

ELEMENTOS DE QUÍMICA

CARMEN LÚCIA VOIGT
(ORGANIZADORA)



Carmen Lúcia Voigt
(Organizadora)

Elementos de Química

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

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

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

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
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
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
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.ª Dr.ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
E38	Elementos de química [recurso eletrônico] / Organizadora Carmen Lúcia Voigt. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-507-5 DOI 10.22533/at.ed.075190208 1. Química – Estudo e ensino. I. Voigt, Carmen Lúcia. CDD 540.7
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O grande desenvolvimento do nosso planeta, em diversas áreas, é devido principalmente ao desenvolvimento e utilização da Química.

A Química possui papel fundamental no desenvolvimento tecnológico, pois a utilização dos conceitos e técnicas dessa ciência permite a obtenção de novas substâncias, além de preocupar-se com a prevenção de danos e exploração sustentável do meio ambiente.

Os trabalhos selecionados para este volume oportunizam reflexão e conhecimento na área da Química, abrangendo aspectos favoráveis para ciência, tecnologia, sociedade e meio ambiente. Temas específicos são abordados em técnicas como eletrocatalise e degradação fotocatalítica.

A toxicidade de compostos e análise de contaminantes emergentes é apresentada nos trabalhos com enfoque em tratamento de água e efluentes. Além disso, trabalhos tratam de síntese e sensores eletroquímicos.

Inovações na química criam aplicações e soluções em diversas áreas, e pesquisas como as expostas neste volume contribuem para avanços tecnológicos.

Com base nestes experimentos, convidamos você a ampliar ainda mais seus conhecimentos sobre Química e suas aplicações.

Boa leitura.

Carmen Lúcia Voigt

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ADSORÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS UTILIZANDO A ESTRUTURA METAL-ORGÂNICA [Cu ₃ (BTC) ₂ ·(H ₂ O) ₃] _n	
Kátia Cristina Silva de Freitas Renata Pereira da Silva Suzana Pereira Vila Nova Sandra Rodrigues de Souza Claudia Cristina Cardoso	
DOI 10.22533/at.ed.0751902081	
CAPÍTULO 2	10
ATIVIDADE ELETROCATALÍTICA DO GRAFENO DOPADO COM NITROGÊNIO NA REAÇÃO DE REDUÇÃO DO OXIGÊNIO PARA APLICAÇÃO EM CÉLULAS A COMBUSTÍVEL	
Raquel Alves Corrêa Lima Raimundo Ribeiro Passos Leandro Aparecido Pocrifka Luiz Kleber Carvalho de Souza Alúcio José Cordeiro Pinto Júnior Vera Lúcia da Silva Marinho Consuelo Alves da Frota	
DOI 10.22533/at.ed.0751902082	
CAPÍTULO 3	21
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE <i>IN VIVO</i> DO ALCALOIDE APORFÍNICO GUATTERIOPSISINA DE <i>Guatteria friesiana</i>	
Valéria Lima Silva Veras Chistiane Mendes Feitosa Ronaldo dos Santos Sousa Junior Emmanoel Vilaça Costa Hercilia Maria Lins Rolim Felipe Cardoso de Brito	
DOI 10.22533/at.ed.0751902083	
CAPÍTULO 4	33
DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CICLAMATO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS MEDIANTE EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM E POSTERIOR DERIVATIZAÇÃO QUÍMICA	
Camila Santos Dourado Fabiana Casarin Maria Vitória dos Santos Villa Bande Ana Cristi Basile Dias	
DOI 10.22533/at.ed.0751902084	
CAPÍTULO 5	40
ESTUDO DO TRATAMENTO DE ÁGUA DE UM IGARAPÉ DE MANAUS UTILIZANDO UM REATOR FOTOCATALÍTICO HETEROGÊNEO SOLAR	
Quelren Benacon Lima Marinho Andrey Marcos Pinho da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.0751902085	

CAPÍTULO 6	52
SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO EM POLÍMEROS DE IMPRESSÃO MOLECULAR PARA DETECÇÃO DO ÓXIDO DE CARIOFILENO	
Igor Medeiros de Assis	
Walter Ricardo Brito	
DOI 10.22533/at.ed.0751902086	
SOBRE A ORGANIZADORA	66
ÍNDICE REMISSIVO	67

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN VIVO* DO ALCALOIDE APORFÍNICO GUATTERIOPSISCINA DE *Guatteria friesiana*

Valéria Lima Silva Veras

Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Teresina – PI.

Chistiane Mendes Feitosa

Universidade Federal do Piauí, Programa de pós-graduação em Química, Teresina – PI.

Ronaldo dos Santos Sousa Junior

Universidade Federal do Piauí, Programa de pós-graduação em Química, Teresina – PI.

Emmanuel Vilaça Costa

Universidade Federal do Amazonas, Programa de pós-graduação em Química, Manaus – AM

Hercilia Maria Lins Rolim

Universidade Federal do Piauí, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Teresina – PI.

Felipe Cardoso de Brito

Instituto Federal do Piauí, Campus Uruçui-PI

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos toxicológicos do alcaloide guatteriopsiscina em camundongos, direcionado para o tratamento da doença de Alzheimer. Para isso, camundongos machos *Swiss* foram tratados com guatteriopsiscina em três doses diferentes (0,1; 1,0 e 5,0 mg.Kg⁻¹) e realizados ensaios *ex vivo* para atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase no cerebelo, córtex frontal e hipocampo, além

da avaliação toxicológica em parâmetros histológicos do fígado e hematológicos. Os resultados apontaram que a guatteriopsiscina na dose de 5,0 mg.Kg⁻¹ foi capaz de inibir a atividade da acetilcolinesterase no córtex frontal e no hipocampo e não apresentou efeitos tóxicos agudos. Com isso, a guatteriopsiscina mostrou-se como substância promissora para sua aplicação na terapêutica da doença de Alzheimer.

PALAVRAS-CHAVE: Acetilcolinesterase, toxicidade, doença de Alzheimer.

EVALUATION OF *IN VIVO* TOXICITY OF THE APORFINAL ALCALOID GUATTERIOPSISCINE OF GUATTERIA FRIESIANA

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the toxicological effects of the alkaloid guatteriopsiscine in mice, directed towards the treatment of Alzheimer's disease. For this, *Swiss* male mice were treated with guatteriopsiscine in three different doses (0.1, 1.0 and 5.0 mg.Kg⁻¹) and performed *ex vivo* assays for acetylcholinesterase enzyme inhibitory activity in the cerebellum, frontal cortex and hippocampus, besides the toxicological evaluation in histological parameters of the liver and haematological. The results showed that

guatterioptionscine at the dose of 5.0 mg.kg⁻¹ was able to inhibit acetylcholinesterase activity in the frontal cortex and hippocampus and did not present acute toxic effects. Thus, guatterioptionscine proved to be a promising substance for its application in the treatment of Alzheimer's disease.

KEYWORDS: Acetylcholinesterase, toxicity, Alzheimer's disease.

1 | INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa na qual ocorre perda de memória e aprendizado, seguida por déficits cognitivos e distúrbios comportamentais que, progressivamente, tornam-se mais severos (DASTMALCHI, 2007). É o tipo mais frequente de demência, correspondendo a aproximadamente 70% dos casos e afeta, principalmente, a população geriátrica (SPIRES-JONES E HYMAN, 2014). Os processos neuropatológicos envolvidos na DA incluem acumulação de peptídeo β -amiloide (β A) na forma de placas extracelulares, depósitos intracelulares de proteína tau, perda neuronal (SELKOE, 1991) e perda sináptica (MASLIAH et al., 2001).

A perda neuronal que ocorre na DA resulta em déficit na neurotransmissão colinérgica, serotoninérgica, dopaminérgica e noradrenérgica (KARRAN; MERCKEN; STROOPER, 2011). Isso ocorre devido à atrofia nos núcleos densos de neurônios colinérgicos, os quais são produtores da colina acetiltransferase (CAT), enzima que catalisa a reação de síntese da acetilcolina (ACh) a partir da colina e da acetil-coenzima A. Assim, com esses núcleos reduzidos, ocorre redução da produção de CAT e, conseqüentemente, ocorre também redução de ACh nas sinapses nervosas (CRAIG; HONG; MCDONALD, 2011). Esse parece ser o principal mecanismo que desencadeia os sintomas da DA uma vez que os neurônios colinérgicos possuem papel fundamental nas funções cognitivas (GUILLEM et al., 2011). Além disso, uma parte da ACh produzida é hidrolisada pela enzima acetilcolinesterase (AChE), por isso a farmacoterapia de primeira linha no tratamento da DA é o uso de substâncias inibidoras da enzima AChE (BALLONE, 2001).

Em um *screening* fitoquímico realizado com substâncias para verificação da atividade anticolinesterásica *in vitro*, a guatterioptionscina foi a que apresentou o melhor resultado, sendo este superior ao da substância padrão, a rivastigmina, um dos medicamentos mais utilizados no tratamento da DA (FEITOSA et al., 2015a). A guatterioptionscina é um alcaloide dehidroaporfínico (LÚCIO et al., 2014) que pode ser isolado das folhas ou do caule da espécie vegetal *Guatteria friesiana* (W.A. Rodrigues) Erkens & Maas (COSTA, 2009), uma árvore conhecida popularmente como “envireira” e “envira” e encontrada na Região Amazônica (MAAS; LOBÃO E RAINER, 2015).

Entretanto, a guatterioptionscina é uma substância que ainda não possui aplicação clínica visto que fora descrita pela primeira vez por Costa (2009) e apenas dois estudos relatam atividades biológicas para esta substância. Um dos estudos é o de Costa et

al. (2013), que mostraram que este alcaloide não possui atividade citotóxica e o outro é o de Feitosa et al. (2015a), que mostraram a potente atividade anticolinesterásica da guatterriopsiscina. Portanto, é de fundamental importância estudar os efeitos de novos inibidores da AChE de origem vegetal, em sistemas biológicos, uma vez que o composto mais eficaz no tratamento da DA e que apresenta menos efeitos colaterais é a galantamina, um alcaloide inibidor da AChE isolado a partir de plantas da família Amaryllidaceae. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos toxicológicos da guatterriopsiscina em camundongos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As folhas de *G. friesiana* foram coletadas em Janeiro de 2005, na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), localizada no Km 38 da BR-174, na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. A identificação do material botânico foi feita pelo taxonomista Dr. Antônio Carlos Weber, do Instituto de Ciências Biológicas da UFAM, e a exsicata foi depositada no herbário da UFAM sob o número de registro 7341.

2.2 Extração e isolamento do alcaloide guatterriopsiscina

A guatterriopsiscina utilizada neste estudo foi obtida a partir das folhas de *Guatteria friesiana*. O isolamento e a identificação foram descritos por Costa et al. (2013).

2.3 Químicos

Iodeto de acetilcolina e ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico foram adquiridos da Sigma–Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Os sais para preparo dos tampões foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Germany). Todos os outros químicos e solventes orgânicos utilizados foram de grau analítico.

2.4 Animais

Foram utilizados camundongos heterogênicos machos albinos (*Mus musculus*) variedade *Swiss*, com 3 meses de idade, com peso variando entre 25 e 40g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Durante todos os experimentos, os animais foram aclimatados a 25 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro alternado de 12 horas (7:00 a.m./7:00 p.m.), com livre acesso a água e comida. Todos os experimentos foram realizados de modo a minimizar os sofrimentos e a reduzir o número de animais utilizados. O projeto desta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí, sob o número 005/15.

2.5 Procedimentos experimentais

Camundongos (n=30) foram distribuídos, randomicamente, em seis grupos de cinco animais cada, assim distribuídos: solução salina 0,9% (controle negativo); DMSO 20% (veículo); guatterioipsiscina 0,1 mg.Kg⁻¹; guatterioipsiscina 1,0 mg.Kg⁻¹; guatterioipsiscina 5,0 mg.Kg⁻¹ e rivastigmina 2,0 mg.Kg⁻¹. A guatterioipsiscina foi dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) e solução salina 0,9% até se obter uma concentração final de 20% para o DMSO para poder ser administrada nos animais, o grupo rivastigmina constituiu o controle positivo para verificação da atividade anticolinesterásica. Os animais foram tratados com solução salina, DMSO e guatterioipsiscina por via intraperitoneal (i.p.) e com rivastigmina por via oral (v.o), 60 minutos antes da realização da eutanásia.

2.6 Análise da atividade inibitória da AChE

Os animais foram tratados conforme o procedimento experimental e, 60 minutos depois, foram eutanasiados com injeção de pentobarbital sódico (i.p. na dose de 150 mg.kg⁻¹) após anestesia prévia com cloridrato de cetamina (i.m na dose de 50 mg.kg⁻¹). Foi, então, realizado procedimento cirúrgico para remoção do cérebro e dissecação das seguintes áreas cerebrais dos camundongos: hipocampo, córtex frontal e cerebelo. Essas áreas cerebrais foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio (pH 7,4; 50 mmol/L) para se obter homogenatos na concentração de 20 mg de tecido cerebral por mL de tampão.

Para verificação da atividade da enzima AChE, foi utilizado o método proposto por Ellman et al. (1961) com mínimas modificações. Uma alíquota dos homogenatos foi adicionada a uma cubeta contendo água destilada, tampão fosfato de sódio (pH 8,0; 0,1 mol/L) e o reagente ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB); a absorbância foi zerada. Após isso, foi adicionado à cubeta o substrato iodeto de acetilcolina (ATCI) e a variação da absorbância foi registrada durante 3 minutos, com intervalos de 1 minuto, a 412 nm (Espectrofotômetro Biospectro SP-220). A atividade da AChE foi calculada de acordo com a razão de acetilcolina hidrolizada, segundo a equação (ELLMAN et al., 1961):

$$R = 5,74 (10^{-4}) \Delta A / C_0$$

Onde: R = razão, em mols, de acetilcolina hidrolizada por minuto por grama de tecido; ΔA = variação da absorbância por minuto; C_0 = concentração do tecido em mg/mL.

2.7 Avaliação dos efeitos da guatterioipsiscina em parâmetros hematológicos

O tratamento no qual foi submetido os animais, foi conforme o procedimento experimental e, 60 minutos após os tratamentos, foi feita a coleta de sangue por rompimento do plexo retro-orbital com auxílio de capilar de vidro (WAYNFORTH, 1980).

Os seguintes parâmetros hematológicos: hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), plaquetas e leucócitos foram determinados por meio do analisador de células hematológicas SDH 3 VET com sistemas comerciais da Labtest®. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões coradas utilizando o Kit Pantótico Rápido da Laborclin®. Em cada ensaio, 100 células foram analisadas e contadas (MALONE, 1977; AL-HABORI et al., 2002).

2.8 Análises histopatológicas dos fígados dos camundongos

Os animais foram tratados conforme o procedimento experimental e, 60 minutos depois, foram eutanasiados com injeção de pentobarbital sódico (i.p. na dose de 150 mg.kg⁻¹) após anestesia prévia com cloridrato de cetamina (i.m na dose de 50 mg.kg⁻¹).

A partir disso, foi realizado procedimento cirúrgico para remoção dos fígados. Estes foram mantidos em recipientes com formol tamponado 10% (pH 7,4) durante 24h e, logo em seguida, o formol utilizado foi removido e os fígados dos animais foram acondicionados em recipientes com álcool 70% durante 72h. Foram, então, preparadas lâminas histológicas com os tecidos hepáticos e coradas com hematoxilina e eosina, para observação em microscópio óptico.

2.9 Análises estatísticas

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão (D.P). A análise estatística necessária para os testes, foi realizada utilizando *one way* ANOVA, seguida pelo teste *Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o programa *GraphPad Prism* 5.01 (San Diego, CA, USA).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise da atividade anticolinesterásica ex vivo da guatterioipsiscina

O tratamento para a DA é sintomático e consiste na tentativa de restauração da função colinérgica. Inibidores da acetilcolinesterase (AChE) são amplamente usados baseados na hipótese colinérgica. Os inibidores da AChE comercializados como medicamentos como fisostigmina (Synapton®), rivastigmina (Exelon®), donepezil (Eranz®) e galantamina (Reminyl®), alteram a função colinérgica central ao inibir a

enzima AChE, aumentando, assim, a quantidade de acetilcolina nas sinapses. Desde a introdução desses medicamentos na prática clínica, os inibidores da AChE constituem o tratamento sintomático de escolha para a doença de Alzheimer (SERENIKI E VITAL, 2008).

Entretanto, esses inibidores comercializados geralmente apresentam alguns efeitos indesejáveis. A rivastigmina, por exemplo, apresenta muitos efeitos colaterais relacionados ao trato gastrointestinal; a fisostigmina é moderadamente eficaz e o medicamento que causa menos efeitos prejudiciais e é considerado o mais eficaz é a galantamina, um alcaloide isolado primeiramente da espécie vegetal *Galanthus woronowi* (Amaryllidaceae) que é um inibidor competitivo da AChE de longa duração e é bastante seletivo (FEITOSA et al., 2015b).

Outros alcaloides vegetais que foram estudados e apresentam resultados promissores como inibidores da AChE são a huperzina A e huperzina B, que podem ser isolados de espécies do gênero *Lycopodium* e de outras espécies também (HALL-DORSDOTTIR; JAROSZEWSKI; OLAFSDOTTIR, 2010).

Diante disso, este estudo relata pela primeira vez a atividade anticolinesterásica *ex vivo* da guatteriopsiscina, além da toxicidade aguda em parâmetros hematológicos e hepáticos, que foram verificadas a partir das técnicas utilizadas, direcionadas para aplicação desse alcaloide na terapêutica da doença de Alzheimer.

A Figura 1 mostra os resultados de inibição da AChE nos córtices frontais (Figura 1A), hipocampos (Figura 1B) e cerebelos (Figura 1C) de camundongos tratados com guatteriopsiscina, rivastigmina, solução salina e DMSO 20%. As médias apresentadas foram: 30,03; 17,58; 22,68; 27,04; 27,0 e 28,34 para o cerebelo; 20,10; 19,56; 40,60; 22,18; 2,62 e 27,56 para o córtex frontal e 27,36; 31,02; 9,48; 35,60; 12,18 e 16,42 para o hipocampo. Essas médias são para os grupos controle negativo; veículo; GUA 0,1; GUA 1,0; GUA 5,0 e rivastigmina, respectivamente.

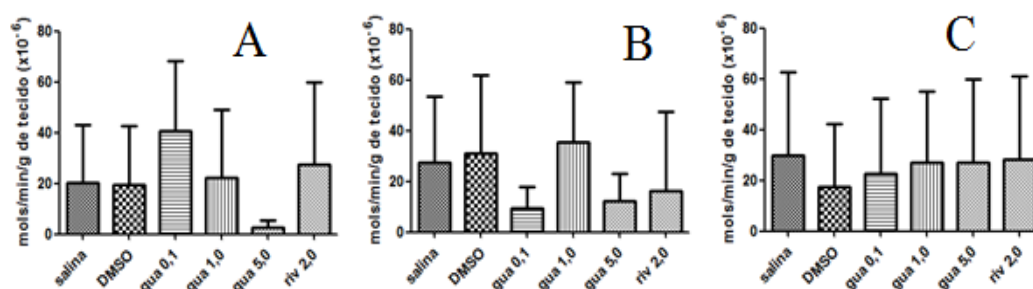


Figura 1 – Inibição da enzima acetilcolinesterase no córtex frontal (A), hipocampo (B) e cerebelo (C), em camundongos Swiss.

Os valores representam a média \pm D.P das velocidades de formação de tiocolina em mols/min/g de tecido, n=5 camundongos por grupo, (ANOVA seguida de *Student-Newman-Keuls* como *post hoc* teste; $p < 0,05$). Gua: guatteriopsiscina; Riv: rivastigmina.

Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos para as três áreas cerebrais investigadas: cerebelo, córtex frontal e hipocampo. Mas, observou-se que,

no córtex frontal, o grupo tratado com guatterriopsiscina na dose de 5,0 mg.Kg⁻¹, apresentou velocidade de produção de tiocolina bastante inferior a do grupo controle positivo. Já no hipocampo, os grupos tratados com guatterriopsiscina nas doses de 0,1 e 5,0 mg.Kg⁻¹, apresentaram velocidades de produção de tiocolina inferiores aos grupos controle negativo e veículo e semelhantes ao grupo controle positivo.

Dessa forma pode-se inferir que a guatterriopsiscina inibiu a enzima AChE, pois foi possível observar que promoveu redução na velocidade de produção de tiocolina, o que significa, também, redução da atividade da AChE, já que essa enzima é responsável pela hidrólise do substrato acetiltiocolina em tiocolina e acetato.

3.2 Avaliação dos efeitos da guatterriopsiscina em parâmetros hematológicos e histopatológicos

Dados obtidos a partir de ensaios pré-clínicos de toxicidade devem ser avaliados antes da liberação de novos medicamentos, aditivos, pesticidas e outros produtos químicos. Alterações de parâmetros em modelos experimentais podem estar relacionadas aos efeitos terapêuticos e/ou toxicológicos. Entre esses parâmetros, os hematológicos são de grande importância na determinação dos efeitos induzidos pelo tratamento (PETTERINO E ARGENTINO-STORINO, 2006).

Estudos hematológicos foram realizados nos grupos de animais submetidos ao tratamento com guatterriopsiscina nas doses de 0,1; 1,0 e 5,0 mg.Kg⁻¹ e também nos grupos controle negativo e veículo para fins de comparação com os resultados obtidos nos grupos tratados com o alcaloide. A tabela 1 apresenta os valores obtidos em parâmetros hematológicos de camundongos *Swiss* submetidos ao tratamento com guatterriopsiscina, via intraperitoneal (i.p).

Parâmetros	Controle negativo (salina 0,9%)	Veículo (DMSO 20%)	GUA (0,1 mg/Kg)	GUA (1,0 mg/Kg)	GUA (5,0 mg/Kg)
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	12,4	8,3	7,7	9,1	10,5
Hemoglobina (g/dL)	17,0	13,7	13,2	14,7	15,1
Hematócrito (%)	51,0	38,1	36,2	38,7	37,0
VGM (fL)	42,4	45,6	47,0	42,5	35,2
CHGM (g/dL)	33,5	36,1	37,0	38,2	40,8
Plaquetas (x10 ³ /μL)	1588	1021	1252	1093	1477
Leucócitos totais (Cel/μL)	2617	2640	2600	3775	1150
Mielócitos (Cel/μL)	0	0	0	0	0
Metamielócitos (Cel/μL)	0	0	0	0	0
Bastonetes (Cel/μL)	0	0	0	0	0

Segmentados (Cel/ μ L)	497,7	795,2	512,0	379,5	391,0
Linfócitos (Cel/ μ L)	1970	1727	1915	3159	690,0
Eosinófilos (Cel/ μ L)	119,0	84,8	142,5	161,5	23,0
Monócitos (Cel/ μ L)	14,6	8,8	24,5	34,5	23,0
Basófilos (Cel/ μ L)	15,0	24,4	6,2	41,0	23,0

Tabela 1 – Parâmetros hematológicos de camundongos Swiss submetidos ao tratamento com guatterriopsiscina, por via (i.p).

Os resultados representam as médias dos parâmetros apresentadas para cada grupo, n=5 animais por grupo. Gua=guatterriopsiscina.

De acordo com Bihun (1997) e Hrapkiewicz, Medina e Holmes (1998) os valores de referência determinados para constituintes do hemograma podem não representar precisamente aqueles de certa população ou espécie animal e, por esta razão, devem ser interpretados cuidadosamente, uma vez que existe uma ampla faixa de variação fisiológica para tais avaliações. Além disso, destaca-se que essas determinações estão sujeitas às seguintes influências: condições ambientais, sexo, procedência, sistema de criação, dieta, linhagem (SPINELLI et al., 2012), idade e local de coleta (FERNÁNDEZ et al., 2010).

Dessa forma os resultados mostraram que os camundongos tratados com guatterriopsiscina nas doses de 0,1; 1,0 e 5,0 mg.kg⁻¹ (i.p) apresentaram todos os parâmetros hematológicos dentro da faixa de referência, observando-se apenas pequenas alterações nos valores de CHGM, leucócitos totais e segmentados, mas sem importância estatística. Apenas o grupo GUA 5,0 apresentou taxa de linfócitos baixa, sugerindo anemia e o grupo GUA 1,0 apresentou taxa elevada de basófilos, sugerindo anemia ou alergia, sendo que não é possível afirmar se essas alterações possuem relação com o tratamento submetido.

Entretanto, pode-se afirmar que a taxa de linfócitos do grupo GUA 5,0 está baixa, não se podendo atribuir esse achado às influências de algumas das condições que foram citadas, já que é sabido que camundongos possuem valores normais de referência para linfócitos muito elevados, quando comparados a outras espécies animais, por exemplo, a espécie humana (HEINECKE, 1961).

O fígado tem a capacidade de remover solutos presentes no sangue, medicamentos ingeridos e substâncias que podem ter efeito tóxico sobre o organismo tais como, elementos químicos, compostos orgânicos, substâncias tóxicas de plantas, entre outros (BOYER, 1996). Por isso é de grande importância realizar um estudo morfológico desse órgão quando se testa alguma substância nova em ensaios pré-clínicos, pois algumas substâncias causam efeitos nocivos ao fígado trazendo prejuízos à saúde. Exemplo disso é a Tacrina (Cognex®), um dos medicamentos utilizados no tratamento da doença de Alzheimer, que foi retirada do mercado por apresentar ação

hepatotóxica (KIM et al., 2004).

Na figura 2 podemos observar as micrografias dos fígados dos animais tratados com guatterriopsiscina, com salina e com veículo e observou-se que não houve presença de lesão nos hepatócitos dos animais tratados com guatterriopsiscina.

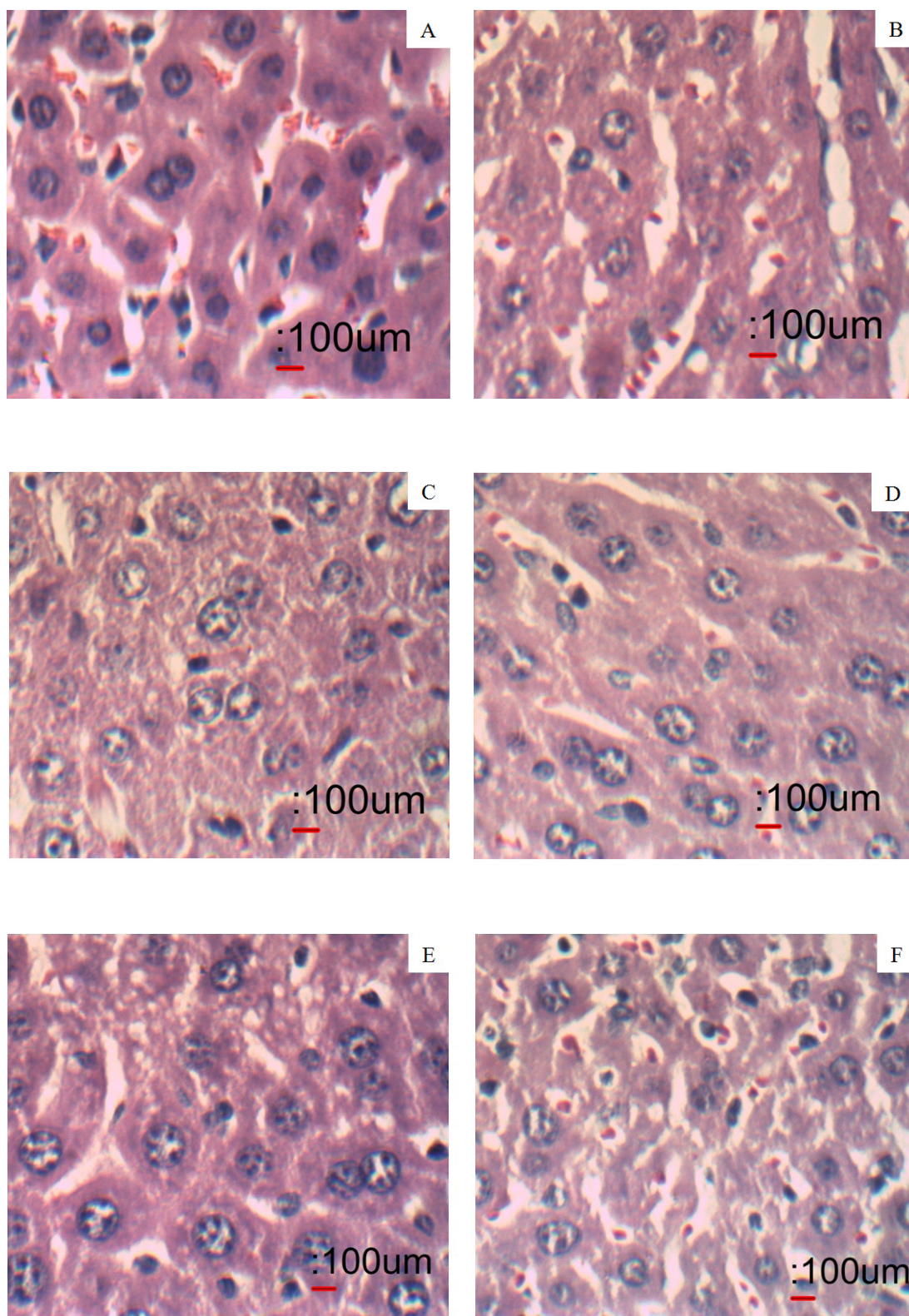


Figura 2 – Micrografias de fígados de camundongos Swiss tratados com salina (A); DMSO (B); guatterriopsiscina 0,1 mg/Kg (C); guatterriopsiscina 1,0 mg/Kg (D); guatterriopsiscina 5,0 mg/Kg (E) e rivastigmina 2,0 mg/Kg (F).

Lâminas histológicas coradas com hematoxilina-eosina. Aumento: objetiva 40x.

De acordo com Klaassen e Watkins (2012) a magnitude do dano causado por substâncias químicas sobre o fígado depende da intensidade da ação, do tipo de células afetadas e se a exposição foi aguda ou crônica. Os hepatócitos e ductos biliares podem ser acometidos pelos seguintes tipos de danos: esteatose hepática, morte dos hepatócitos, resposta imune-mediada, colestase canalicular, dano no ducto biliar, dano sinusoidal, fibrose e cirrose e tumores.

Todavia, na tentativa de reverter esses danos, os hepatócitos elevam a atividade das enzimas de fase I as quais convertem agentes tóxicos em metabólitos eletrofílicos, além de produzir, também, grande quantidade de enzimas de fase II, as quais adicionam um grupo polar a uma molécula e, em consequência, favorecem sua remoção do organismo e é esse balanço entre reações de fase I e de fase II que determina se o metabólito ativo iniciará a lesão celular ou será detoxificado.

Portanto, o conhecimento da hepatotoxicidade induzida por fármacos e outras substâncias químicas deve ser estudada incluindo modelos *in vitro* e *in vivo*, inclusive usando hepatócitos de tecido humano, além da combinação com abordagens genômicas e proteômicas.

4 | CONCLUSÕES

A guatterioipsiscina é uma substância capaz de inibir a ação da enzima acetilcolinesterase. Além disso, o tratamento com esse alcaloide não apresentou alterações significativas no hemograma e nem alterações morfológicas no fígado em camundongos, porém um estudo toxicológico mais amplo deve ser feito, uma vez que este estudo verificou os efeitos agudos da administração de guatterioipsiscina. Dessa forma, a continuação de estudos com esse alcaloide mostra-se promissora para sua aplicação na terapêutica da doença de Alzheimer.

REFERÊNCIAS

AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. **Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals.** Journal of Ethnopharmacology, v. 83, p. 209-217, 2002.

BALLONE, G.J. **Doença de Alzheimer.** Disponível em <http://www.psiqweb.med.br/geriat/alzh.html>, acesso em 15 de agosto de 2001.

BIHUN, C. **Basic anatomy, physiology, husbandry, and clinical techniques.** In: Hillyer EV, Quesenberry KE. Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 295-306, 1997.

COSTA, E.V. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Guatterioipsis blepharophylla*, *Guatterioipsisfriesiana* e *Guatterioipsis hispida* (Annonaceae).** 2009. 380f. Tese (Doutorado – Área Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. Paraná.

COSTA, E.V.; CRUZ, P.E.O.; PINHEIRO, M.L.B.; MARQUES, F.A.; RUIZ, A.L.T.G.; MARCHETTI,

G.M.; CARVALHO, J.E.; BARISON, A.; MAIA, B.H.L.N.S. **Aporphine and tetrahydroprotoberberine alkaloids from the leaves of *Gutteria friesiana* (Annonaceae) and their cytotoxic activities.** Journal Brazilian Chemical Society, v. 24, p. 788-796, 2013.

CRAIG, L.A.; HONG, N.S.; MCDONALD, R.J. **Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease.** Neuroscience & Biobehavioral Reviews, v. 35, p. 1397-1409, 2011.

DASTMALCHI, K.; DAMIEN, D.H.J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. **Plants as potential sources for drug development against Alzheimer's disease.** International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, v. 1, p. 83-104, 2007.

ELLMAN, G. L., Courtney, D. K., Andres, V. Jr., Featherstone, R. M. **A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.** Biochemical Pharmacology v.7, p. 88-95, 1961.

FEITOSA, C.M.; COSTA-JR, J.S.; COSTA, E.V.; CAVALCANTE, A.N.; SILVA, V.L. **Compostos antioxidantes em frutas e a doença de Alzheimer.** In: FEITOSA, C.M. (Org). Plantas medicinais e a doença de Alzheimer. 1ª ed. Campinas, SP: Editora Átomo, 2015a.

FEITOSA, C.M.; FEITOSA, D.M.; MELO, C.H.S.; CHAVES, S.K.M. **Considerações sobre a doença de Alzheimer.** In: FEITOSA, C.M. (Org). Plantas medicinais e a doença de Alzheimer. 1ª ed. Campinas, SP: Editora Átomo, 2015b.

FERNÁNDEZ, I.; PEÑA, A.; DEL TESO, N.; PÉREZ, V.; RODRÍGUEZ, J.C. **Clinical biochemistry parameters in C57BL/6J mice after blood collection from the submandibular vein and retroorbital plexus.** Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v. 49, p. 202-206, 2010.

GUILLEM, K.; BLOEM, B.; POORTHUIS, R.B.; LOOS, M.; SMIT, A.B.; MASKOS, U.; SPIJKER, S.; MANSVELDER, H.D. **Nicotinic acetylcholine receptor $\beta 2$ subunits in the medial prefrontal cortex control attention.** Science, v. 333, p. 888-891, 2011.

HEINECKE H. **Das blutbild der maus (eine übersicht) in das normale qualitative blutbild.** Zeits Versuchstierk, v. 1, p. 16-37, 1961.

HRAPKIEWICZ, K.; MEDINA, L.; HOLMES, D. D. **Clinical laboratory animal medicine an introduction.** 2ª ed.: Iowa State University Press, p. 277, 1998.

KARRAN, E.; MERCKEN, M.; STOOPER, B.D. **The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics.** Nature Reviews Drug Discovery, v. 10, p. 698-712, 2011.

KIM, Y.C et al. **Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*.** Journal of Ethnopharmacology, v. 95, p. 421-424, 2004.

KLAASSEN, C.D.; WATKINS III, J.B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull (Lange).** 2ª ed. Porto Alegre-RS : AMGH Editora, 2012.

LÚCIO, A.S.S.C.; ALMEIDA, J.R.G.S.; DA-CUNHA, E.V.L.; TAVARES, J.F.; BARBOSA FILHO, J.M. **Alkaloids of the Annonaceae: occurrence and a compilation of their biological activities.** The Alkaloids, v. 74, p. 1-177, 2014.

MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110399>>. Acesso em: 03 Mar. 2015. Última edição por Lobão, A. acesso em 13/09/2014.

MALONE, M.H. **Pharmacological approaches to natural products screening and evaluation.** In: WAGNER, H.; WOLF, P. *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity.* Berlin: Springer Verlag, 23p, 1977.

MASLIAH, E.; MALLORY, M.; ALFORD, M.; DE TERESA, R.; HANSEN, L.A.; MCKEEL JR, D.W.; MORRIS, J.C. **Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease.** *Neurology*, v. 56, p. 127-129, 2001.

PETTERINO, C.; ARGENTINO-STORINO, A. **Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies.** *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 57, p. 213-219, 2006.

SELKOE, D.J. **The Molecular Pathology of Alzheimer's Disease.** *Neuron*, v. 6, p. 487-498, 1991.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. **A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos.** *Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul*, v. 30 (suplemento), n.1, 2008.

SPINELLI, M.O; CRUZ, R.J.; GODOY, C.M.S.; MOTTA, M.C. **Comparação dos parâmetros bioquímicos de camundongos criados em diferentes condições sanitárias.** *Scientia Plena*, v. 8, p. 322-328, 2012.

SPIRES-JONES, T.L.; HYMAN, B.T. **The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease.** *Neuron*, v. 82, p. 756-771, 2014.

WAYNFORTH, B.H. **Injection techniques.** In: *Experimental and Surgical Techniques in the Rat.* London: Academic Press, 1980.

SOBRE A ORGANIZADORA

CARMEN LÚCIA VOIGT Doutora em Química na área de Química Analítica e Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Especialista em Química para a Educação Básica pela Universidade Estadual de Londrina. Graduada em Licenciatura em Química pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Experiência há mais de 10 anos na área de Educação com ênfase em avaliação de matérias-primas, técnicas analíticas, ensino de ciências e química e gestão ambiental. Das diferentes atividades desenvolvidas destaca-se uma atuação por resultado, como: supervisora de laboratórios na indústria de alimentos; professora de ensino médio; professora de ensino superior atuando em várias graduações; professora de pós-graduação lato sensu; palestrante; pesquisadora; avaliadora de artigos e projetos; revisora de revistas científicas; membro de bancas examinadoras de trabalhos de conclusão de cursos de graduação. Autora de artigos científicos. Atuou em laboratório multiusuário com utilização de técnicas avançadas de caracterização e identificação de amostras para pesquisa e pós-graduação em instituição estadual.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acetilcolinesterase 21

C

Células a combustível 10

E

Eletrocatalisadores 12

Eletrodo de pasta de carbono 59

F

Fotorreatores 40

G

Grafeno dopado com nitrogênio 11

O

Óxido de cariofileno 54

Q

Química 2, 5, 2, 8, 9, 10, 21, 30, 33, 51, 52, 64, 66

T

Tecnologia 10, 40, 66

V

Voltametria 55

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-507-5

