

Teorias e Métodos da **BIOFÍSICA**

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2019

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

Teorias e Métodos da Biofísica

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T314 Teorias e métodos da biofísica [recurso eletrônico] / Organizadora
Sabrina Passoni Maravieski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora,
2019.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-189-3

DOI 10.22533/at.ed.893191403

1. Biofísica. I. Maravieski, Sabrina Passoni.

CDD 571.4

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Teorias e Métodos da Biofísica” faz parte de uma série de livros publicados pela Atena Editora, e neste volume único, em seus 12 capítulos, apresenta uma diversidade de estudos realizados nas diversas áreas da biofísica, bem como relação com outras áreas que esta exige nos dias atuais.

A biofísica é uma ciência interdisciplinar na qual se emprega as teorias, os métodos ou técnicas específicas da física para resolver questões biológicas. Atualmente, com o avanço tecnológico a biofísica está presente na maioria das ciências da saúde, tais como: Medicina, Fonoaudiologia, Odontologia, Enfermagem, Terapia Ocupacional, Fisioterapia, Bioengenharia e Biomedicina. Na área de Ecologia, temos também a biofísica Ambiental. Algumas especializações em biofísica podem ser ainda multidisciplinares, como por exemplo: a Bioinformática, a Biologia Estrutural, Toxicologia Ambiental e Biologia de Sistemas.

Dessa forma, o leitor poderá encontrar nesta obra, uma variedade pesquisas cujas áreas que envolvem a biofísica estão interligadas nas quais muitos pesquisadores buscam por soluções emergentes. A interdisciplinaridade entre estas diversas áreas aqui citadas é um processo natural e inevitável, pois a formação dos profissionais das ciências da saúde ou biológicas, seja qual for a sua formação, necessita da relação entre diversas áreas do conhecimento.

Hoje o profissional se destaca pela capacidade de saber inovar e alcançar resultados positivos em suas pesquisas com base nas diversas ciências, utilizando uma ou mais tecnologias. Isso se faz possível se este profissional tiver conhecimento das demais áreas, pois não basta ser bom em uma única ciência, é preciso ser multi-intelectual.

Nesta obra, portanto, o leitor poderá encontrar parcerias estabelecidas entre diversas áreas do conhecimento de diversos departamentos de pesquisa: Engenharia Elétrica e de Computação, Semicondutores, Biocalorimetria, Bioquímica Médica, Nanotecnologia e Nanomedicina, Bioquímica e Biofísica, Farmácia, Química do Estado Sólido, Ciências Médica, Clínica Médica (Nefrologia), Radioterapia, Histologia e Embriologia, Biofísica e Radiobiologia, Morfologia e Fisiologia Animal, Nanociências e Materiais Avançados.

Logo, este volume é dedicado à interdisciplinaridade nas diversas áreas das Ciências da Saúde e Biológica, pois o mercado atual exige uma revolução tecnológica e cabe a aos pesquisadores, dessas diversas áreas, buscar conhecer as demandas atuais para promover essas inovações de forma interdisciplinar, e não isoladamente. Neste sentido, esta obra foi dividida em 6 áreas temáticas da Biofísica: Bioeletricidade, Bioestatística, Biomecânica, Biofísica Ambiental, Biomedicina, e Radiobiologia.

Na área de Bioeletricidade, composta apenas de um capítulo (capítulo1), apresentamos uma pesquisa realizada entre os cursos de Engenharias de Computação e Elétrica e o curso de Ciências Médicas, em que envolve os Departamentos de Química de Estado Sólido, Semicondutores, Instrumentos e Fotônica e o de Clínica Médica

(Nefrologia). Trata-se da investigação do nível de fósforo no sangue, em que, quando este apresenta-se acima do normal está associado a casos de óbitos de pacientes renais crônicos. Para isto os autores propõem o desenvolvimento de um transistor de efeito de campo sensível a íons (ISFET) que possa ser utilizado para quantificar a massa de fósforo no dialisato total final extraída durante o processo de hemodiálise.

Na área de Bioestatística, apresentamos dois capítulos. No capítulo 2, a pesquisa foi desenvolvida pelos Departamentos de Morfologia e Fisiologia em conjunto com o Departamento de Biofísica e Radiobiologia de uma Faculdade Rural. Na pesquisa foi utilizando o método da complexidade de Lempel-Ziv (CLZ), o qual permite calcular a complexidade de uma série temporal sem a necessidade de longos segmentos de dados. Este método, estatístico é baseado em dinâmica não linear e costumam ser são amplamente empregado na análise e descrição adequada de processos nas áreas de química, física e biologia. Neste, o método foi desenvolvido com o objetivo de determinar a complexidade de sequências finitas na análise do particionamento do polietilenoglicol no nanoporo unitário de alfa-hemolisina inserido em uma bicamada lipídica plana. O objetivo foi investigar o processo de chegada e permanência da molécula polimérica (analito) no nanoporo (biossensor). No capítulo 3, os pesquisadores avaliaram diferentes espectrômetros utilizados em análises clínicas e laboratórios de pesquisa os quais permitem determinar as concentrações de espécimes químicas diversas. Por considerarem a aplicabilidade destes dispositivos importante no quesito qualidade dos resultados fornecidos, os autores apresentam técnicas de estatística e os métodos de obtenção de indicadores de qualidade, por meio da realização de experimentos laboratoriais utilizando espectrofotômetros.

O capítulo 4, inserido na área temática de Biomecânica, trata-se de uma pesquisa onde a Oftalmologia e a Estética Funcional, estão intimamente ligadas aos fenômenos de transferência de massa estudados na Física. Neste, os autores mostraram como a falha da transferência de massa intraocular, por convecção forçada, pode afeta o movimento oculomotor e provoca diversas enfermidades, tais como: erro de refração, ceratocone, glaucoma de ângulo aberto ou fechado. Sugerindo por fim, a necessidade do SUS incluir, em seus procedimentos, a cirurgia corretiva de elevação de sobrancelhas, assim como a ANS regulamentar esta cirurgia em todos os planos de saúde.

Na área temática de Biofísica Ambiental, pesquisadores do Laboratório de Nanociências e Materiais Avançados realizaram estudos por meio da técnica de espectroscopia UV-visível com o intuito de promover uma formação interdisciplinar entre alunos de Pós-Graduação. Nesse sentido, os autores desenvolveram estratégias experimentais que permitem aos estudantes dominarem o uso da técnica de espectroscopia UV-visível para análises qualitativas e quantitativas com uso de um corante altamente conhecido e de larga aplicação como é o azul de metileno (capítulo 5). No capítulo 6, pesquisadores realizaram um levantamento do número de veículos na cidade de Recife para verificação da poluição atmosférica. Para eles, a poluição

atmosférica é comprovadamente um agente causador e de piora do quadro de diversas doenças, entre elas doenças respiratórias, câncer de pulmão, acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio. No capítulo 7, pesquisadores do Departamento de Biofísica e Radiobiologia utilizaram o ensaio cometa em hemócitos do moluscos de água doce *Biomphalaria glabrata*, é um biodicador natural utilizados para a detecção de possíveis danos no DNA após a exposição ao MMS e para avaliar a potencial aplicação para monitoramento da genotoxicidade do ambiente de água doce.

Na área temática de Biomedicina, o leitor poderá aprofundar seus estudos em três capítulos. No capítulo 8, os autores do Departamento de Histologia e Embriologia, analisaram e avaliaram a atividade leishmanicida *in vitro* do extrato etanólico do *Allium sativum* L. frente às formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Na área de Bioquímica Médica no Laboratório de Biocalorimetria (capítulo 9), pesquisadores realizaram estudos de uma importante enzima a L-asparaginase, a qual é amplamente utilizada no tratamento da leucemia. Tendo em vista a importância de seu uso, surgiu a necessidade de buscar alternativas para reduzir seus efeitos adversos e aumentar sua estabilidade. Assim a pesquisa resultou na obtenção de nanopartículas de quitosana de alto peso molecular sem e com ZnCl₂. A alta concentração de quitosana, segundo os autores, permite maior incorporação de fármaco, mas aumenta o tamanho da partícula, o que não é interessante para a liberação intravenosa de fármaco. Já no capítulo 10, os autores analisaram e caracterizaram nanopartículas de quitosana-tripolifosfato (QT-TPP) associadas ao fármaco sumatriptano (SMT) como uma alternativa na terapia de enxaqueca via uso tópico.

A última área temática é a Radiobiologia, composta de dois capítulos promissores para as pesquisas atuais. Essa área vem crescendo em interdisciplinaridade, principalmente devido o crescimento das pesquisas em Medicina Nuclear, em Engenharia Biomédica e das técnicas de obtenção de imagem, as quais sofrem constantes avanços tecnológicos. Com isso, no capítulo 11, os autores investigaram a ação radioprotetora do extrato bruto da casca de *Anadenanthera colubrina* sobre os embriões de *Biomphalaria glabrata* e os resultados obtidos mostraram que o extrato da casca de A. colubrina apresentou uma discreta atividade radioprotetora. E por fim, no capítulo 12, com o intuito de fornecer mais dados sobre os efeitos da radiação ionizante no sistema nervoso central, os pesquisadores avaliaram a atividade elétrica cerebral de ratos expostos à radiação ionizante através do exame de eletrocorticograma (ECoG) e pode-se observar alterações nas ondas cerebrais através do uso de dois métodos matemáticos: a Transformada de Fourier (TF) Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) concluindo que a exposição a essa radiação causa alterações eletrofisiológicas, que incluem diminuição da complexidade e modificações nas ondas cerebrais.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas Ciências da Saúde e Biofísica, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes, professores e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias promovendo a interdisciplinaridade nas diferentes áreas das Ciências da Saúde e Biofísica.

Sabrina Passoni Maravieski

SUMÁRIO

ÁREA TEMÁTICA BIOELETRICIDADE

CAPÍTULO 1 1

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO SENSÍVEL A ÍONS (ISFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDO DE PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Sergio Henrique Fernandes

Leandro Tiago Manera

Helder José Ceragioli

Rodrigo Bueno de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914031

ÁREA TEMÁTICA BIOESTATÍSTICA

CAPÍTULO 2 17

COMPLEXIDADE DE LEMPEL-ZIV NA ANÁLISE DO TRANSPORTE DO POLIETILENOGLICOL ATRAVÉS DO NANOPORO DE ALFA-HEMOLISINA

Gesilda Florenço das Neves

Dijanah Cota Machado

Carlos Manuel Machado Carneiro

Luiz Hamiel Almeida Consoni

Cláudio Gabriel Rodrigues

Romildo Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.8931914032

CAPÍTULO 3 25

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ESPECTROFOTÔMETROS:ANÁLISE DA DISPERSÃO DAS MEDIDAS

Cleonilde Maria do Nascimento

Carla Luiza Barros Bernardes Borja

Bruno Edberg Alves de Lira

Jabson Herber Profiro de Oliveira

Dijanah Cota Machado

Milton Marcelino Filho

DOI 10.22533/at.ed.8931914033

ÁREA TEMÁTICA BIOMECÂNICA

CAPÍTULO 4 36

MOVIMENTO OCULOMOTOR E ALGUMAS PATOLOGIAS

Humberto Dória Silva

Eduardo Dória Silva

Maria Tamires Dória Silva

Cristiana Pereira Dória

Cristiane Pereira Dória

DOI 10.22533/at.ed.8931914034

CAPÍTULO 5 43

ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL PARA ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DE ESTADOS AGREGADOS DE CORANTES

Adrienne Marlise Mendes Brito

Hebert Freitas dos Santos

Iseli Lourenço Nantes-Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.8931914035

CAPÍTULO 6 60

POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA E POSSÍVEIS EFEITOS À POPULAÇÃO DE RECIFE

Cleonilde Maria do Nascimento

Nicolas Nunes Ferreira

Helotônio Carvalho

Sheilla Andrade de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914036

CAPÍTULO 7 66

UTILIZAÇÃO DO ENSAIO COMETA PARA DETECTAR EFEITO GENOTÓXICO DO METANOSULFONATO DE METILA EM CÉLULAS DE *Biomphalaria glabrata*

Dewson Rocha Pereira

Maíra de Vasconcelos Lima

Willams Nascimento de Siqueira

Gabrielly Christynne Nascimento Sales

Hianna Arely Milca Fagundes Silva

José Luiz Ferreira Sá

Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.8931914037

ÁREA TEMÁTICA BIOMEDICINA

CAPÍTULO 8 73

AValiação DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DO *Allium sativum* L

Gleyka Daisa de Melo Santos

Erwelly Barros de Oliveira

Paloma Lys de Medeiros

Eliete Cavalcanti da Silva

João Soares Brito da Luz

DOI 10.22533/at.ed.8931914038

CAPÍTULO 9 82

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA DE ALTO PESO MOLECULAR - TRIPOLIFOSFATO PARA CARREAMENTO DE PROTEÍNA

Caroline Dutra Lacerda

Patrícia Severino

Maria Lucia Bianconi

DOI 10.22533/at.ed.8931914039

CAPÍTULO 10 94

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TRIPOLIFOSFATO PARA APLICAÇÃO TÓPICA DE FÁRMACOS

Aryane Alves Vigato

Renato Grillo

Leonardo Fernandes Fraceto

Daniele Ribeiro de Araújo

DOI 10.22533/at.ed.89319140310

ÁREA TEMÁTICA RADIOBIOLOGIA

CAPÍTULO 11 109

AÇÃO RADIOPROTETORA DO EXTRATO BRUTO DA CASCA DE *Anadenanthera colubrina* SOBRE OS EMBRIÕES DE *Biomphalaria glabrata*

José Luís Ferreira Sá

Williams Nascimento Siqueira

Hianna Arely Milca Fagundes Silva.

Isabelle Cristinne Ferraz Bezerra

Dewson Rocha Pereira

Larissa Silva de Azevedo Melo

Maíra de Vasconcelos Lima

Luiz Alberto Lira Soares

Márcia Vanusa Silva

Maria Tereza Santos Correia

Ana Maria Mendonça Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.89319140311

CAPÍTULO 12 117

MÉTODOS MATEMÁTICOS DE ANÁLISE DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DE RATOS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE

Camilla de Andrade Tenorio Cavalcanti

Isvânia Maria Serafim da Silva Lopes

Leandro Álvaro de Alcântara Aguiar

Alexandre Parisio Barbosa de Oliveira

Jonas Sérgio de Oliveira Filho

Romildo de Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.89319140312

SOBRE A ORGANIZADORA..... 126

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DO *Allium sativum* L

Gleyka Daisa de Melo Santos

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e Embriologia
Recife – Pernambuco

Erwelly Barros de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e Embriologia
Recife – Pernambuco

Paloma Lys de Medeiros

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e Embriologia
Recife – Pernambuco

Eliete Cavalcanti da Silva

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e Embriologia
Recife – Pernambuco

João Soares Brito da Luz

Universidade Federal de Pernambuco,
Departamento de Histologia e Embriologia
Recife – Pernambuco

RESUMO: Leishmanioses estão entre as doenças infecciosas parasitárias de maior incidência no mundo, refletindo um grave problema de saúde pública. Considerando as dificuldades com relação à terapêutica e a ausência de vacinas, há urgência pela busca de novas drogas, dentre as quais se incluem os fitoterápicos. O alho (*Allium sativum* L.) apresenta vários compostos químicos que

potencializam as suas diversas atividades biológicas. O principal objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade leishmanicida *in vitro* do extrato etanólico do *Allium sativum* L. frente às formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* (2×10^6 parasitas/mL) foram testadas nas concentrações de 0,6 a 6 mg/mL para a obtenção da IC_{50} pelo método colorimétrico do MTT. Anfotericina B representou o controle positivo e como controle negativo, o meio de cultura. Foram, também, realizados testes para determinação de metabólitos secundários (alcalóides e taninos) presentes no extrato etanólico de *Allium sativum* L. (EEAsL). Com 72 h de incubação, observou-se que o EEAsL não apresentou atividade leishmanicida *in vitro* para as formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis*. O EEAsL apresentou pequena quantidade de alcalóides e considerável quantidade de taninos. Neste contexto, faz-se necessário ampliarmos a investigação da atividade *in vitro* do EEAsL frente as formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*, em função de serem realizadas modificações no processo de extração do mesmo; visto que, conforme alguns achados da literatura, tem-se referido que o extrato de alho obtido por diferentes metodologias foi capaz de apresentar atividade contra outras espécies de *Leishmania*.

PALAVRAS-CHAVE: *Allium sativum* L. Leishmaniose. Atividade leishmanicida

ABSTRACT: Leishmaniasis is among the most prevalent infectious parasitic diseases in the world, reflecting a serious public health problem. Considering the difficulties with therapeutics and the absence of vaccines, there is an urgent need for the search for new drugs, among which phytotherapeutics are included. Garlic (*Allium sativum* L.) presents several chemical compounds that potentiate its various biological activities. The main objective of the present study was to evaluate the *in vitro* leishmanicidal activity of the *Allium sativum* L. ethanolic extract against *Leishmania (Leishmania) amazonensis* promastigotes. The promastigote forms of *L. (L.) amazonensis* (2×10^6 parasites/mL) were tested at concentrations of 0.6 to 6 mg/mL to obtain the IC_{50} by the MTT colorimetric method. Amphotericin B represented the positive control and as the negative control, the culture medium. Tests were also carried out for the determination of secondary metabolites (alkaloids and tannins) present in the *Allium sativum* L. ethanolic extract (EEAsL). At 72 h incubation, it was observed that the EEAsL showed no leishmanicidal activity *in vitro* for the promastigote forms of *L. (L.) amazonensis*. The EEAsL presented small amounts of alkaloids and considerable amount of tannins. In this context, it is necessary to expand the investigation of the *in vitro* activity of the EEAsL against the promastigotes forms of *Leishmania (L.) amazonensis*, due to changes in the extraction process; since, according to some literature findings, it has been reported that the garlic extract obtained by different methodologies was able to present activity against other species of *Leishmania*.

KEYWORDS: *Allium sativum* L. Leishmaniasis. Leishmanicidal activity

1 | INTRODUÇÃO

Leishmanioses representam um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que acometem o homem e outras espécies de mamíferos, numa considerável extensão dos trópicos e subtropicais (NUNES *et al.*, 2008; WHO, 2012). Estão entre as doenças infecciosas parasitárias de maior incidência no mundo, endêmica em 98 países com mais de 350 milhões de pessoas em risco, e dois milhões de novos casos por ano, com uma mortalidade anual de aproximadamente 60.000 casos por ano, um número somente superado pela malária dentre as doenças parasitárias (HOTEZ, 2007; WHO, 2012). Na América Latina, o Brasil é o país que registra o maior número de casos dessa doença, cerca de 90% do total notificado (WHO, 2012).

De acordo com a espécie, a doença pode apresentar-se sob três formas clínicas: cutânea, mucocutânea e visceral; abrangendo uma ampla variedade de sinais, sintomas e graus variados de severidade. As leishmanias podem causar desde infecções inaparentes, oligossitomáticas até lesões destrutivas e desfigurantes, constituindo-se em um importante problema de saúde pública (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

Considerando as dificuldades em relação à terapêutica e a ausência de vacinas,

há urgência pela busca de novas drogas, dentre as quais se incluem os fitoterápicos. Pesquisas têm demonstrado o uso popular de plantas no tratamento de leishmanioses tanto por via oral, como na aplicação tópica sobre as lesões cutâneas. Muitos produtos naturais apresentam em sua composição substâncias descritas na literatura como eficazes na atividade leishmanicida (SOARES-BEZERRA et al., 2006).

Segundo a literatura, o alho (*Allium sativum* L.) da família *Lilaceae*, apresenta diversas atividades farmacológicas como anti-inflamatória, antiparasitária, gastroprotetora, antilipídêmica, anti-hipertensiva, anticancerígena e antimicrobiana, entre outras (WABWOBA et al., 2010). O alho é conhecido por vários nomes populares, sendo muito utilizado na culinária e atualmente seu poder terapêutico tem sido reconhecido pelo Ministério da Saúde e assim como pelo FDA (WABWOBA et al., 2010).

2 | METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Histologia e Embriologia (LCT-DHE) - Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Em colaboração com o Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Bioquímica - CB/UFPE, foi realizado o processo de concentração em rotaevaporador do extrato etanólico de *Allium sativum* L.

2.1 Obtenção Do Extrato Etanólico De *Allium Sativum* L.

Para a preparação do extrato etanólico de *Allium sativum* L. utilizou-se um quilograma de alho da casca branca comprado em mercado popular, juntamente com três litros de álcool etílico absoluto (solvente). Inicialmente descascou-se todos os alhos e em seguida realizou-se a trituração do material em um liquidificador com o auxílio do solvente; após o término da trituração o produto final ficou em contato com o solvente durante uma semana, em recipientes de vidro e hermeticamente fechados, para que não houvesse contaminação. Após esse período foi realizada uma filtração, com a utilização de gazes limpas em um funil de vidro, para evitar a passagem de nenhum fragmento de alho para o extrato. Após o processo de filtração, procedeu-se a rotaevaporação do extrato para eliminação do solvente até atingir massa constante, restando apenas o extrato puro (**Figura 1**).

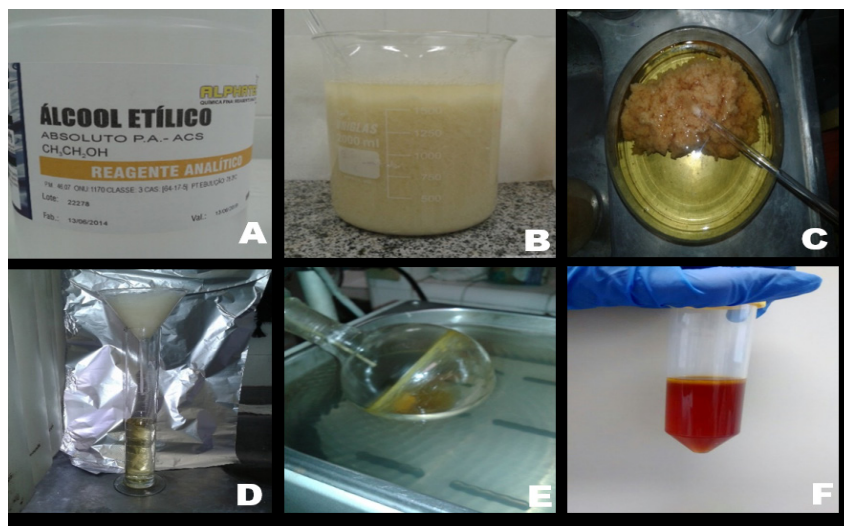


Figura 1. Etapas para a obtenção do extrato etanólico de *Allium sativum* L. (EEAsL) **A)** Solvente (álcool etílico absoluto, PA) utilizado na etapa da extração. **B)** material triturado (alhos) em contato com o solvente. **C)** produto final em contato com o solvente (após uma semana). **D)** processo de filtração do EEAsL utilizando-se um funil de vidro com gazes colocado numa proveta. **E)** etapa da rotaevaporação do EEAsL para evaporação do solvente. **F)** obtenção do extrato puro.

2.2 Avaliação da Atividade Leishmanicida *In Vitro*

Os parasitas utilizados foram cedidos pelo Dr. Osvaldo Pompílio de Melo Neto do Departamento de Microbiologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM) da FIOCRUZ-PE. Foi utilizada cepa de formas promastigotas de *Leishmania L. amazonensis* em fase exponencial de crescimento, para os ensaios de atividade antiparasitária *in vitro*. Os parasitas foram mantidos em meio LIT (liver infusion tryptose), suplementado com 20% de soro fetal bovino (SFB) (LGC Biotechnology Ltda.), inativado a 56°C por 1 hora em banho-maria, 0,1 % de antibióticos (estreptomicina e penicilina) e 0,2% de hemina, em estufa de BOD a 26°C.

Para a determinação da IC₅₀, os ensaios foram realizados pelo método colorimétrico MTT (MOSMANN, 1983), onde foi analisada capacidade dos parasitas viáveis reduzirem o sal [3-{4,5-dimetiltiazol-2-il}-2,5-difenil tetrazólio] (MTT), através da ação da desidrogenase mitocondrial, no produto Formazan (GUIMARÃES et al., 2010). As formas promastigotas dos parasitas (*L. (L.) amazonensis*) foram distribuídas em placas de 96 poços, na concentração de 2x10⁶ células/mL de meio LIT. Em seguida foi realizada uma diluição seriada com o meio LIT a 20% em diferentes concentrações (0,6 - 6 mg/mL) do extrato etanólico de *Allium sativum* L., tendo a anfotericina B como controle positivo e como controle negativo, o meio de cultura. As placas foram incubadas em estufa de BOD à 26°C por 72 horas. Após este período, foi adicionado o MTT (Sigma) a 5 mg/mL em cada poço e foi realizada nova incubação durante três horas. A reação foi interrompida pela adição de DMSO e a placa lida em um espectrofotômetro a 570 nm.

2.3 Identificação dos Metabólitos Secundários

Foram realizados testes para a identificação dos metabólitos secundários no extrato obtido. Todavia, levou-se em consideração que os efeitos dessas substâncias bioativas podem variar devido a vários fatores como sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura e disponibilidade hídrica (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

2.4 Análise Estatística

Os dados foram avaliados pelo método de ANOVA, seguido pelo pós-teste de Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade leishmanicida do *Allium sativum* L tem sido estudada por outros pesquisadores, que relacionam a influência do processo de extração do mesmo. Wabwoba et al. (2010) referiram atividade leishmanicida *in vitro* do extrato do *Allium sativum* L. frente formas promastigotas de *L. major* e *L. donovani*, com valores de IC_{50} de 34,22 $\mu\text{g/mL}$ e 37,41 $\mu\text{g/mL}$ (respectivamente).

Na **figura 2**, observou-se que após 72 horas de incubação, o extrato do *Allium sativum* L. (EEAsL) não apresentou uma efetiva atividade leishmanicida *in vitro* ($IC_{50} \sim 4,8 \text{ mg/mL}$) para as formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis*.

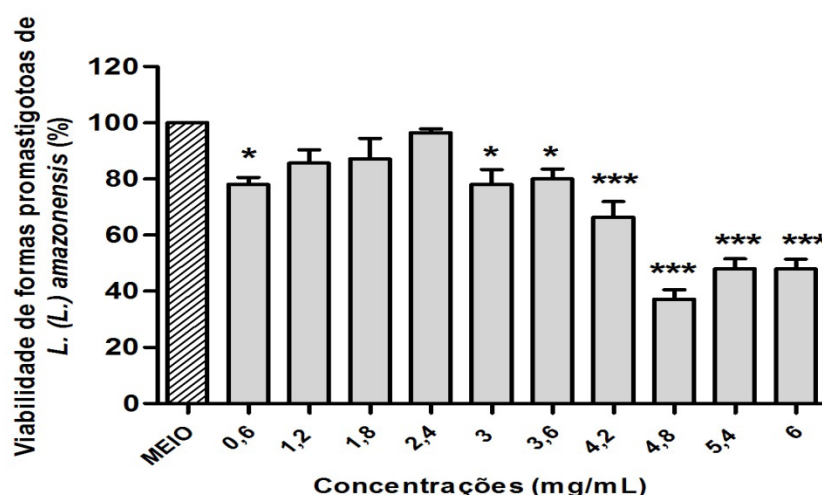


Figura 3. Efeito de extrato etanólico de *Allium sativum* L. frente às promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*. As formas promastigotas foram tratadas com diferentes concentrações (6,0 a 0,6 mg/mL) por 72 horas. Os valores foram apresentados como médias \pm desvio padrão da média. *, representa diminuição significativa da viabilidade do parasito *versus* controle (meio) ($p < 0,05$). ***, representa diminuição significativa da viabilidade do parasito *versus* controle (meio) ($p < 0,0001$).

Notou-se uma uniformidade da cor (roxo escuro) em quase todos os poços da placa de cultura, revelando que o extrato não apresentou atividade leishmanicida, mesmo nas maiores concentrações (**Figura 3**). Segundo Guimarães et al. (2010)

a atividade de um extrato natural pode ser observada através de uma mudança da coloração nos poços de uma placa de cultura, devido a formação dos cristais de Formazan que estão diretamente relacionados a quantidade de parasitas ou células viáveis.

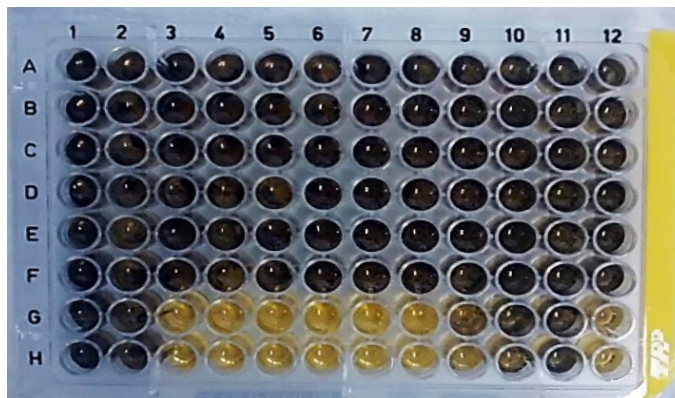


Figura 3. Representação de uma placa de cultura com 96 poços após três horas de incubação com o MTT, contendo as formas promastigotas de *Leishmania L. amazonensis* sob ação do extrato etanólico de *Allium sativum* L. (EEAsL).

O extrato do *Allium sativum* L. (EEAsL) apresentou pequena quantidade de alcalóides e considerável quantidade de taninos (**Figura 4**). Alguns estudos referem os alcalóides, como metabólito secundário, com potente atividade leishmanicida e os taninos como importante agente antimicrobiano (RHODES et al. 2006).

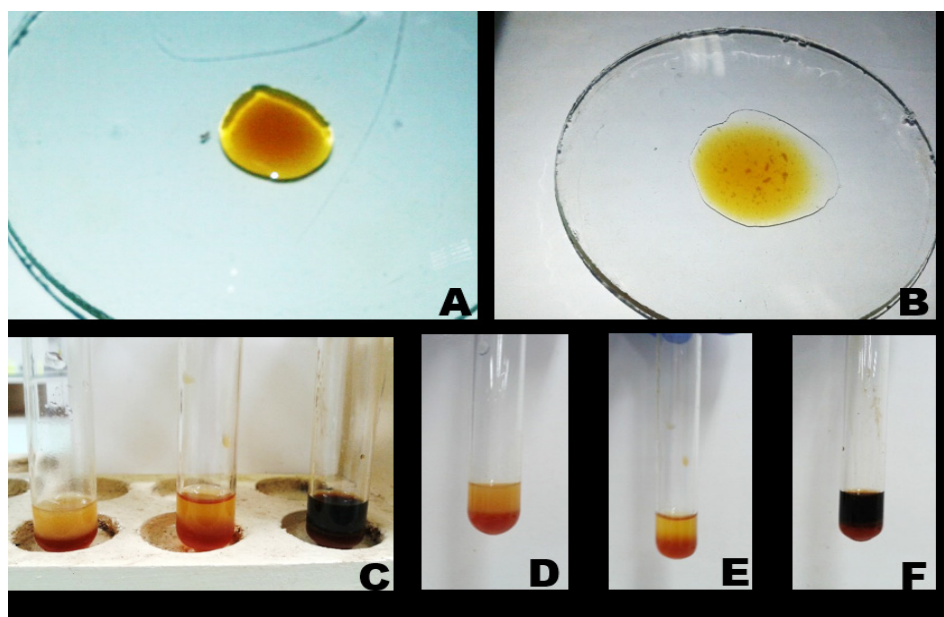


Figura 4. Teste para reconhecimento de metabólitos secundários (alcalóides e taninos) presentes no Extrato Etanólico de *Allium sativum* L. (EEAsL) **A**) Na presença do reagente de Mayer, notou-se fraca precipitação do EEAsL. **B**) Na presença do reagente Bourchardat (Wagner), observou-se precipitação moderada, em comparação ao ensaio anterior (fraca reação para alcalóides). **C**) tubos de ensaio demonstrando uma visão geral da reação do EEAsL com as soluções reagentes. **D**) Reação do EEAsL com solução de acetato de chumbo (10%), notou-se precipitação mais intensa. **E**) Reação do EEAsL com solução de ácido clorídrico (HCl) a 10%, notou-se precipitação mais intensa. **F**) Reação do EEAsL com a solução de cloreto férrico (2%), observou-se total precipitação. **D, E, e F**) mostram que o EEAsL apresentou maior quantidade de taninos do que alcalóides.

O tanino classifica-se como um composto fenólico e foi identificado por Bianchi et al. (1997) no extrato aquoso de *Allium sativum*, que apresentou atividade antimicrobiana contra *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Fusarium solani*, causando alterações morfológicas nas hifas.

Segundo Garba (2014), na avaliação fitoquímica preliminar do extrato de alho através de solventes aquosos e alcóolicos, foi possível constatar a presença de taninos e saponinas; todavia a detecção de alcalóides e flavonóides só foi possível quando se utilizou apenas um dos solventes (alcóolico e aquoso, respectivamente).

O extrato do *Allium sativum* L. (EEAsL) foi obtido apenas com um solvente (etanólico) e em função dessa extração, não foram identificados outros metabólitos secundários, com relatados na literatura. Neste contexto, devem-se levar em consideração que os metabólitos secundários presentes nas plantas medicinais podem variar de acordo com diversos fatores, tais como sazonalidade, irrigação, modo de cultivo, entre outros (NCUBE et al., 2010).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos realizados anteriormente por outros pesquisadores, demonstraram a atividade leishmanicida do extrato de *Allium sativum* L. frente diferentes espécies de *Leishmania* como a *Leishmania major* e a *Leishmania donovani* (WABWOBA et al., 2010).

Entretanto, o extrato utilizado neste estudo não apresentou atividade leishmanicida *in vitro* e estes resultados podem ter relação com a forma de cultivo do material vegetal (alho), sendo de extrema importância a questão do solo, das condições climáticas, do tempo de cultivo; os quais podem influenciar consideravelmente na produção dos metabólitos secundários (NCUBE et al., 2010)

O solvente utilizado no processo de extração pode ter limitado a identificação dos principais metabólitos secundários responsáveis por diferentes atividades biológicas, inclusive pela própria atividade leishmanicida.

Neste contexto, faz-se necessário ampliarmos a investigação da atividade *in vitro* do extrato de *Allium sativum* L. frente às formas promastigotas de *Leishmania (L). amazonensis*, em função de serem realizadas modificações no processo de extração do mesmo; visto que, o extrato de alho obtido por diferentes metodologias foi capaz de apresentar atividade contra outras espécies de *Leishmania*.

REFERÊNCIAS

BARRET, M. P; CROFT, S. L. Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. **Bristich Medical Bulletin**, v. 104, p. 175-196, 2012.

BIANCHI, A.; ZAMBONELLI, A.; D'AULERIO, A. Z.; BELLESIA, F. Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi in vitro. **Plant Disease**, v.81, n.11, p.1241-1246, 1997.

- CAPASSO A. Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. **Molecules**, 18: 690-700, 2013.
- CHAN JY, YUEN AC, CHAN RY, CHAN SW. A review of the cardiovascular benefits and antioxidant properties of allicin. *Phytother Res*. 27: 637-646. 2013.
- GARBA, I; UMAR, A. I.; ABDULRAHMAN, A. B.; TIJJANI, M. B.; ALIYU, M. S.; ZANGO, U. U.; MUHAMMAD, A. Phytochemical and antibacterial properties of garlic extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, v.6, n.2, p.45-48, 2014.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova.**, v. 30, n. 2, pp. 374-381. ISSN 0100-4042. 2007.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Belo Horizonte- Mg, v. 1, n. 36, p.71-80, fev. 2003.
- GUIMARÃES, RODRIGUES. L. *et al.* Activity of the julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton pullei* var. *glabior*, on *Leishmania (L.) amazonensis*. **Parasitology Research**. V. 107, n.5,p.1075-1081,2010.
- HATAM, G. R.; BAHRAMI, S.; RAZAVI, S. M.; ORYAN, AHMAD. Isoenzyme and ultrastructural characterization of *Leishmania tropica* axenic amastigotes and promastigotes. **Parasitology Research**, v. 112, p. 643-648, 2013.
- HOTEZ N. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*.357: 1018–27,2007.
- MASMOUDI, A.; HARIZ, W.; MARREKCHI, S.; AMOURI, M.; TURKI, H. Old World cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. **Journal of Dermatological Case Reports**. v. 7, n. 2, p.31-41, 2013.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- NCUBE, B.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. Seasonal variation in antimicrobial and phytochemical properties of frequently used medicinal bulbous plants from South Africa. **South African Journal of Botany**. v. 79, 2010.
- NEVES, F.P. *et al.* **Parasitologia Humana**, 12º ed. São Paulo. Editora Atheneu. Cap. 8, p. 49-65, 2011.
- NUNES, R.K. Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida de produtos naturais da flora matogrossense. Trabalho de Conclusão de Curso – Centro de Ciências Biológicas – CCB, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- RHODES, P.L.; MITCHELL, J.W.; WILSON, M.W.; MELTON, L.D. Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. **International Journal of Food Microbiology**, v.107, p.281- 286, 2006.
- SOARES-BEZERRA, R. J.; LEON, L.; GENESTRA, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 2; 139-149, 2004.
- TEIXEIRA, D. E.; BECHIMOL, M.; RODRIGUES, J. C. F.; CREPALDI, P.H.; PIMENTA, P. F. P., DE SOUZA, W. Atlas didático: Ciclo de vida da *Leishmania*. **Fundação CECIERJ, Consórcio CEDERJ**, Rio de Janeiro, 1 ed., 2013.

WABWOBA, Byrum W. et al. Experimental chemotherapy with *Allium sativum* (Liliaceae) methanolic extract in rodents infected with *Leishmania major* and *Leishmania donovani*. **J Vector Borne**. Nairobi, Kenya, p. 160-167. set. 2010.

WANG, J.Y; GUI, G.; CHEN, H. T., ZHOU, X. N.; *et al.* Current epidemiological profile and features of visceral leishmaniasis in Pleople's Republic of China. **Parasites & Vectores**, v. 5, n.31, 2012.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en /index.html>.2012.

SOBRE A ORGANIZADORA

Sabrina Passoni Maravieski - Possui graduação em Licenciatura em Física e Mestrado em Ciências/ Física, ambos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atualmente é doutoranda na área de Ensino de Ciências nas Engenharias e Tecnologias pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. É também professora adjunta do Centro de Ensino Superior de Campos Gerais na cidade de Ponta Grossa. Ministra as disciplinas de: Mecânica dos Fluidos, Fenômenos de Transporte, Mecânica Aplicada, Eletricidade e Magnetismo, Física Atômica e Nuclear, Física da Ressonância Magnética Nuclear, Física das Radiações Ionizantes e Não Ionizantes e Física e Instrumentação Aplicada a Engenharia Biomédica; nos cursos de Engenharia Elétrica, Engenharia Civil, Tecnologia em Radiologia, Pós -Graduação em Segurança do Trabalho e Imagenologia. Já atuou como professora de Ensino Médio em escolas pública e particular ministrando aulas de Física e Robótica.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-189-3

