram publicados no período de 2010 a 2019, entre eles, 55 foram selecionados; desconsiderou-se os textos duplicados ou que eram irrelevantes ao tema.

Resultados

Os anticorpos monoclonais em análise são utilizados por mulheres para tratar o câncer de mama metastático. O desenvolvimento desses medicamentos apresenta um grande avanço na área oncológica e sua terapêutica promove qualidade na sobrevida dos pacientes. Além disso, o tratamento com biossimilares apresentam melhores resultados quando são associados a outras terapias antineoplásicas. Realizou-se um levantamento bibliográfico onde foram selecionados 13 estudos sobre a eficácia dos anticorpos monoclonais utilizados no tratamento do câncer de mama, em seguidas os dados analisados foram compilados na **Tabela 1**.

Discussão

Discussão dos Resultados

O objetivo de desenvolver medicamentos biossimilares é reduzir o custo e aumentar o acesso para as pessoas receberem o que há de mais eficaz e moderno no tratamento do câncer e de outras doenças crônicas.

Estudos evidenciaram benefícios clínicos no uso da terapia anti-HER2 utilizada em mulheres com neoplasia nos estágios inicial e metastático. O trastuzumabe reduziu pela metade o risco de óbito entre pacientes que possuíam o câncer de mama HER2+. Além disso, foi comprovado um aumento na taxa de sobrevida quando combinado à quimioterapia e diminuição do risco de recidiva, apresentou melhora

no tempo estimado de sobrevida global em pacientes diagnosticados com carcinoma mamário precoce.

Como o trastuzumabe é guiado somente para as células que possuem amplificação do HER2 os efeitos colaterais quase não existem em relação a quimioterapia convencional que causa efeitos agressivos, como

alopecia, mielossupressão, náuseas, vômitos e diarreia. Porém, foi relatado que em 1,4% das mulheres com o tumor metastático tiveram cardiotoxicidade, quando utilizado o trastuzumabe como monoterapia [24].

Tabela 1 – Comprovação da eficácia do uso de biossimilares no tratamento do câncer de mama a partir da análise de artigos científicos publicados no período de 2010 a 2019.

ANO	AUTOR	MÉTODOS	RESULTADOS
2010	Macedo et al.11	Foi desenvolvido um modelo de Markov, a partir de um estudo HERA, para avaliar a eficácia do trastuzumabe durante 1 ano versus o tratamento base em pacientes com câncer de mama HER2 positivo, em estágios iniciais.	O trastuzumabe diminuiu o risco de recidiva em 49% e de metástase em 48%.
2010	Costa et al.12	Análise dos dados publicados sobre a eficácia e segurança cardíaca dos ensaios adjuvantes de trastuzumabe.	O trastuzumabe em combinação com quimioterapia adjuvante, resultou em um aumento admirável de 24% à 58% na SLD em 5 de 6 estudos. Nos grandes ensaios houve elevação da sobrevida geral de 23% a 35%.
2012	Baselga et al.13	Estudo NeoALTTO de fase III, randomizado, aberto. 455 pacientes participaram do estudo, 154 doentes receberam lapatinibe, 149 trastuzumabe e 152 lapatinibe + trastuzumabe. A terapia anti-HER2 foi administrada por 6 semanas; então foi incluído o paclitaxel por mais 12 semanas antes da cirurgia.	O bloqueio duplo de HER2 por lapatinibe + trastuzumabe em sinergia com paclitaxel é melhor se comparado a essas drogas quando utilizadas isoladamente.
2012	Gianni et al.14	Estudo NeoSphere de fase II, multicêntrico, aberto. Das 417 mulheres participantes, 107 receberam o tratamento com trastuzumabe + docetaxel (grupo A); 107 pertuzumabe + trastuzumabe + docetaxel (grupo B); 107 pertuzumabe + trastuzumabe (grupo C); 96 pertuzumabe + docetaxel (grupo D).	No grupo B observou-se melhora na pCR de 45,8% (49 de 107) das pacientes, enquanto que o grupo A teve uma pCR de 29% (31 de 107) dos casos. Grupo C e grupo D apresentaram pCR de, 16,8% (18 dos 107); 24% (23 de 96) respectivamente.
2013	Boyraz et al. 15	Revisão da literatura que apresenta dados clínicos sobre a terapia com trastuzumabe-DM1 (T-DM1) e explora as vantagens da terapia no tratamento de pacientes com câncer de mama HER2 positivo.	O tratamento anti-HER2 com T-DM1 em pacientes com câncer de mama metastático HER2 positivo como monoterapia e em combinação com a quimioterapia evidenciaram atividade clínica e um perfil de segurança favorável.

2013	Verma et al.16	Estudo EMILIA de fase III, randomizado, aberto. 991 pacientes com câncer de mama localmente avançado ou metastático HER2 positivo previamente tratado com trastuzumabe e taxano, receberam T-DM1 (n= 495) e lapatinibe + capecitabina (n= 496).	O T-DM1 prolongou significativamente a SLP comparado com lapatinibe + capecitabina em paciente com câncer de mama avançado HER2 positivo após tratamento com trastuzumabe + taxano. A SLP média foi de 9,6 meses com TDM1 e 6,4 meses com lapatinibe + capecitabina.
2014	Perez et al.17	Foi desenvolvida uma análise entre os estudos NSABP B-31 e NCCTG N9831, onde 4.046 pacientes com câncer de mama operável HER2 positivo receberam doxorrubicina + ciclofosfamida, adicionados ao paclitaxel com ou sem trastuzumabe em ambos os ensaios.	O doxorrubicina e ciclofosfamida, seguidos paclitaxel e trastuzumabe, resulta em melhora significativa e estável na sobrevida e reduz substancialmente a recorrência do câncer de mama HER2 positivo, em estágio inicial.
2015	Swain et al.18	Estudo CLEOPATRA de fase III, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Pertuzumabe ou placebo + trastuzumabe foram administrados. Posteriormente foi acrescentado docetaxel ao tratamento.	A terapia com pertuzumabe + trastuzumabe + docetaxel, melhorou potencialmente a SG média para 56,5 meses entre pacientes com câncer de mama metastático HER2 positivo, em comparação ao placebo + trastuzumabe + docetaxel.
2017	Cameron et al.19	Estudo HERA de fase III, randomizado, multicêntrico, aberto. 5099 mulheres com câncer de mama precoce HER2 positivo receberam trastuzumabe durante um período de tratamento de 1 ou 2 anos.	O trastuzumabe melhora expressivamente a SLD (69% para 1 ano de trastuzumabe e 69% para 2 anos de trastuzumabe) e a SG em mulheres com câncer de mama inicial positivo para HER2.
2017	Minckwitz et al. 20	Estudo APHINITY de fase III, multicêntrico, duplo-cego, controlado por placebo. De 4805 pacientes que foram randomizados, 2400 receberam quimioterapia + trastuzumabe + pertuzumabe e 2405 quimioterapia + trastuzumabe + placebo.	A taxa de SLDI em 3 anos foi de 94,1% no grupo pertuzumabe, ou seja, o pertuzumabe quando adicionado ao trastuzumabe e a quimioterapia, apresenta uma melhora estatisticamente significativa da taxa de SLDI a longo prazo nos pacientes com câncer de mama precoce HER2 positivo.
2017	Perez et al.21	Estudo MARIANNE de fase III, internacional, randomizado. 1.095 pacientes HER2 positivo foram avaliados sem terapia prévia para o câncer avançado e receberam aleatoriamente trastuzumabe + taxano (n = 365), T- DM1 (n = 367) e T-DM1 + pertuzumabe (n = 363) em doses padrão.	As terapias contendo T-DM1 não evidenciaram superioridade na SLP em comparação com trastuzumabe + taxano, portanto, o T-DM1 pode prover uma opção de tratamento alternativo para o trastuzumabe + taxano em pacientes com câncer de mama metastático HER2 positivo.

2017	Stebbing et al.22	Estudo de equivalência de fase III, randomizado, duplo-cego, controlado por ativo. 549 mulheres com câncer de mama operado por HER2 positivo em estágio I-IIIa receberam aleatoriamente CT-P6 neoadjuvante (271 [49%]) ou trastuzumabe (278 [51%]), em conjunto com o docetaxel neoadjuvante e FEC (fluorouracil, epirrubicina e ciclofosfamida) terapia.	O CT-P6 (Herzuma) apresentou eficácia semelhante em relação ao trastuzumabe. As mulheres que utilizaram CT-P6 e trastuzumabe, obtiveram pCR de 46,8% (116 de 248) e 50,4% (129 de 256) respectivamente.
2019	Esteve et al.23	Estudo NCT02162667 de fase III, duplo-cego. 549 pacientes foram randomizados, e iniciaram o tratamento com CT-P6 (n=271) e trastuzumabe (n=278), a cada 3 semanas por ≤ 1 ano, após o tratamento neoadjuvante e a cirurgia.	O CT-P6 (Herzuma) adjuvante apresentou eficácia e segurança similares ao trastuzumabe em 1 ano em pacientes com câncer de mama HER2+.

Tabela 1. Abreviações: Sobrevida Global (SG); Sobrevida Livre de Doença Invasiva (SLDI); Sobrevida Livre de Doença (SLD); Sobrevida Livre de Progressão (SLP); Resposta Patológica Completa (pCR). **Fonte:** Elaborado pelas autoras.

Índice de mortalidade por câncer de mama no Brasil

Segundo as informações obtidas através dos bancos de dados online do DATASUS, sobre o índice de mortalidade por câncer de mama no Brasil, pode-se destacar na **Figura 1** o aumento expressivo do número de óbitos por câncer de mama no Brasil no período entre 2000 e 2017, onde a quantia passou de 8.311 para 16.724 casos. Além disso, a **Tabela 2** apresenta a taxa de mortalidade por faixa etária, entre o gênero feminino no Brasil, no período de 2000 a 2017, onde

o maior valor se encontra no intervalo entre 50 a 59 anos (24,5% dos casos). Assim, observa-se que a senescência é um importante fator de risco, devidas as alterações fisiológicas naturais ligadas a idade [25].

O diagnóstico precoce do câncer de mama, ou seja, nos estágios iniciais (I e II), colabora para a eficácia da terapia. Entretanto, no Brasil, devido à falta de estratégias de rastreamento, bem como a conscientização da importância da mamografia, cerca de metade dos casos são diagnosticados nos estágios avançados da doença (III e IV), aumentando assim a dificuldade do tratamento e a incidência de óbitos [26].

Figura 1: Mortalidade por câncer de mama entre mulheres no Brasil, durante o período de 2000 à 2017.

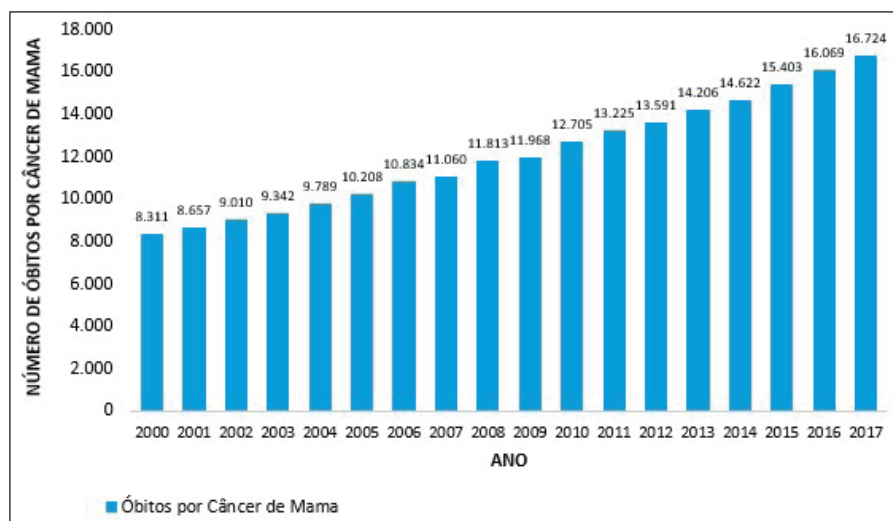


Figura 1. Fonte: Adaptado de DATASUS, 2019.²⁷

Tabela 2: Taxas de mortalidade por neoplasia da mama, por faixa etária, entre o gênero feminino no Brasil, no período de 2000 a 2017.

Faixa Etária (anos)	Número de Óbito	%
20 – 29	1.756	0,8
30 – 39	14.650	6,7
40 – 49	38.238	17,6
50 – 59	53.325	24,5
60 – 69	45.858	21,1
70 – 79	35.452	16,3
≥ 80	28.184	13

Tabela 2. Fonte: Adaptado de DATASUS, 2019.²⁷

Regulamentação para medicamentos biossimilares

Um medicamento é autorizado para comercialização após ser definido, analisado e aprovado pela agência reguladora, no caso da Brasil, a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária é o órgão responsável por esta regulamentação, e define o biossimilar como um medicamento desenvolvido a partir da biossíntese em células vivas (*in vivo*), geneticamente modificadas, moléculas complexas e suscetíveis a variação de temperatura e armazenagem. Possui um alto valor de investimento, por conta do processo biotecnológico, e sua replicação não é realizada de forma idêntica, sendo assim as moléculas biológicas nunca serão totalmente iguais. Em contrapartida, há os fármacos sintéticos, classificados como medicamentos desenvolvidos por síntese química (*in vitro*), com moléculas simples e estáveis, de forma que sua replicação em laboratório pode ser efetuada identicamente. Através do desenvolvimento em laboratórios é possível produzir mecanismos tecnológicos para facilitar a dissolução em meio ácido ou básico, sendo assim é possível elaborar medicamentos para a administração por via oral [28].

Em 2010 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou a RDC Nº 55, de 16 de dezembro de 2010 e definiu como produto biológico vacinas, soros hiperimunes, hemoderivados, biomedicamentos (fármacos obtidos a partir de fluidos biológicos ou de tecidos de origem animal, e fármacos obtidos por procedimentos biotecnológicos), anticorpos monoclonais (mABs) e medicamentos contendo

microrganismos vivos, atenuados ou mortos (não se aplica aos antibióticos e estrógenos conjugados semissintéticos, anovulatórios, pro bióticos e alérgenos) [28].

O FDA - Food and Drug Administration, agência reguladora responsável pela avaliação de medicamentos nos Estados Unidos, considera os produtos biológicos como a classe de produtos terapêuticos com maior índice de crescimento no país, e define este produto como um medicamento utilizado para diagnosticar e prevenir o avanço, assim como tratar e curar patologias de pacientes em condições de atendimento médico. Trata-se de moléculas grandes e complexas produzidas por biotecnologia em um sistema vivo, um microrganismo, célula vegetal ou célula animal, que geralmente são mais difíceis de caracterizar do que os medicamentos de moléculas pequenas. A FDA se difere das demais agências, pois criou um processo abreviado de licenciamento para produtos biológicos, proporcionando mais opções de tratamento, facilitando o acesso a medicamentos, salvando a vida de inúmeros pacientes, e potencialmente reduzindo os custos com assistência médica. Por meio de um processo de fiscalização ágil e complexo, analisa e comprova que seus fabricantes possuem estudos clínicos, processos de produção e distribuição seguros e eficazes [29].

A EMA - European Medicines Agency foi à agência pioneira na análise e deferimento de dossiês para registro de medicamentos biológicos, após este marco para a indústria farmacêutica e saúde da população da União Europeia, o órgão regulamentador concluiu o maior número de análises de dossiês de fármacos biossimilares, possibilitando a utilização como parte considerável nas terapias eficazes contra vários tipos de doenças. Para a aprovação e comercialização de um medicamento, é necessário que o fabricante apresente um dossiê composto por requisitos rigorosos, assim como diversos testes clínicos que comprovem similitude ao de referência, eficácia, segurança e qualidade comprovada, assim como a apresentação de licenças de funcionamento e autorização de BPF (Boas Práticas de Fabricação) [30,31,32,33,34].

Utilização de biossimilares no tratamento do câncer

Os medicamentos biossimilares têm demonstrado sua eficácia para o tratamento do câncer, pois apre-

sentam melhorias consideráveis nos desfechos clínicos, incluindo sobrevida do paciente, conforme indicações da NCCN - National Comprehensive Cancer Network e ASCO - American Society of Clinical Oncology. Porém, por conta dos investimentos com o desenvolvimento de fabricação destes fármacos, os custos são particularmente altos, muitas vezes impossibilitando a acessibilidade ao tratamento [35].

Com o avanço e desenvolvimento das indústrias farmacêuticas, juntamente com progresso de diversas pesquisas clínicas, foram obtidas melhorias consideráveis referentes a fármacos disponíveis para o tratamento de câncer de mama, por exemplo, a síntese de anticorpos monoclonais humanizados recombinantes (mAbs) como: o trastuzumabe, um anticorpo anti-receptor do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), e o bevacizumabe, um anticorpo anti-fator vascular de crescimento endotelial (VEGF), que em combinação com capecitabina ou taxanos são recomendados para pacientes com câncer de mama metastático [36].

O HER2 (ERBB2), trata-se de uma proteína tirosina-quinases transmembranosa que se ligam ao fator de crescimento epidérmico - EGFR, sua superexpressão é observada em 20% dos carcinomas invasivos da mama, é o subtipo que apresenta um dos piores prognósticos. Em quantidades normais possui um importante papel no crescimento e desenvolvimento de células epiteliais, porém em altas quantidades, torna-se um alvo terapêutico para tratamento do carcinoma mamário, pois a super ativação está relacionada a um provável desenvolvimento de tumores, seja por amplificação do gene HER2, ou através da desregulação do programa de diferenciação para cada célula. O HER2 quando superexpresso, estimula à formação de heterodímeros com outros membros da família EGFR, e consequentemente ocorre uma fosforilação dos resíduos de tirosina no citoplasma, que permite uma diversificação de vias de sinalização que promovem o crescimento celular exacerbado e a carcinogênese [37,38,39].

Anticorpos monoclonais

Os anticorpos monoclonais (mAbs) são imunoglobulinas originárias de um único clone de linfócito B, portanto produzem anticorpos com características idênticas e são desenvolvidas para reagir, seletivamente, com antígenos de determinados grupos ce-

lulares (neste caso, o alvo são as **células tumorais**) e **preservar** as células saudáveis. Por isso, são indicados como um produto biotecnológico inovador para o tratamento de alguns tipos de câncer [40]. A **Figura 2** apresenta uma linha do tempo com os anticorpos monoclonais usados no tratamento do câncer de mama aprovados no Brasil.

Figura 2: Anticorpos monoclonais utilizados na terapia do câncer de mama aprovados pela ANVISA, em ordem cronológica.

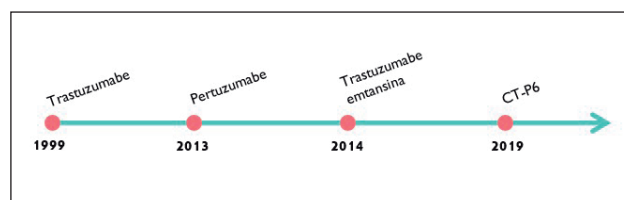


Figura 2. Fonte: Elaborado pelas autoras.

Trastuzumabe

O trastuzumabe (Herceptin[®]) fabricado pela Roche, é um anticorpo monoclonal utilizado no tratamento do câncer de mama HER2+, ao qual fornece benefícios clínicos na terapia de pacientes com a patologia em estágio inicial e metastático [41]. Ele se liga aos receptores HER2 (que se encontram de maneira aumentada nos tumores HER2+), bloqueando o estímulo ao crescimento tumoral, além disso ele sinaliza os anticorpos do próprio sistema imunológico que é capaz de identificar as células e destruí-las [42, 43]. O trastuzumabe possui alta afinidade ao receptor HER2, porém, cerca de 70% a 80% dos pacientes com câncer de mama com superexpressão de HER2 possuem resistência primária ou adquirida ao trastuzumabe e não respondem ao tratamento quando administrado como monoterapia [44].

Pertuzumabe

Pertuzumabe (Perjeta[®]) é um anticorpo monoclonal humanizado anti-HER2, possui um mecanismo de ação coadjuvante ao trastuzumabe, pois inibe a dimerização com outros receptores ao se ligar com ao domínio extracelular II do receptor HER. Estudos farmacocinéticos comprovam que através da terapia combinada, os resultados são promissores para pacientes com câncer de mama [18,45,46].

Trastuzumabe entansina – TDM1

Trastuzumabe entansina (Kadcyla[®]) trata-se de um conjugado anticorpo-droga (ADC), ou seja, uma associação de um anticorpo monoclonal (trastuzumabe) ligado ao quimioterápico extremamente potente DM1. O trastuzumabe se liga ao receptor HER2 e leva o quimioterápico para dentro das células doentes onde impede o crescimento e a divisão destas e provoca a morte celular. Estudos comprovaram a prolongação da sobrevida global e livre de agravamento da doença em pacientes diagnosticados com carcinoma mamário avançado [47,48,49].

CT-P6

O CT-P6 (Herzuma[®]), recentemente aprovado pela ANVISA, é um medicamento biossimilar do trastuzumabe, que oferece um tratamento alternativo mais econômico. Seu mecanismo funciona de maneira semelhante ao produto de referência, e também é indicada para tumores que apresentam superexpressão da proteína HER2. Por se tratar de uma terapia alvo, seu principal foco é inibir a multiplicação das células cancerígenas, sem afetar as células saudáveis [50].

Desafios para a elaboração de novos biossimilares

Para que uma indústria farmacêutica apresente um novo produto biossimilar no mercado, é necessária comprovação da eficácia e segurança através de relatórios e ensaios como, comparabilidade, toxicologia, farmacodinâmica, farmacocinética, que comprovem a biossimilaridade com o fármaco de referência, além de uma tecnologia analítica de última geração, incluindo teste de potência e análise da atividade biológica da molécula. Estes relatórios requerem altos valores de investimentos para as indústrias, assim como maquinário adequado para a produção e mão de obra especializada. Após o levantamento destes estudos, é elaborado um dossiê e apresentado a agência reguladora, no caso do Brasil a ANVISA, que por sua vez analisa os documentos apresentados em até 120 dias conforme Lei nº 13.411/2016, e pode apontar correções a serem realizadas pela empresa, concluindo assim o deferimento ou indeferimento do registro do medicamento [51].

Investimentos para o tratamento do câncer no SUS

Segundo o Ministério da Saúde, o SUS (Sistema Único de Saúde) criado em 1988, é um sistema que oferece saúde, atendimento, diagnóstico e tratamento totalmente gratuito para a população brasileira. A proposta é um sistema que ofereça assistência médica sem discriminação, do nascimento ao falecimento, passando a ser um direito assegurado por lei (Nº 8.080, de 19/09/1990) para o brasileiro [52,53].

O Relatório de Auditoria Operacional, Política Nacional de Atenção Oncológica do Tribunal de Contas da União - TCU, divulgou em 2010 que o governo federal investiu cerca de R\$1,9 bilhões de reais para o tratamento do câncer no país [54]. E através das redes públicas e suplementar de saúde, foi possível diagnosticar cerca de 60,5% de casos de câncer nos estágios III e IV. Na **figura 3**, divulgado pelo TCU em 2011, é possível visualizar a evolução de gastos do governo para tratamento do câncer de mama no período de 2002 a 2010 [55].

Figura 3: Evolução de investimento na terapia contra o câncer realizado pelo governo, no período de 2002 a 2010.

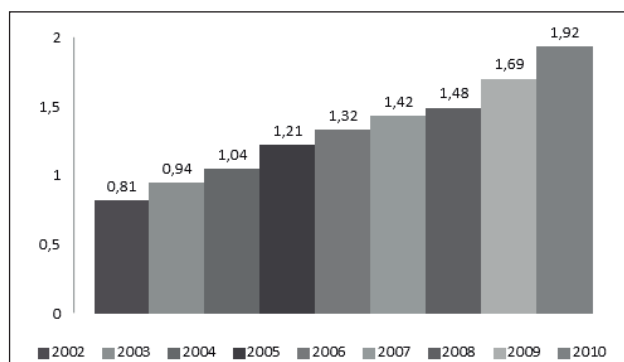


Figura 3. Fonte: Adaptado de TCU, 2011.⁵⁵

Em um relatório divulgado em 2016 pelo Observatório de Oncologia, uma plataforma online de monitoramento de dados referente à oncologia no Brasil e integrante do movimento Todos Juntos Contra o Câncer, é possível visualizar na **Figura 4** a evolução no custo em reais do tratamento e os estágios de cada paciente diagnosticado na pré e pós menopausa [52].

Conclusão

Através do avanço em estudos clínicos, testes e

desenvolvimentos biotecnológicos, indústrias e instituições proporcionaram nos últimos anos progresso no tratamento para inúmeros pacientes diagnosticados com carcinoma mamário. A descoberta dos medicamentos biológicos como a terapia anti-HER2, certamente foi uma evolução inovadora para área da saúde, sua aplicação é eficaz como monoterapia ou em associação a outro quimioterápico, pois prolonga a sobrevida no cenário metastático na terapia do câncer de mama com superexpressão de HER2. Conforme estudos de fase II em 2012, pacientes utilizando um tratamento composto de pertuzumabe + trastuzumabe + docetaxel eliminaram tumores por completo. Estudos em 2019 evidenciaram resultados eficazes para o uso do CT-P6 (Herzuma®), similar ao trastuzumabe. Porém o cenário de casos com óbito ainda é alarmante, seja por um diagnóstico tardio, morosidade no atendimento médico, ou falta de medicamentos essenciais e eficazes nas unidades de saúde. Por meio de parcerias entre o governo, indústrias e instituições de pesquisas, faz-se necessário a elaboração de programas fiscais que possibilitem o desenvolvimento de fármacos mais eficiente e acessível para os pacientes.

Figura 4: Valor em reais investido pelo governo brasileiro no tratamento do carcinoma mamário de acordo com o estágio da doença.

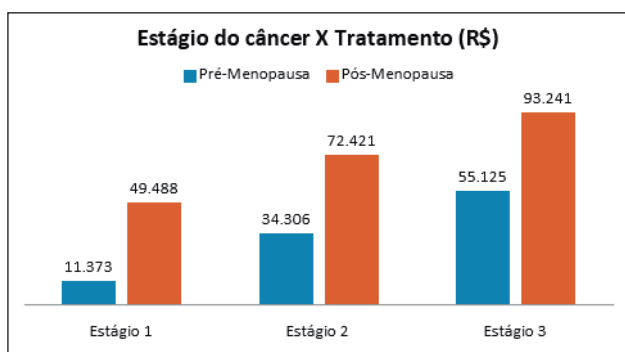


Figura 4. Fonte: Adaptado de Observatório de Oncologia, 2016.⁵⁴

Referencias

1. World Health Organization. National cancer control program: policies and managerial guidelines. Genebra: WHO.2002; 180p. [acesso em 2019 mar 8]. Disponível em: <https://www.who.int/cancer/media/en/408.pdf>.
2. Femama. Tipos de câncer de mama. 2019. [acesso em 2019 out 01]. Disponível em: https://www.femama.org.br/2018/br/noticia/tipos-de-cancer-de-mama?gclid=Cj0KCQ-jwoqDtBRD-ARIsAL4pviBg9bJZKUTs_KL-mm5-Rd3ZnzUAier-RH4A487i1s7wcr1vP_9YccHA-aAqpyEALw_wcB.
3. Cirqueira MB, Moreira MAR, Soares LR, Freitas-Júnior R. Subtipos moleculares do câncer de mama. *Femina*. 2011; 39(10): 500-503. [acesso em 2019 out 01]. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n10/a2965.pdf>.
4. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (Brasil). Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA. 2018; 128p. [acesso em 2019 mar 8]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-incidencia-de-cancer-no-brasil-2018.pdf>.
5. Wu M, Fan B, Guo Q, Li Y, Chen R, Lv N et al. Knockdown of SETDB1 inhibits breast cancer progression by miR-381-3p-related regulation. *Biol. Res*. 2018; 51(1): 1-11. [acesso em 2019 mar 8]. Disponível em: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602018000100232&lang=pt#B2.
6. Cecilio AP, Takakura ET, Jumes JJ, Santos JW, Herrera AC, Victorino VJ et al. Breast cancer in Brazil: epidemiology and treatment challenges. *Breast Cancer* (Dove Med. Press). 2015; 43-49. [acesso em 2019 mar 12]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4317062/>.
7. Brateibach V, Domenico EBL, Berlezi EM, Loro MM, Rosanelli CLSP, Gomes JS et al. Sintomas de pacientes em tratamento oncológico. *Ciência & Saúde*, Porto Alegre. 2013; 6(2): 102-109. [acesso em 2019 mar 12]. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/revistapsico/ojs/index.php/faenfi/article/view/12604>.
8. Fernandes JP, Gonçalves J. Safety and clinical efficacy in biosimilar substitution. *Rev. Port. Farmacoter*. 2015; 7(1): 4-24. [acesso em 2019 mar 17]. Disponível em: <http://revista.farmacoterapia.pt/index.php/rpf/article/view/15>.
9. Mellstedt H, Niederwieser D, Ludwig H. The challenge of biosimilars. *Annals Of Oncol*. 2017; 19(3): 411-419. [acesso em 2019 mar 12]. Disponível em: <https://academic.oup.com/annonc/article/19/3/411/246168>.

10. Santos SB, Lobo JMS, Silva AC. Biosimilar medicines used for cancer therapy in Europe: a review. *Drug Disc. Tod.* 2019; 24(1) 293-299. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135>.
11. Macedo A, Monteiro I, Andrade S, Cirrincione A, Ray J. Custo-Efetividade de Trastuzumabe no Tratamento de Doentes com Cancro da Mama em Estádios Iniciais em Portugal. *Acta Med Port.* 2010; 23(3): 475-482. [acesso em 2019 abr 03]. Disponível em: <https://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/631>.
12. Costa RB, Kurra G, Greenberg L, Geyer CE. Eficácia e segurança cardíaca de esquemas quimioterápicos adjuvantes à base de trastuzumabe para câncer de mama precoce com HER2 positivo. *Annals of Oncology.* 2010; 21(11): 2153-2160. [acesso em 2019 abr 03]. Disponível em: <https://academic.oup.com/annonc/article/21/11/2153/215449>.
13. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Cosimo Sd, Azambuja Ed, Aura C. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALT-TO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet.* 2012; 379(9816): 633-640. [acesso em 2019 abr 13]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5705192/>.
14. Gianni L, Pienkowski T, Im Y. Roman L, Tseng L, Liu M et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *The Lanc. Oncol.* 2012; 13(1): 25-32. [acesso em 2019 abr 13]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1470204511703369#!>.
15. Boyraz B, Sendur MA, Aksoy S, Babacan T, Roach EC, Kizilarlanoglu MC. Trastuzumab emtansine (T-DM1) for HER2-positive breast cancer. *Cur. Med. Res. And Opin.* 2013; 29(4) 405-414. [acesso em 2019 abr 20]. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1185/03007995.2013.775113>.
16. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *New Engl. Jour. Med.* 2012; 367(19): 1783-1791. [acesso em 2019 abr 20]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5125250/>.
17. Perez EA, Romond EH, Suman VJ, Jeong JH, Sledge G, Geyer CE Jr et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: planned joint analysis of overall survival from NSABP B-31 and NCCTG N9831. *Jour. Clin. Oncol.* 2014; 32(33): 3744-3752. [acesso em 2019 abr 14]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4226805/>.
18. Swain SM, Baselga J, Kim SB, Ro J, Semiglazov V, Campone M et al. Pertuzumab, Trastuzumab, and Docetaxel in HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *New Engl. Jour. Of Med.* 2015; 372(8): 724-734. [acesso em 2019 abr 05]. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1413513>.
19. Cameron D, Piccart-gebhart MJ, Gelber RD, Procter M, A Goldhirsch, Azambuja Ed et al. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *The Lancet.* 2017; 389(10075): 1195-1205. [acesso em 2019 abr 05]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616326162#!>.
20. Minckwitz Gv, Procter M, Azambuja Ed, Zardavas D, Benyunes M, Viale G et al. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *New Engl. Jour. Med.* 2017; 377(2): 122-131. [acesso em 2019 abr 14]. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1703643>.
21. Perez EA, Barrios C, Eiermann W, Toi M, Im YH, Conte P et al. Trastuzumab Emtansine With or Without Pertuzumab Versus Trastuzumab Plus Taxane for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive, Advanced Breast Cancer: Primary Results From the Phase III MARIANNE Study. *Jour. Clin. Oncol.* 2017; 35(2): 141-148. [acesso em 2019 abr 20]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5455677/>.
22. Stebbing J, Baranau Y, Baryash V, Alexey Manikhas, Vladimir Moiseyenko, Giorgi Dzagnidze et al. CT-P6 compared with reference trastuzumab for HER2-positive breast cancer: a randomised, double-blind, active-controlled, phase 3 equivalence trial. *The Lan. Oncol.* 2017; 18(7): 917-928. [acesso em 2019 abr 20]. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(17\)30434-5/fulltext#seccesstitle180](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(17)30434-5/fulltext#seccesstitle180).
23. Esteva FJ, Baranau YV, Baryash V, Moiseyenko V, Dzagnidze G et al. Efficacy and safety of CT-P6 versus reference trastuzumab in HER2-positive early breast cancer: updated results of a randomised phase 3 trial. *Canc. Chemother. Pharmacol.*

2019; 84(4): 839-847. [acesso em 2019 abr 05]. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00280-019-03920-4>.

24. Piccart-gebhart MJ, Procter M, Leyland-jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I et al. Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *New Engl. Jour. Of Med.* 2005; 353(16): 1659-1672. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa052306>.

25. Silva MM, Silva VH. Envelhecimento: importante fator de risco para o câncer. *Arq. Med. ABC.* 2005; 30(1): 11-18. [acesso em 2019 mai 13]. Disponível em: <https://www.portalnepas.org.br/amabc/article/view/273>.

26. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacor R, Nunes LN, Albuquerque IM, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cadernos de Saúde Pública.* 2007; 23(8): 1785-1790. [acesso em 2019 mai 13]. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007000800005.

27. Ministério da Saúde. DATASUS. Atlas de Mortalidade. [acesso em 2019 mai 13]. Disponível em: <https://mortalidade.inca.gov.br/MortalidadeWeb/>.

28. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 55, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. 2013; 27p. [acesso em 2019 mai 15]. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_55_2010_COM-Ppdf/bb86b1c8-d410-4a51-a9df-a61e165b9618.

29. Food and Drug Administration (USA). Biological Product Definitions. 2017; 2p. [acesso em 2019 mai 29]. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/therapeutic-biologics-applications-bla/biosimilars>.

30. Niederwieser D, Schmitz S. Biosimilar agents in oncology/haematology: from approval to practice. *Eur. Jour. Of Haem.* 2011; 86(4): 277-288. [acesso em 2019 jun 2]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3085072/>.

31. Schellekens H. Biosimilar therapeutics-what do we need to consider?. *NDT Plus.* 2009; 2(1): 27-36. [acesso em 2019 jun 2]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2638545/>.

32. Kay J. Biosimilars: a regulatory perspective from America. *Arthritis Res. Ther.* 2011; 13(3):112p. [acesso em 2019 jun 2]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3218870/>.

33. Zuñiga L, Calvo B. Biosimilar agents in oncology/haematology: from approval to practice. *Pharmacoepid. And Drug Safety, Espanha.* 2010;19(7): 661-669. [acesso em 2019 jun 3]. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/pds.1948#accessDenialLayout>.

34. Ahmed I, Kaspar B, Sharma U. Biosimilars: Impact of Biologic Product Life Cycle and European Experience on the Regulatory Trajectory in the United States. *Clin. Therapeutics.* 2012; 34(2): 400-419. [acesso em 2019 jun 3]. Disponível em: [https://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149-2918\(11\)-00840-X/fulltext](https://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149-2918(11)-00840-X/fulltext).

35. Chopra R, Lopes G. Improving Access to Cancer Treatments: The Role of Biosimilars. *Jour. Of Glob. Oncol.* 2017; 3(5) 596-610. [acesso em 2019 jun 3]. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JGO.2016.008607>.

36. Uifălean A, Ilieș M, Nicoară R, Rus LM, Hegeș SC, Iuga CA. Concepts and Challenges of Biosimilars in Breast Cancer: The Emergence of Trastuzumab Biosimilars. *Pharmaceutics.* 2018;10(4):168p. [acesso em 2019 jun 4]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6321008/>.

37. Freitas CS. Estendendo o Conhecimento sobre a Família Her-Receptores para o Fator de Crescimento Epidérmico e seus ligantes às Malignidades Hematológicas. *Ver. Bras. de Canc.* 2008; 54(1): 79-86. [acesso em 2019 out 1]. Disponível em: www.inca.gov.br/rbc/n_54/v01/pdf/revisao_5_pag_79a86.pdf

38. Oh DY, Bang YJ. HER2-targeted therapies — a role beyond breast cancer. *Nat. Ver. Clin. Oncol.* 2019; 16p. [acesso em 2019 out 1]. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41571-019-0268-3.pdf>.

39. Sanches SM, Silva JMA. Interação entre Especialidades: Miocardiopatia Dilatada e Neoplasia de Mama HER2 Positiva. *Arq. Bras. Cardiol.* 2010; 94(1): 11-15. [acesso em 2019 out 1]. Disponível em: www.scielo.br/pdf/abc/v94n1/26.pdf.

40. Vidal TJ, Figueiredo TA, Pepe VLE. O mercado brasileiro de anticorpos monoclonais utilizados para o tratamento de câncer. *Cad. de Saúd. Públic.* 2018; 34(12): 14p. [acesso em 2019 ago 18]. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311-2018001205003X&lang-pt#B5.

41. Piccart-gebhart MJ, Procter M, Leyland-jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I et al. Trastuzum-

- ab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *New Engl. Jour. Of Med.* 2005; 353(16): 1659-1672. [acesso em 2019 ago 18]. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa052306>.
42. Gasser M, Waaga-gasser AM. Therapeutic Antibodies in Cancer Therapy. *Advances In Experimental Medicine And Biology.* 2016; 917: 95-120. [acesso em 2019 ago 19]. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-32805-8_6.
43. Pollock NI, Grandis JR. HER2 as a Therapeutic Target in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinic. Canc. Res.* 2014; 21(3): 526-533. [acesso em 2019 ago 20]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4315724/>.
44. Leite CAVG, Costa JVG, Callado RB, Torres JNL, Lima Júnior RCP, Ribeiro RA. Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer. *Rev. Bras. de Oncol. Clín.* 2012; 8(29): 130-142. [acesso em 2019 ago 20]. Disponível em: https://www.sbo.org.br/app/webroot/Site_RBOC_OFICIAL/pdf-edicao_29/artigo4.pdf.
45. Baselga J, Cortés J, Kim S, Im S, Hegg R, Im Y et al. Pertuzumab plus Trastuzumab plus Docetaxel for Metastatic Breast Cancer. *New Engl. Jour. Of Med.* 2012; 366(2): 109-119. [acesso em 2019 set 19]. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1113216>.
46. Agus DB, Gordon MS, Taylor C, Natale RB, Karlan B, Mendelson DS et al. Phase I Clinical Study of Pertuzumab, a Novel HER Dimerization Inhibitor, in Patients With Advanced Cancer. *Jour. Of Clin. Oncol.* 2005; 23(11): 2534-2543. [acesso em 2019 set 20]. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JCO.2005.03.184>.
47. Lambert JM, Chari RVJ. Ado-trastuzumab Emtansine (T-DM1): An Antibody-Drug Conjugate (ADC) for HER2-Positive Breast Cancer. *Jour. Of Med. Chem.* 2014; 57(16): 6949-6964. [acesso em 2019 set 20]. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm500766w>.
48. Junttila TT, Li G, Parsons K, Phillips GL, Sliwkowski MX. Trastuzumab-DM1 (T-DM1) retains all the mechanisms of action of trastuzumab and efficiently inhibits growth of lapatinib insensitive breast cancer. *Breast Canc. Res. and Treat.* 2011; 128: 347-356. [acesso em 2019 set 23]. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-010-1090-x>.
49. Poon KA, Flagella K, Beyer J, Tibbitts J, Kaur S, Saad O. Preclinical safety profile of trastuzumab emtansine (T-DM1): Mechanism of action of its cytotoxic component retained with improved tolerability. *Toxic. And Appl. Pharmac.* 2013; 273(2): 298-313. [acesso em 2019 set 23]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X13003955#!>.
50. Esteva FJ, Saeki T, Kim H, Stebbing J. Efficacy and safety of the trastuzumab biosimilar candidate CT-P6. *Future Oncol.* 2018; 14(19): 1909-1919. [acesso em 2019 set 25]. Disponível em: <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/fon-2017-0679>.
51. Mantovani M, Caruso CS, Facchini FDA, Pascon R, Cagnacci PRV, Magalhães VD. Physicochemical and biological comparison of the first Brazilian biosimilar filgrastim with its reference product. *Dovepress, biosimilars.* 2016; 6: 45-60. [acesso em 2019 set 28]. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3571902/mod_resource/content/1/FBF0304%202017%20Biossimilares%20filgrastima.pdf.
52. Brasil. Ministério da Saúde. Sistema Único de Saúde (SUS): estrutura, princípios e como funciona. 2019. [acesso em 2019 set 28]. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sistema-unico-de-saude>.
53. Brasil. Presidência da República do Brasil. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Brasília: Presidência da República do Brasil, 2006. [acesso em 2019 set 28]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm.
54. Observatório de Oncologia. Quanto Custa Tratar um Paciente com Câncer no SUS em 2016. [acesso em 2019 set 30]. Disponível em: <https://observatoriodeoncologia.com.br/quanto-custa-tratar-um-paciente-com-cancer-no-sus-em-2016/>.
55. Brasil. Tribunal de Contas da União. Relatório de Auditoria Operacional: Política Nacional de Atenção Oncológica. Brasília: TCU. 2011; 132 p. [acesso em 2019 set 30]. Disponível em: <https://portal.tcu.gov.br/lumis/portal/file/fileDownload.jsp?inline=1&fileId=8A8182A14D6E85DD014D7327C1CB5497>.

Artigo de Revisão

GERMINAÇÃO DE GRÃOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE COMO OS PROCESSOS BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS AFETAM O CONTEÚDO E O PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E SUAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

Autores: Gabriela Boscarol Rasera^{1,A}; Ruann Janser Soares de Castro¹

¹Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas
Rua Monteiro Lobato, 80, Campinas - SP, Brasil

Informações do artigo

Palavras Chave:

Germinação; compostos fenólicos; transformações.

Resumo

Germinação é um processo simples e econômico que melhora a qualidade nutricional e funcional dos grãos, como resultado de transformações complexas. As condições ambientais em que os grãos são expostos influenciam diretamente na composição final do broto e, consequentemente na sua bioatividade. É possível perceber uma correlação positiva entre o processo de germinação e o teor de compostos fenólicos presentes nos grãos, apesar da explicação para isso ser peculiar para cada processo de germinação. De maneira geral, sabe-se que os compostos fenólicos podem estar presentes nas formas solúvel e insolúvel, sendo que a primeira está normalmente armazenada no vacúolo da planta, e a segunda ligada a macromoléculas, constituindo a estrutura dos grãos. Durante o processo de germinação e consequente atuação das enzimas ativadas pela absorção de água, essas duas frações se transformam simultaneamente. A fração solúvel pode se tornar insolúvel devido ao crescimento da radícula e necessidade de formação estrutural e a insolúvel pode ser transformada à solúvel, devido a hidrólise das ligações com as macromoléculas de armazenamento da planta. Dessa forma, a compreensão das diversas vias e consequentes resultados se tornam alvo de estudo da literatura. Dentro desse contexto, o objetivo central dessa revisão é apresentar estudos recentes que investigam as alterações promovidas pelo processo de germinação e sua relação com as propriedades antioxidantes de diferentes grãos. Algumas vias bioquímicas para formação de compostos fenólicos já elucidadas foram abordadas, assim como tendências futuras para uso de germinação como um processo para melhoria de propriedades biológicas dos grãos.

^AAutor correspondente

Gabriela Boscarol Rasera – E-mail: gabi_boscarol@hotmail.com – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3170-4006>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.90> - Artigo recebido em: 22 de outubro de 2019 ; aceito em 12 de fevereiro de 2020 ; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Germination;
phenolic compounds;
transformations.

Abstract

Germination is a simple and economical process that improves the nutritional and functional quality of the grains as a result of complex transformations. The environmental conditions in which the grains are exposed directly influence the final composition of the sprout and, consequently, its bioactivity. It is possible to notice a positive correlation between the germination process and the content of phenolic compounds present in the grains, although the explanation for this is peculiar to each germination process. In general, it is known that phenolic compounds can be present in soluble and insoluble forms, the first being normally stored in the plant's vacuole, and the second linked to macromolecules, constituting the grain structure. During the germination process and the consequent action of enzymes activated by water absorption, these two fractions are transformed simultaneously. The soluble fraction can become insoluble due to root growth and the need for structural formation and the insoluble fraction can be transformed into soluble, due to the hydrolysis of the bonds with the plant's macromolecules. In this way, the understanding of the different pathways and the consequent results become a target for studying the literature. Within this context, the main objective of this review is to present recent studies that investigate the changes promoted by the germination process and its relationship with the antioxidant properties of different grains. Some biochemical pathways for the formation of phenolic compounds already elucidated have been addressed, as well as future trends for the use of germination as a process to improve the biological properties of grains.

Introdução

Germinação significa o surgimento de uma nova planta. Isso inclui os eventos fisiológicos desde que as sementes são plantadas até a extensão da radícula que penetra as estruturas próximas. A absorção de água inicia as atividades metabólicas e celulares do grão. Temperatura, luz, umidade e tempo são fatores responsáveis para a transição do estado de dormência para metabolismo ativo por meio das enzimas hidrolíticas endógenas e a ativação de hormônios. Enzimas hidrolíticas iniciam a degradação de macromoléculas de armazenamento como carboidratos, proteínas e lipídios para gerar os produtos necessários para o desenvolvimento e crescimento da planta. Como dito anteriormente, a germinação é visualmente detectada com o aparecimento da radícula que aumenta o consumo de oxigênio e água, como consequência das necessidades para o crescimento da radícula (Bewley, 1997; Nonogaki & Nonogaki, 2017).

É importante a compreensão, de que durante a

germinação, mudanças fitoquímicas são extensas, como resultado de um fluxo dinâmico e complexo de nutrientes, incluindo remobilização, degradação e acúmulo dos mesmos (Nelson et al., 2013). Como consequência, mudanças bioquímicas e nutricionais importantes acontecem nos grãos, modificando as características dos mesmos (Gan et al., 2017). Como resultado desse processo dinâmico, a diversidade da composição e, consequentemente, a composição da atividade biológica, são específicas para cada grão (Pauca-Menacho et al., 2010).

Compostos bioativos são encontrados em frutas, vegetais e grãos, e, apresentam efeitos em células específicas do corpo, resultando em melhores condições de saúde. Como eles não são essenciais, não são reconhecidos como nutrientes, apesar de exibirem efeitos benéficos como poder antioxidante (Gibney et al., 2009). A respeito disso, já se sabe que estes compostos podem aumentar, diminuir, e principalmente sofrerem transformações, de acordo com o uso da planta, sendo novamente específico para cada broto e grão

(Nelson et al., 2013). Mesmo assim, já se sabe também que esse processo pode acumular diferentes compostos bioativos em brotos, como vitaminas, GABA (ácido γ -aminobutírico) e polifenóis (Gan et al., 2017). O objetivo central dessa revisão é relacionar o processo de germinação de diferentes grãos com as mudanças no perfil de compostos fenólicos, assim como de suas propriedades antioxidantes.

O que acontece durante a germinação?

A germinação causa mudanças importantes nas características bioquímicas e na melhoria nutricional e sensorial dos grãos (Yang et al., 2017) devido aos efeitos na composição dos mesmos, que acontecem a fim de sustentar o crescimento da semente. Apesar de algumas transformações ocorrerem de maneira geral nos grãos, constituindo as fases de desenvolvimento, sabe-se que a diversidade de composição e consequentemente de bioatividade são marcantes e, um estudo detalhado do tipo de semente e das condições de germinação, é então, essencial para um conhecimento adequado (Pauca-Menacho et al., 2010).

As primeiras transformações que ocorrem durante a germinação iniciam-se com a embebição das sementes. Essencial para este processo, a absorção da quantidade de água necessária (A), como resposta do menor potencial de água das células, dá início às atividades celulares e metabólicas (Nonogaki & Nonogaki, 2017) e à reorganização das organelas celulares (Bewley, 1997).

A temperatura, luz e umidade adequadas fazem a transição do grão do estado de dormência para o início do metabolismo ativo, por meio da ativação de inúmeras enzimas e hormônios hidrolíticos, como a giberelina. Este hormônio, transita do embrião (ou germe) para a camada de aleurona, facilitando a liberação de enzimas hidrolíticas endógenas degradadoras de macromoléculas de armazenamento, que quando degradadas produzem nitrogênio e o esqueleto de carbono necessários para o crescimento e fotossíntese da planta (Nelson et al., 2013) pertencentes aos eventos pós-germinativos e crescimento da radícula (Nonogaki & Nonogaki, 2017).

A germinação é detectada visualmente pelo rompimento do grão com o surgimento da radícula. Assim, o embrião gera uma pressão para a saída da mesma. O alongamento celular na radícula do embrião é provavelmente induzido pelo afrouxamento da pa-

rede celular através das proteínas modificadoras de parede celular, como as expansinas, que estão sob o controle da giberelina. Neste período há aumento no consumo de oxigênio. Essa taxa decai em seguida até que a radícula penetre na membrana, quando ocorre novamente aumento expressivo do consumo desse gás. As vias das pentoses fosfato, glicolítica e oxidativa retomam e as enzimas do ciclo de Krebs são ativadas. Vale ressaltar que os tecidos da semente seca e madura contêm mitocôndrias, enzimas do ciclo de Krebs e oxidases terminais suficientes para fornecer quantidades adequadas de ATP para apoiar o metabolismo durante várias horas após a embebição (Bewley, 1997). Após o afrouxamento da parede celular e aumento do consumo de oxigênio, uma fase lag inicia-se, onde o conteúdo de água é estabilizado, eventos bioquímicos acontecem e RNA e proteínas são sintetizados. Nota-se o enfraquecimento do endosperma vivo, evento essencial para a germinação de sementes e pré-requisito para a ruptura do endosperma pela radícula, que marca a conclusão da germinação. Os eventos pós-germinativos iniciam-se e são marcados pelo aumento da necessidade de consumo de água, devido ao surgimento da radícula, que absorve rapidamente a água e alonga. Além disso, a mobilização de reservas das sementes, como proteínas, lipídios e polissacarídeos é intensificada, como dito anteriormente. A degradação dos macronutrientes é bem coordenada e o crescimento das plântulas continuarão até que as verdadeiras folhas surjam e iniciem atividades fotossintéticas eficientes (Nonogaki; Nonogaki, 2017).

Condições ambientais de germinação, o que muda?

Sabe-se que as condições ambientais em que as sementes são germinadas influenciam diretamente na composição final do broto e consequentemente na sua bioatividade. Cada semente tem sua especificidade em composição, e, os fatores ambientais devem ser então, combinados para que o ponto ótimo de germinação seja determinado (Facelli; Chesson & Barnes, 2005). Desta forma, fatores como luz, umidade, temperatura e tempo são primordiais para a determinação das condições mais adequadas de germinação. Uma breve descrição de como estes fatores atuam sobre a germinação de sementes e grãos é apresentada a seguir:

Luz: Trata-se de um fator ambiental que afeta

a fotossíntese da planta (Yan et al., 2013), sendo que a quantidade, a duração e a qualidade da luz desempenham um papel importante na regulação da dormência e germinação das sementes, o que é essencial para o crescimento e o desenvolvimento da planta (Barrero et al., 2014). A luz é detectada por diferentes fotorreceptores em plantas, como os fitocromos, que são os principais reguladores da germinação em resposta à luz. Os fitocromos são os responsáveis por perceber os sinais de luz e transformá-los em sinais bioquímicos, dependendo da qualidade, intensidade, comprimento de onda e duração da luz (Vieira; Rodrigues; Garcia, 2017). A luz evoca mudanças foto-oxidativas nas plantas, como a produção de diferentes formas de espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas principalmente por cloroplastos. ROS podem iniciar uma série de alterações metabólicas, como a redução da atividade enzimática e diminuição da taxa fotossintética quando em excesso. Assim, para minimizar os possíveis danos oxidativos causados por estas espécies reativas, as plantas ativam seus mecanismos de desintoxicação constituídos de substâncias de baixo peso molecular como os antioxidantes e as enzimas antioxidantes (Simlat et al., 2016). Portanto, a ausência ou presença de luz leva a formas de desenvolvimento morfológicamente distintos durante o crescimento da planta (Galvao et al., 2012).

Temperatura: A temperatura é outro parâmetro fundamental para o crescimento e o desenvolvimento das sementes. O processo fotossintético parece ser sensível a esse fator, havendo impactos prejudiciais no desempenho e produtividade da planta quando exposta a temperaturas inadequadas, como enfraquecimento da absorção de água e nutrientes, mudança na taxa de crescimento e redução nas taxas de processos fotoquímicos, como reações enzimáticas e capacidade fotossintética (Yan et al., 2013).

Assim, temperaturas inadequadas tornam-se estresse abiótico para a planta, e, como mecanismo de proteção e defesa, as mesmas produzem os compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e proantocianidinas, além de polifenóis presentes como glicosídeos, acilglicosídeos e outras formas conjugadas (Zhang & Tsao, 2016).

Tempo de germinação: O tempo de germinação afeta diretamente a decomposição das macromoléculas. O prolongamento do tempo proporciona

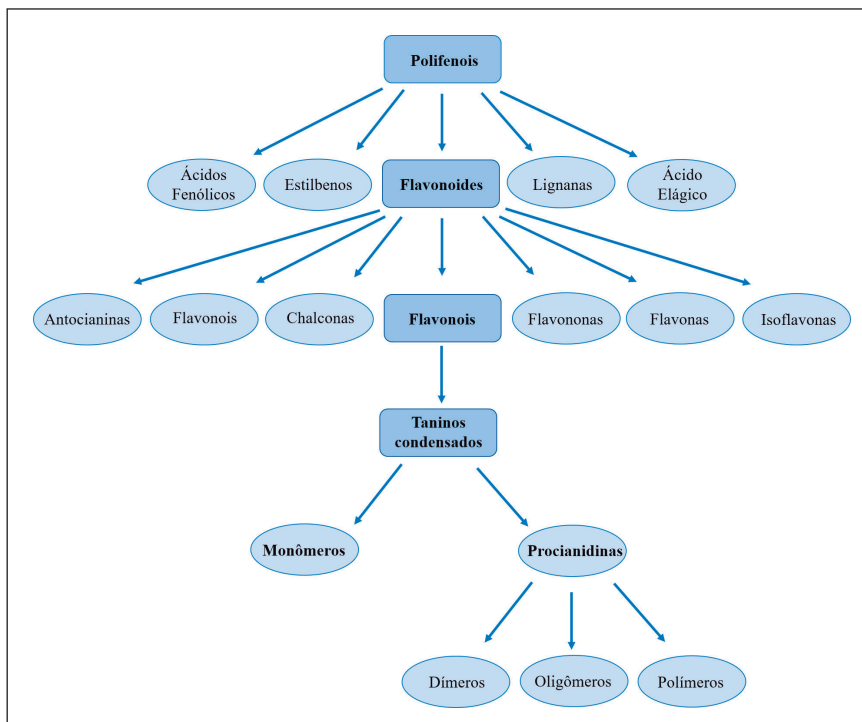
mais decomposição das moléculas de reserva das plantas e, portanto, maior nível de liberação dos componentes bioativos (Chungcharoen et al., 2015), o que, juntamente com alta atividade de beta-glucanase e alfa-amilase com o tempo, aumenta o teor de compostos fenólicos livres nos brotos (Farzaneh et al., 2017).

Germinação como uma estratégia para aumentar o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante de grãos.

Um antioxidante pode ser definido como “uma substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com a de um substrato oxidável, atrasa significativamente ou impede a oxidação desse substrato” (Halliwell, 1990). Isso pode acontecer por: a) sequestro de radicais livres do meio; b) quelação de íons metálicos; c) inibição de enzimas produtoras de radicais livres; d) ativação de enzimas antioxidantes endógenas; e) prevenção de peroxidação lipídica; f) prevenção de danos no DNA; g) prevenção da modificação proteica e destruição de açúcares (Carocho; Morales & Ferreira, 2017).

O termo “compostos fenólicos” pode ser atribuído a compostos que possuem um anel aromático com grupamento hidroxila e “polifenóis”, compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupamentos hidroxilas, embora sejam termos sinônimos. Os compostos fenólicos podem ser divididos em diversos sub-grupos de acordo com as suas características estruturais (**Figura 1**), que são os fatores responsáveis pela atividade antioxidante de cada polifenol ou composto fenólico. Assim, o número e a posição de grupamentos hidroxilas nas moléculas, grau de hidroxilação, distância entre grupamento carbonil e anel aromático, assim como a quantidade de anéis aromáticos desempenham um papel importante na atividade antioxidante do composto. (Zhang & Tsao, 2016).

Dados de pesquisas abordados na literatura demonstram o potencial efeito positivo na composição e qualidade nutricional dos grãos germinados. A **Tabela 1** apresenta alguns estudos publicados nos últimos 3 anos mostrando brevemente os efeitos positivos da germinação no conteúdo de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes de diferentes sementes e grão.

Figura 1.**Figura 1.** Classificação esquemática de polifenóis. Fonte: Traduzida de Zhang & Tsao, 2016.**Tabela 1.** Grãos germinados e mudanças observadas no conteúdo de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes durante a germinação.

Grãos e sementes germinados	Determinações	Mudanças observadas (não germinadas para germinadas)	Referências
Oliva (<i>Olea europaea</i> L.) seeds	Conteúdo de fenólicos totais (TPC); DPPH; ABTS; FRAP	Fenólicos totais aumentaram 14 vezes em média na oliva germinada. Atividade antioxidante dos brotos (8 a 16 dias) foi 30 vezes maior que das sementes não germinadas.	(Falcinelli et al., 2018)
Cultivares de arroz	Conteúdo de fenólicos totais; flavonoides totais; taninos totais; ácido fítico; DPPH; FRAP; ensaio de atividade de eliminação de radicais hidroxila; poder redutor; tocoferol; ascorbato total.	Três, das dez variedades de arroz estudadas (IET-23466, IET-23463 e PR-123), apresentaram nível maior de compostos bioativos e atividade antioxidante após 48 horas de germinação.	(Kaur, Asthir, & Mahajan, 2017)

Grão de bico	Conteúdo de fenólicos totais; DPPH; ABTS (TEAC)	Germinação aumentou duas vezes o teor de compostos fenólicos totais; 4 vezes o valor de DPPH e 2 vezes o valor de TEAC.	(Hayta & İşçimen, 2017)
Milho roxo (<i>Zea mays</i> L.)	Compostos fenólicos totais; determinação quantitativa e qualitativa de compostos fenólicos totais por HPLC-DAD-ESI/MS; compostos não antocianinas; antocianinas; ORAC	Ácidos fenólicos livres diminuíram de 1679,72 mg GAE/100 g a 1042,82 mg GAE/100 g. Os valores de ORAC também diminuíram de 4837,061 mg TE/100 g a 2060,83 mg TE/100 g. Antocianinas foi a classe de compostos fenólicos de maior abundância nos brotos de milho roxo com 63 horas de germinação.	(Pauca Me-nacho et al., 2017)
Favas (<i>Vicia faba</i> L.) Tremoço (<i>Lupinus albus</i>) Grão de bico (<i>Cicer arietinum</i> L.) Lentilha (<i>Lens culinaris</i>) Feno-grego (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.) Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Conteúdo de fenólicos totais; flavonoides totais; DPPH	Fenólicos totais, flavonoides totais, e atividade antioxidante das leguminosas aumentaram proporcionalmente ao tempo de germinação (6 dias máximos)	(Saleh et al., 2017)
Arroz marrom	Conteúdo de fenólicos totais; ORAC	Germinação a 34°C por 96 horas aumentou em 3 vezes o conteúdo de compostos fenólicos totais e duas vezes a atividade antioxidante avaliada pelo método ORAC.	(Cáceres et al., 2017)
Arroz marrom (<i>Oryza sativa</i> L.)	DPPH; ABTS; FRAP	36 horas de germinação aumentou as proporções de compostos antioxidantes bioacessíveis.	(Xia et al., 2017)
Soja, grão de bico, feijão mungu, lentilhas vermelhas e feijão roxo	Compostos fenólicos totais (TPC); flavonoides totais. Quantificação de ácidos fenólicos por HPLC e DPPH	O conteúdo de polifenóis totais dos extratos variou de 0,45 a 1,62 g/kg para grãos não germinados e de 0,68 a 2,45 g/kg e 0,65–2,53 g/kg em germinação a 30 °C e 40 °C, respectivamente. Atividade antioxidante dos extratos aumentou proporcionalmente com o aumento de TPC. Ácido ferúlico foi o ácido fenólico mais predominante detectado nos grãos germinados.	(Mamilla & Mishra, 2017)
Feijão-arroz (<i>Vigna umbellata</i>)	Fenólicos totais; composição de flavonoides e ácidos fenólicos por HPLC-MS; DPPH e FRAP	Germinação por 24 horas aumentou o conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante aproximadamente 2 vezes. Sete compostos fenólicos (dois ácidos fenólicos e cinco flavonoides) foram encontrados nos brotos de feijão-arroz.	(Sritongtae et al., 2017)

Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i> L.)	Conteúdo de fenólicos totais (TPC); conteúdo de flavonoides; ORAC; análises atividade antioxidante celular (CAA).	Linhaça germinada por 10 dias aumentou 55 vezes o conteúdo de flavonoides e 6 vezes o conteúdo de TPC quando comparada com a não germinada. Os valores de ORAC aumentaram 7 vezes. CAA mostrou um aumento de aproximadamente 4 vezes.	(Wang et al., 2016)
--	---	---	---------------------

Fonte: Dos autores.

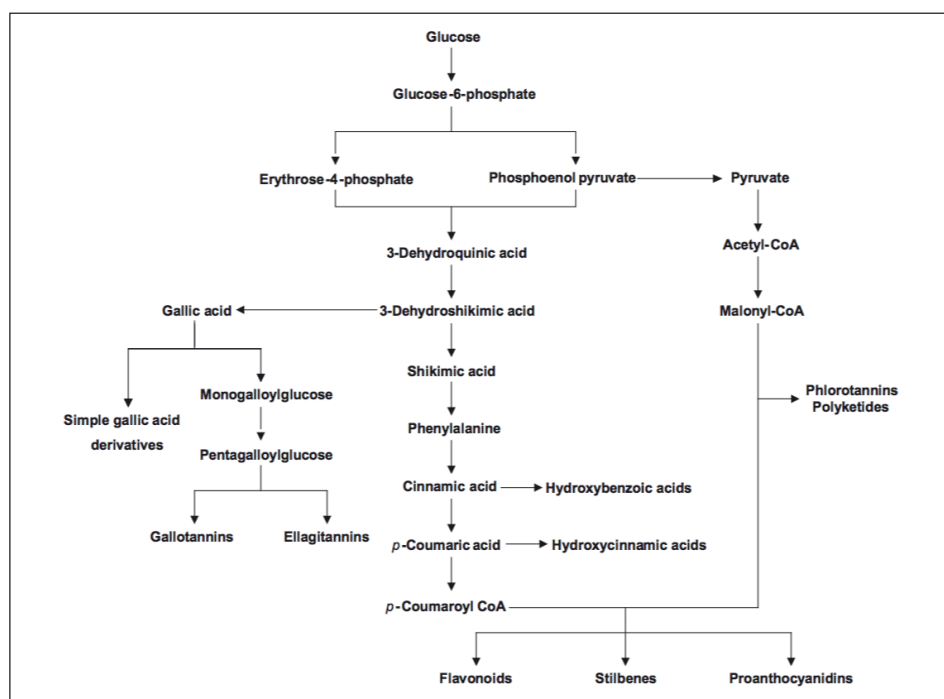
Transformação de compostos fenólicos durante a germinação

Os compostos fenólicos podem estar presentes nas células em suas formas livres e solúveis, esterificadas e insolúveis (Nayak et al., 2017) e, de maneira geral, a germinação resulta em mudanças no nível de fenólicos totais da semente germinada, atuando diferentemente em suas frações (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010). A maioria dos compostos fenólicos é sintetizada no espaço intracelular, especialmente no retículo endoplasmático e é armazenada no vacúolo celular como fração solúvel (Agati et al., 2012). Já os compostos insolúveis estão normalmente ligados nos componentes estruturais da parede celular como celulose, hemicelulose, lignina, proteínas estruturais e carboidratos por meio de ligações covalentes e, devido a funções potencialmente fisiológicas, esta fração

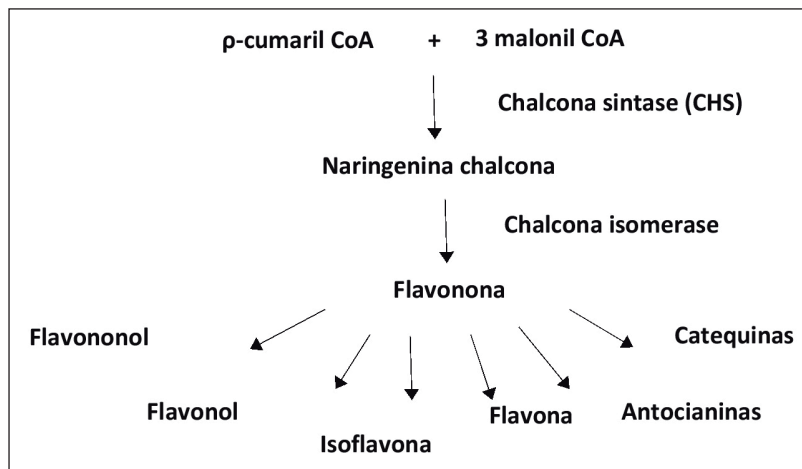
vem sendo explorada nos últimos anos (Chen et al., 2016).

Quando há aumento do conteúdo de fenólicos totais atribui-se isso às transformações que ocorrem durante o processo de germinação e a síntese de novo, que normalmente acontece como resposta de proteção contra mudanças ambientais e para formação estrutural (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010). A síntese de compostos fenólicos tem como precursor original a glicose, e, várias vias de sinalização molecular importantes, incluindo as vias das pentose fosfato, glicólise, via do acetato/malonato e via de taninos hidrolisáveis, estando estas envolvidas na síntese e transformação dos diferentes compostos fenólicos (Gan et al., 2017). Alguns exemplos de vias bioquímicas de síntese de compostos fenólicos estão exemplificados nos **esquemas 2, 3 e 4**.

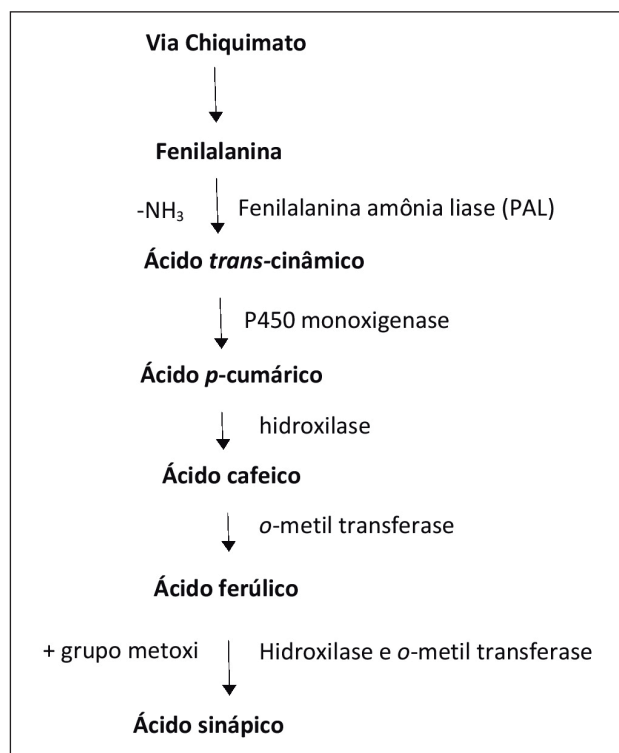
Esquema 2.



Esquema 2. Via proposta para síntese e transformação de compostos fenólicos. Fonte: Traduzida de Gan et al., (2017).

Esquema 3.

Esquema 3. Via proposta para síntese de flavonoides. A formação do composto Naringenina chalcona se dá pela junção de p-cumaril CoA com 3 moléculas de malonil CoA por meio da ação da enzima chalcona sintase. A naringenina chalcona é convertida a flavonona pela ação da chalcona isomerase. Flavonona é convertida às demais formas de flavonoides por diversas vias enzimáticas. Baseado em Shahidi & Yeo (2016).

Esquema 4.

Esquema 4. Via proposta de síntese de fenólicos totais. O aminoácido essencial fenilalanina, derivado da via bioquímica chamada de Chiquimato, por meio da ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma amônia e gera ácido trans-cinâmico. O mesmo, após ação da enzima P450 monoxigenase é convertido a ácido p-cumárico, que pela ação da hidroxilase, gera ácido cafeico. Esse último, pela ação da enzima o-metil transferase é convertido a ácido ferúlico que é convertido a ácido sinápico pela ação da hidroxilase ou o-metil transferase. Baseado em Shahidi & Yeo (2016).

Além disso, nos períodos iniciais de germinação, os carboidratos, proteínas e lipídios são degradados e acompanhados consequentemente de um aumento de açúcares simples e aminoácidos livres (Nelson et al., 2013) e as frações de fenólicos insolúveis ligadas à parede celular também são liberadas. Por outro lado, com a formação de novas estruturas devido ao crescimento da planta durante a germinação, os compostos fenólicos solúveis podem se ligar à carboidratos e proteínas para a formação de novas paredes celulares, diminuindo sua quantidade na fração solúvel (Gan et al., 2017). Assim, a síntese e transporte de fenólicos para uso na parede celular ocorrem ao mesmo tempo (Yeo & Shahidi, 2015) o que faz com que a taxa de liberação e conjugação varie de acordo com a semente que está germinando (Gan et al., 2017). Trata-se, portanto, de um processo complexo, contínuo e peculiar de cada semente, e, com grande potencial de estudo. De fato, a literatura mostra diferentes pesquisas com o objetivo de entender e explicar as transformações de compostos fenólicos que ocorrem durante a germinação para a semente estudada.

Chen et al., (2017) observaram que diferentes variedades de trigo apresentaram mudanças diferenciadas na composição fenólica durante a germinação. A taxa de compostos fenólicos insolúveis e solúveis mudou positivamente de acordo com o tempo de germinação e variedade. Consequentemente, com maior teor de compostos fenólicos, a atividade antioxidante (medida pelos métodos ABTS e DPPH) também apresentou mudança positiva. Ácido ferúlico, *p*-cumárico e sinápico foram os principais ácidos fenólicos encontrados em grãos de trigo germinados. Ácido sinápico livre esteve presente em todas as variedades germinadas (4 dias) e para a fração insolúvel, um aumento de 60,4% foi detectado na variedade Jimai22 enquanto reduções de 29,9% e 13,5% foram reportadas para as variedades Sumai188 e Luyuan502, respectivamente.

O arroz marrom nativo (BR) foi germinado por 4 dias a 30°C. Os autores descreveram mudanças na composição fenólica e na atividade antioxidante no endosperma e no embrião. Os ácidos ferúlico, *p*-cumárico e sinápico foram os compostos mais encontrados, com uma variação interessante dos valores em cada parte do grão quando germinado. Existem muito mais ácidos fenólicos no embrião (especialmente ácido ferúlico e *p*-cumárico, que aumentaram 27 e 14 vezes, respectivamente, em relação ao grão não germinado e depois diminuíram) do que no endos-

perma. Além disso, a maior parte do ácido ferúlico presente no grão é na forma insolúvel. A germinação pode alterar essa composição por meio da ação enzimática, causando mudanças na bioatividade (Cho & Lim, 2018).

Diferenças quantitativas e qualitativas notáveis foram identificadas em compostos fenólicos em comparação feita entre grãos de amaranto germinados e crus. Compostos não-flavonoides (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos) foram os mais encontrados no grão e no broto de amaranto. A germinação otimizada (26 °C por 63 h) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de compostos hidroxinâmicos, representando 97% do conteúdo total de fenólicos, sendo os ácidos 4-*o*-cafeiolquínico e o 4-*o*-feruloilquínico os principais compostos desse grupo nos brotos, e que não foram encontrados nos grãos sem germinação. Ainda, este processo causou aumento de 50% no conteúdo total de compostos hidroxibenzoicos, sendo o ácido vanílico o único detectado no brotos de amaranto (Paucar-Menacho et al., 2017).

Apesar das mudanças de diferentes formas de isoflavonas serem complexas durante a germinação, esse processo pode aumentar o conteúdo total de agliconas na soja (Huang, Cai, & Xu, 2014). Em análise realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência relatou-se que o conteúdo total de agliconas, incluindo daidzeína, genisteína e gliciteína de grãos de soja foi significativamente maior ($p < 0,05$) em grãos germinados do que não germinados, o que significa que a germinação aumentou isoflavona na sua forma livre (Huang, Cai, & Xu, 2017). Outras pesquisas com resultados similares explicaram que isso pode ser atribuído às glicosidases ativadas e associadas à conversão de monômeros de isoflavona através das vias de malonato e fenilpropanoide (Wang et al., 2015).

Resultados mais específicos foram observados por Chen et al., (2016) que mostraram as mudanças causadas pela germinação em alpiste (na temperatura de 20°C variando tempo de germinação de 24 a 120 horas), onde o conteúdo de ácido gálico foi encontrado apenas em sua forma livre e aumentou gradualmente com o tempo de germinação. O ácido fotocatecuico foi encontrado apenas em sua forma insolúvel que foi mantida em conteúdo durante a germinação. O ácido hidroxibenzoico foi detectado na forma livre e insolúvel e ambas as formas foram modificadas durante o processo. O ácido vanílico foi encontrado apenas na

forma insolúvel e a forma livre somente foi detectada em sementes não germinadas. Isso pode ser explicado pelo uso da fração solúvel durante a germinação para a formação da parede celular. O ácido cafeico foi detectado em alpiste apenas na forma insolúvel e foi mantido sem alterações durante a germinação. O ácido siríngico, por sua vez, foi detectado apenas em sementes não germinadas na forma livre. Já o ácido *p*-cumárico estava presente principalmente na forma insolúvel e apresentou aumento durante a germinação. O ácido ferúlico foi observado nas frações livres e insolúvel com aumento em ambas durante a germinação. Apesar do conhecimento dos mecanismos de síntese e regulação serem limitados durante a germinação, esse artigo mostra resultados consistentes do que acontece com cada composto durante a germinação de alpiste.

Ti et al. (2014) também elucidaram as diferentes mudanças durante a germinação de arroz marrom (a 20°C, no escuro por 17, 24, 30, 35 e 48 horas). Os autores observaram que o ácido fotocatecuico foi encontrado apenas em sua forma livre nos grãos germinados e cru, apresentando aumento após 48 horas de germinação. Os ácidos clorogênico e cafeico foram detectados na forma livre com o primeiro mantendo-se estável durante o processo e o segundo apresentando aumento durante as 48 horas de germinação. O ácido siríngico, presente nas frações livre e insolúvel aumentou durante as 48 horas de germinação. Já o ácido cumárico, apenas detectado na forma insolúvel também aumentou durante todo o tempo de germinação. Por último, o ácido ferúlico foi observado principalmente na forma insolúvel e aumentou durante todo o tempo de processo.

Em termos de classes de fenólicos totais, outro estudo observou o comportamento do composto tocoferol durante a germinação. Sementes de *Chamaerops humilis* var. *humilis* mostraram altos níveis de tocoferol, incluindo α -tocotrienol quando em dormência. Durante a germinação, os autores observaram a síntese de α -tocotrienol no embrião, que foi associada à proteção de lipídeos contra peroxidação lipídica durante a germinação. Os brotos apresentaram, portanto, conteúdos de α -tocotrienol (principalmente devido à presença no embrião e endosperma) e α -tocotrienol com efeitos antioxidantes (Siles et al., 2015).

Claramente, cada grão, com condições específicas de germinação, tem mudanças peculiares de transfor-

mação, demonstrando que é impossível generalizar as transformações fenólicas que ocorrem durante a germinação e a necessidade da realização de estudos específicos para cada semente e grão.

Tendências futuras de pesquisa

Já é de conhecimento da literatura que a germinação causa mudanças estruturais nos compostos fenólicos das sementes e grãos, e isso pode mudar as propriedades biológicas e de bioacessibilidade dos compostos bioativos. Assim sendo, utilizar testes biológicos *in vitro* (com linhagens celulares ou digestão simulada, por exemplo) ou mesmo testes *in vivo* são propostas de continuação dos estudos, visto que avaliam uma perspectiva biológica dos ensaios mais próxima de situações reais.

Wang et al. (2016) por exemplo, realizaram o primeiro estudo focado na cinética da atividade antioxidante de linhaça e brotos durante a germinação (8 a 10 dias) por atividade antioxidante celular (CAA). Para tal, utilizaram células humanas de câncer de fígado (HepG2). Os resultados obtidos sugeriram que a linhaça e seus brotos são uma fonte alternativa de antioxidantes celulares para aplicações futuras. Essa metodologia é útil para examinar a biodisponibilidade de antioxidantes alimentares, porque leva em consideração diversos fatores como absorção celular e metabolismo, possibilitando a obtenção de uma perspectiva biológica mais realista (Kellett, Greenspan, & Pegg, 2018).

Ainda, por meio da indução de estresse oxidativo em culturas celulares, Wang et al. (2015) observaram que o extrato de soja chinesa germinada foi capaz de proteger as células contra estresse oxidativo sem morte celular, mostrando outro exemplo de estudo *in vitro* com culturas celulares.

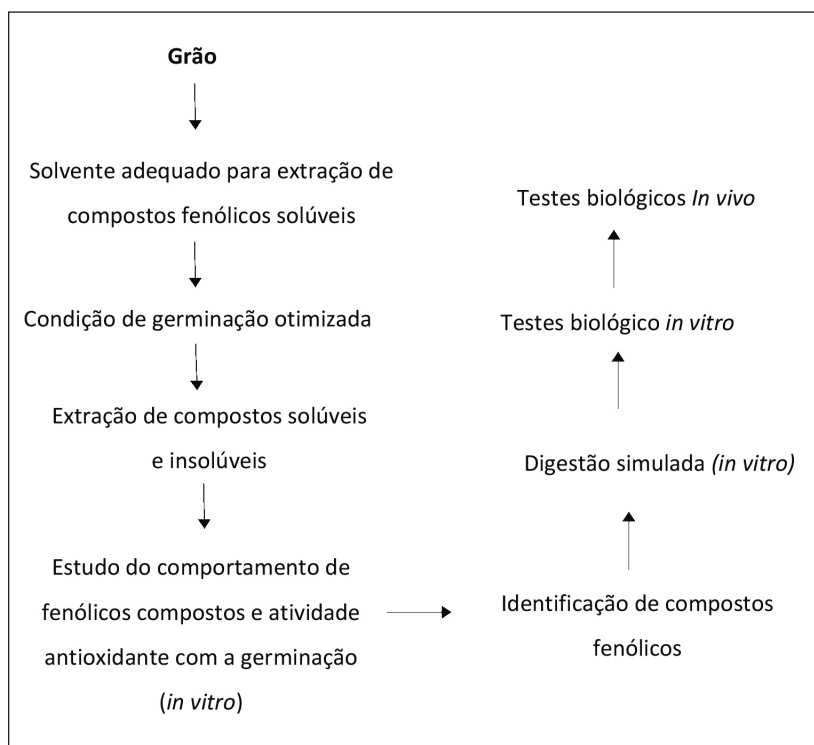
Além disso, a digestão *in vitro* é outra tendência para estudos em grãos germinados devido à sua abordagem fisiológica. Apesar de ser comum, poucos estudos utilizaram dessa técnica para analisar grãos germinados e os produtos derivados destes, como extratos. Trata-se de um teste biológico *in vitro* que pode mostrar a bioacessibilidade de compostos fenólicos e eficiência antioxidante dos brotos (Pérez-Burillo; Rufián-Henares & Pastoriza, 2018). Świeca, Sęczyk, & Gawlik-Dziki, (2014) simularam o processo de digestão *in vitro* e observaram a liberação dos compostos fenólicos presentes no broto de lentilha

apesar dos flavonoides estarem pouco bioacessíveis. A complexidade da digestão e a interação com outros compostos também foi discutida.

A falta de pesquisas com esse foco para produtos germinados mostra o alto potencial de estudo nessa

área. O **Esquema 5** ilustra o caminho proposto para obtenção de resultados seguros e consolidados, onde a combinação e sequência adequada de métodos é crucial.

Esquema 5.



Esquema 5. Caminho proposto para a pesquisa com grãos germinados. **Fonte:** dos autores.

Conclusão

O processo de germinação mostra-se como uma excelente alternativa para melhorar a capacidade antioxidante de sementes e grãos, como discutido nessa contribuição. Os compostos fenólicos nas duas frações, livre e insolúvel, são transformados positivamente durante o processo de germinação melhorando a composição fitoquímica das sementes e consequentemente suas propriedades antioxidantes. Apesar de algumas mudanças serem similares durante a germinação, cada grão deve ser estudado de forma específica para definição dos tratamentos mais adequados. A revisão de literatura aqui apresentada mostrou claramente a necessidade de identificação e caracterização de compostos fenólicos, além da realização de ensaios que simulem de forma mais próxima dos eventos reais no organismo, como o processo de digestão e/ou testes *in vivo*, no sentido de dar a dimensão factual da atuação destes compostos em sistemas complexos.

Referências

- AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67–76, 2012.
- ARUNA, G.; BASKARAN, V. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β -carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance. **Food Chemistry**, v. 123, n. 2, p. 404–409, 2010.
- BARBOSA, L. et al. As tendências da Alimentação. **BrasilFoodTrends** 2020. p.39-47. 2010. Disponível em: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/>. Acesso em 3 de dezembro de 2017.
- BARRERO, J. M. et al. A Role for Barley CRYPTOCHROME1 in Light Regulation of Grain Dormancy and Germination. **The Plant Cell**, v. 26, n. 3, p. 1094–1104, 2014.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The plant cell online**, v. 9, n. 7, p. 1055–1066, 1997.

- CÁCERES, P. J. et al. Enhancement of biologically active compounds in germinated brown rice and the effect of sun-drying. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 1–9, 2017.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107–120, 2018.
- CEVALLOS-CASALS, B. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, v. 119, n. 4, p. 1485–1490, 2010.
- CHEN, Z. et al. Changes of phenolic profiles and antioxidant activity in canaryseed (*Phalaris canariensis* L.) during germination. **Food Chemistry**, v. 194, p. 608–618, 2016.
- CHEN, Z. et al. Comparison of phenolic profiles, antioxidant capacity and relevant enzyme activity of different Chinese wheat varieties during germination. **Food Bioscience**, v. 20, p. 159–167, 2017.
- CHO, D.-H.; LIM, S.-T. Changes in phenolic acid composition and associated enzyme activity in shoot and kernel fractions of brown rice during germination. **Food Chemistry**, v. 256, p. 163–170, 2018.
- CHUNGCHAROEN, T. et al. Effects of germination time and drying temperature on drying characteristics and quality of germinated paddy. **Food and Bioprocess Technology**, v. 94, p. 707–716, 2015.
- Cover Crops | USDA PLANTS. Disponível em: <<https://plants.usda.gov/java/coverCrops>>. Acesso em: 8 ago. 2017
- DIVAKARAN, M.; BABU, K. N. Mustard. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 9–19, 2016.
- FAHEY, J. W. Brassica: Characteristics and Properties. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 469–477, 2016.
- FALCINELLI, B. et al. Sprouting olive (*Olea europaea* L.) seeds as a source of antioxidants from residual whole stones. **Scientia Horticulturae**, v. 240, p. 558–560, 2018.
- FARZANEH, V. et al. The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 663–668, 2017.
- GALVAO, R. M., et al. Photoactivated phytochromes interact with HEMERA and promote its accumulation to establish photomorphogenesis in Arabidopsis. **Genes & Development**, 26(16), 1851–1863, 2012.
- GAN, R.-Y. et al. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 1–14, 2017.
- GIBNEY, M. J. (ED.). **Introduction to human nutrition**. 2nd ed. Chichester, West Sussex, U.K. ; Ames, Iowa : [London]: Wiley-Blackwell ; Nutrition Society, 2009.
- GROVER, J. K., YADAV, S., VATS, V. Effect of feeding *Murraya koenigii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 85, p. 1-5, 2003.
- GROVER, J. K., YADAV, S., VATS, V. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Brassica juncea* diet and their effect on hepatic glycogen content and the key enzymes of carbohydrate metabolism. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 241, p. 95-101, 2002.
- HALLIWELL, B. How to Characterize a Biological Antioxidant. **Free Radical Research Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–32, 1990.
- HAYTA, M.; İŞÇİMEN, E. M. Optimization of ultrasound-assisted antioxidant compounds extraction from germinated chickpea using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 208–216, 2017.
- HUANG, G., CAI, W., & XU, B. Improvement in beta-carotene, vitamin B2, GABA, free amino acids and isoflavones in yellow and black soybeans upon germination. **LWT - Food Science and Technology**, 75, 488–496, 2017.
- HUANG, X., CAI, W., & XU, B. Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.) with germination time. **Food Chemistry**, 143, 268–276, 2014.
- KAUR, M.; ASTHIR, B.; MAHAJAN, G. Variation in Antioxidants, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity in Germinated and Ungerminated Grains of Ten Rice Cultivars. **Rice Science**, v. 24, n. 6, p. 349–359, 2017.
- KELLETT, M. E.; GREENSPAN, P.; PEGG, R. B. Modification of the cellular antioxidant activity (CAA) assay to study phenolic antioxidants in a Caco-2 cell line. **Food Chemistry**, v. 244, p. 359–363, 2018.
- MAMILLA, R. K.; MISHRA, V. K. Effect of germination on the antioxidant activity of rice (*Oryza sativa* L.) and mung bean (*Vigna radiata* L.). **Food Chemistry**, 143, 100–106, 2014.

nation on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 51–58, 2017.

MORLEY, W. G. Mayonnaise. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, p. 669–676. 2016.

NAYAK, B.; LIU, R. H.; TANG, J. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 887–918, 2015.

NELSON, K. et al. Germinated grains: a superior whole grain functional food? **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 91, n. 6, p. 429–441, 2013.

NONOGAKI, M.; NONOGAKI, H. Germination. In: **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**. [s.l.] Elsevier, 509–512, 2017.

PAUCAR-MENACHO, L. M. et al. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1856–1865, 2010.

PAUCAR-MENACHO, L. M. et al. Optimizing germination conditions to enhance the accumulation of bioactive compounds and the antioxidant activity of kiwicha (*Amaranthus caudatus*) using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 245–252, 2017.

PÉREZ-BURILLO, S.; RUFIÁN-HENARES, J. A.; PASTORIZA, S. Towards an improved global antioxidant response method (GAR+): Physiological-resembling in vitro digestion-fermentation method. **Food Chemistry**, v. 239, p. 1253–1262, 2018.

RANA, M. K. Salad Crops: Leaf-Type Crops. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, p. 673–678. 2016.

SALEH, H. M. et al. Melatonin, phenolics content and antioxidant activity of germinated selected legumes and their fractions. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2017.

SFORZA, S.; PRANDI, B. Food Allergies: Occurrence and Analysis. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 743–748. 2016.

SHAHIDI, F.; YEO, J. Insoluble-Bound Phenolics in Food. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1216, 2016.

SILES, L. et al. Enhanced tocopherol levels during early germination events in *Chamaerops humilis* var. *humilis* seeds. **Phytochemistry**, v. 118, p. 1–8, 2015.

SIMLAT, M. et al. The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertonii. **Scientia**

Horticulturae, v. 211, p. 295–304, 2016.

SRITONGTAE, B. et al. Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (*Vigna umbellata*). **Food Chemistry**, v. 227, p. 280–288, 2017.

ŚWIECA, M.; SĘCZYK, Ł.; GAWLIK-DZIKI, U. Elicitation and precursor feeding as tools for the improvement of the phenolic content and antioxidant activity of lentil sprouts. **Food Chemistry**, v. 161, p. 288–295, 2014.

THIRUMALAI, T., et al. Hypoglycemic effect of *Brassica juncea* (seeds) on streptozotocin induced diabetic male albino rat. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, p. 323–325, 2011.

TI, H. et al. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. **Food Chemistry**, v. 161, p. 337–344, 2014.

VIEIRA, B. C.; RODRIGUES, B. M. A.; GARCIA, Q. S. Light exposure time and light quality on seed germination of *Vellozia* species (*Velloziaceae*) from Brazilian campo rupestre. **Flora**, v. 238, p. 94–101, 2018.

WANG, F. et al. Isoflavone, γ -aminobutyric acid contents and antioxidant activities are significantly increased during germination of three Chinese soybean cultivars. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 596–604, 2015.

WANG, H. et al. Effect of germination on lignan biosynthesis, and antioxidant and antiproliferative activities in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Chemistry**, v. 205, p. 170–177, 2016.

XIA, Q. et al. Effects of germination and high hydrostatic pressure processing on mineral elements, amino acids and antioxidants in vitro bioaccessibility, as well as starch digestibility in brown rice (*Oryza sativa* L.). **Food Chemistry**, v. 214, p. 533–542, 2017.

XU, M. et al. Pulse seed germination improves antioxidative activity of phenolic compounds in stripped soybean oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, v. 250, p. 140–147, 2018.

YAN, N. et al. Interactive effects of temperature and light intensity on photosynthesis and antioxidant enzyme activity in *Zizania latifolia* Turcz. plants. **Photosynthetica**, v. 51, n. 1, p. 127–138, 2013.

YANG, H. et al. Germination-Assisted Enzymatic Hydrolysis Can Improve the Quality of Soybean Protein: Germination-assisted hydrolysis. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 8, p. 1814–1819, 2017.

YEO, J.; SHAHIDI, F. Critical Evaluation of Changes in the Ratio of Insoluble Bound to Soluble Phenolics on Antioxidant Activity of Lentils during Germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 379–381, 2015.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33–42, 2016.