

# Princípios em Farmácia 2



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)

# Princípios em Farmácia 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> 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

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P957	Princípios em farmácia 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha, Maria Vitória Laurindo. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Princípios em Farmácia; v. 2)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia. ISBN 978-85-7247-509-9 DOI 10.22533/at.ed.099190208  1. Farmácia. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Laurindo, Maria Vitória. IV. Série.  CDD 615
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A obra “Princípios da Farmácia 2” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 9 capítulos, a qual apresenta contribuições originais para a pesquisa clínica na área da farmácia, além de perfil de consumo de medicamento e padrões de produção.

A pesquisa e o desenvolvimento de medicamentos é um processo que se inicia com a pesquisa básica de um novo composto, passando em seguida para os ensaios pré-clínicos, os ensaios clínicos e finalizados com o registro do medicamento. É um processo longo, burocrático contínuo e interligado que envolve diversos profissionais, perpassando desde a utilização, prevenção de reações adversas, a aspectos regulatórios e epidemiológicos.

Desta forma, com o intuito de colaborar com os dados já existentes na literatura, este volume traz atualizações sobre o desenvolvimento, padrões de produção e utilização de medicamentos, bem como perfis epidemiológicos atualizando e capacitando futuros profissionais da área, assim esta obra é dedicada tanto à população de forma geral, quanto aos profissionais e estudantes da área da saúde. Dessa forma, os artigos apresentados neste volume abordam: a Diversidade nas alterações da hemoglobina associada às hemoglobinopatias; aspectos gerais e imunológicos das doenças inflamatórias pulmonares e o uso da *Punica granatum* L. como produto natural anti-inflamatório; estudo preliminar do efeito fotoquimioprotetor de *Campomanesi aguaviroba* frente à radiação uvb; influência da proteína ligadora do retinol 4 (rbp4) no desenvolvimento de resistência insulínica em obesos; magnésio como condutor do calcio: prevenção e tratamento de osteoporose e infarto agudo do miocárdio; padrão de consumo do metilfenidato em uma instituição de ensino superior; utilização do *brief medication questionnaire* na avaliação da adesão de pacientes iniciantes em terapia antirretroviral, dentre outros temas pertinentes na atualidade.

Sendo assim, almejamos que este livro possa colaborar com informações relevantes aos estudantes e profissionais de saúde que se interessarem por pesquisa original em farmácia, nos campos de desenvolvimento de medicamentos, testes farmacocômicos, exploração de doenças, testes e perfis epidemiológicos colaborando e instigando-os a conhecer o desenvolvimento de novas drogas e impacto social e econômico do seu uso pela sociedade.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ASPECTOS GERAIS E IMUNOLÓGICOS DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS PULMONARES E O USO DA <i>Punica granatum</i> L. COMO PRODUTO NATURAL ANTI-INFLAMATÓRIO	
Aruanã Joaquim Matheus Costa Rodrigues Pinheiro Lídio Gonçalves Lima Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902081</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>10</b>
ESTUDO PRELIMINAR DO EFEITO FOTOQUIMIOPROTETOR DE <i>Campomanesia guaviroba</i> FRENTE À RADIAÇÃO UVB	
Lilian dos Anjos Oliveira Ferreira Camila Cristina Iwanaga Rúbia Casagrande Celso Vataru Nakamura Maria da Conceição Torrado Truiti	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902082</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>21</b>
INFLUÊNCIA DA PROTEÍNA LIGADORA DO RETINOL 4 (RBP4) NO DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIA INSULÍNICA EM OBESOS	
Eduardo Ottobelli Chielle Eliandra Mirlei Rossi Eliane Maria de Carli	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902083</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>31</b>
CONTEXTO HISTÓRICO, ASPECTOS REGULATÓRIOS E SITUAÇÃO ATUAL DO SETOR FARMOQUÍMICO NO BRASIL	
Aline Silva Ferreira Williana Tôrres Vilela Alinne Élide Gonçalves Alves Tabosa Adriana Eun He Koo Yun Alessandra Cristina Silva Barros Natália Millena da Silva Thâmara Carollyne de Luna Rocha Débora Dolores Souza da Silva Nascimento Ilka do Nascimento Gomes Barbosa Rosali Maria Ferreira da Silva Pedro José Rolim Neto Mônica Felts de La Roca Soares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902084</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>43</b>
MAGNÉSIO COMO CONDUTOR DO CÁLCIO: PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE OSTEOPOROSE E INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO.	
Bianca Roberta Silva Laure Daniela Rodrigues Chaves Mara Christina Hott	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902085</b>	

<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>54</b>
PADRÃO DE CONSUMO DO METILFENIDATO EM UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR	
Álvaro Paulo Silva Souza	
Alexsander Augusto da Silveira	
Adibe Georges Khouri	
Sandra Oliveira Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902086</b>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>67</b>
UTILIZAÇÃO DO <i>BRIEF MEDICATION QUESTIONNAIRE</i> NA AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE PACIENTES INICIANTE EM TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	
Patrícia de Oliveira França	
Igor Magalhães Sales	
Mateus Fregona Pezzin	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902087</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>79</b>
PERFIL DOS PACIENTES DIABÉTICOS CADASTRADOS NO PROGRAMA FARMÁCIA POPULAR DO BRASIL NO MUNICÍPIO DE TEÓFILO OTONI- MG	
Ellen Colen de Carvalho	
Wilke Salomão de Carvalho	
Luciano Evangelista Moreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.0991902088</b>	
<b>SOBRE OS ORGANIZADORES</b> .....	<b>92</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>93</b>

## ESTUDO PRELIMINAR DO EFEITO FOTOQUIMIOPROTETOR DE *Campomanesia guaviroba* FRENTE À RADIAÇÃO UVB

### **Lilian dos Anjos Oliveira Ferreira**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná

### **Camila Cristina Iwanaga**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná

### **Rúbia Casagrande**

Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

### **Celso Vataru Nakamura**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná

### **Maria da Conceição Torrado Truiti**

Universidade Estadual de Maringá  
Maringá – Paraná

**RESUMO:** Os raios UV são responsáveis por lesões cutâneas mediadas pelo estresse oxidativo, levando ao fotoenvelhecimento e até ao desenvolvimento de cânceres. Insumos vegetais antioxidantes vêm sendo estudados como alternativa para a prevenção/atenuação dos efeitos deletérios dessa radiação na pele. *Campomanesia guaviroba* D.C Kiaersk (Myrtaceae), espécie nativa ainda pouco estudada, pertence a gênero com espécies com potencial antioxidante, podendo ser fonte promissora de agentes ativos contra a radiação UVB. O objetivo deste trabalho foi determinar o

teor de fenólicos totais, atividade antioxidante, citotoxicidade e potencial fotoquimioprotetor de insumos vegetais obtidos das folhas *C. guaviroba* em fibroblastos L929 irradiados com UVB. O extrato etanólico (EE, 597,7 mg EAG/g) e a fração acetato de etila (FA, 592,09 mg EAG/g) apresentaram elevado teor de fenólicos. FA mostrou maior poder redutor do ferro (1,02 mM ET/g) e melhor capacidade de sequestro dos radicais DPPH $\cdot$  (IC<sub>50</sub> 5,66  $\mu$ g/mL), ABTS $^{+\cdot}$  (4,67 mM ET/g de amostra) e O<sub>2</sub> $^{\cdot-}$  (IC<sub>50</sub> 0,04  $\mu$ g/mL), demonstrando atividade antioxidante comparável aos antioxidantes BHT e quercetina. O EE (9,05  $\mu$ g/mL) e FA (5,66  $\mu$ g/mL) não demonstraram citotoxicidade em fibroblastos tratados por 24 h. Fibroblastos irradiados com UVB (500 mJ/cm<sup>2</sup>) foram submetidos aos pré- e pós-tratamentos com EE e FA. Os melhores efeitos fotoquimioprotetores foram observados no pré-tratamento, com a FA restaurando a viabilidade celular em 19,57 % quando comparado ao grupo controle (células irradiadas e não tratadas). Os resultados obtidos demonstram que insumos obtidos de *C. guaviroba* são promissores para o desenvolvimento de formulações para o cuidado da pele.

**PALAVRAS-CHAVE:** Myrtaceae; atividade antioxidante; fotoquimioproteção; fibroblastos; radiação UVB.



**ABSTRACT:** UV rays are responsible for cutaneous lesions mediated by oxidative stress, leading to photoaging and even the development of cancers. Plant materials antioxidants have been studied as an alternative for the prevention/mitigation of the deleterious effects of this radiation on the skin. *Campomanesia guaviroba* D.C. Kiaersk (Myrtaceae) is a native species still little studied. It belongs to genus with species with antioxidant potential and can be promising source of active agents against UVB radiation. The aim of this work was to determine the total phenolic content, antioxidant activity, cytotoxicity and photochemioprotective potential of plant materials obtained from *C. guaviroba* leaves on L929 fibroblasts irradiated with UVB. The ethanol extract (EE, 597.7 mg GAE/g) and the ethyl acetate fraction (EAF, 592.09 mg GAE/g) showed a high phenolic content. EAF showed higher ferric reducing power (1.02 mM ET/g) and better scavenging ability of DPPH<sup>•</sup> (IC<sub>50</sub> 5.66 µg/mL), ABTS<sup>•+</sup> (4.67 mM ET/g sample) and O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (IC<sub>50</sub> 0.04 µg/mL), demonstrating antioxidant capacity comparable to antioxidants BHT and quercetin. EE (9.05 µg/mL) and EAF (5.66 µg/mL) showed no cytotoxicity in fibroblasts treated with them for 24 h. Fibroblasts irradiated with UVB (500 mJ/cm<sup>2</sup>) were submitted to pre- and post-treatment with EE and EAF. The best photochemioprotective effect was observed in pre-treatment, with EAF restoring cell viability by 19.57% compared with the irradiated unprotected cells. The findings demonstrate that plant materials obtained from *C. guaviroba* are promising for the development of formulations for skin care.

**KEYWORDS:** Myrtaceae; antioxidant activity; photochemioprotection; fibroblasts; UVB radiation.

## 1 | INTRODUÇÃO

Por ser um órgão de grande extensão e que está em contato direto com o meio ambiente, a pele humana sofre influências físicas e bioquímicas dos seus diferentes agentes agressores, dentre eles a radiação ultravioleta (UV).

A radiação UV é dividida em UVC (100-280 nm), UVB (280-320 nm) e UVA (320-400 nm). Atingem a superfície do planeta, principalmente, os raios UVB e UVA. A radiação UVB é mais energética do que a UVA, atravessando a epiderme e atingindo até mesmo as camadas superiores da derme, causando a maioria das lesões de pele de percepção imediata como o eritema ou queimadura solar, pigmentação e ressecamento, além do envelhecimento precoce (BURKE, 2017; SCHUELLER; ROMANOWSKI, 2000). Ainda, UVB é absorvido diretamente no DNA celular, o que geralmente leva à formação de dímeros de pirimidina de ciclobutano e de fotoprodutos de pirimidina (6-4) pirimidona, podendo resultar em queratoses actínicas pré-cancerosas, carcinomas e melanoma (BURKE, 2017; KNAK et al., 2014) but also environmental pollutants significantly damage exposed skin by several mechanisms.

Exposure to the noxious gases of air pollution with simultaneous exposure to UVA can act synergistically to initiate skin cancer. Also ozone generated from pollutants reacting with UV induces oxidative stress of the skin's surface via formation of lipid peroxidation products, with cascading consequences to deeper layers. Furthermore, new studies have demonstrated that particulate matter (PM).

Os raios UVB estimulam a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), além disso, exposição intensa e constante a essa radiação também reduz a capacidade antioxidante natural da pele, causando um desequilíbrio e podendo levar ao estresse oxidativo, associado a diferentes alterações cutâneas. Assim, UVB aumenta o risco de distúrbios cutâneos mediados por processos inflamatórios e estresse oxidativo (SOUZA et al., 2018).

O uso de protetores solares é importante no cuidado da pele, no entanto, seus ingredientes ativos, os filtros solares, atuam filtrando ou refletindo a radiação UV. O uso de antioxidantes em produtos separados ou em associação a esses filtros em protetores solares agregam uma proteção cutânea suplementar, por serem ativos na inibição da formação e/ou neutralização de ERO, podendo prevenir o fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese (CHEN et al., 2012; MELLADO et al., 2012).

A utilização de insumos vegetais na forma de extratos ou frações vem ganhando notoriedade por sua capacidade antioxidante, e devido a suas composições complexas que podem prevenir/atenuar os efeitos deletérios provocados pela radiação UV por diferentes mecanismos.

Espécies de *Campomanesia* (Myrtaceae) são utilizadas na medicina popular como anti-inflamatório, antirreumático, antidiarreico, antisséptico e hipocolesterolêmico. Além disso, extratos ou metabólitos isolados de *C. adamantium*, *C. xanthocarpa*, *C. phaea* e *C. lineatifolia* demonstraram ótimo potencial antioxidante (COUTINHO et al., 2010; MADALOSSO et al., 2012; CZAIKOSKI et al., 2015; DONADO-PESTANA et al., 2015).

Nesse contexto, neste trabalho foi avaliada a capacidade antioxidante, além da citotoxicidade e do efeito fotoquimioprotetor em fibroblastos L929 irradiados com UVB de insumos obtidos das folhas de *C. guaviroba* D.C Kiaersk, espécie nativa ainda pouco estudada.

## 2 | METODOLOGIAS

### 2.1 Material Vegetal

Amostras vegetativas (folhas) foram coletadas em março de 2015, no Parque do Cinquentenário, Maringá – PR. Exsiccatas encontram-se depositadas no herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM nº 19793). Após secagem em estufa de ar circulante a 40°C, o material vegetal foi moído em moinho de facas e adequadamente armazenado.

## 2.2 Obtenção e Fracionamento do Extrato Etanólico (EE)

O extrato foi obtido por percolação em temperatura ambiente. Após remoção do etanol, em evaporador rotativo, e liofilização foram obtidos 142,3 g do EE. Parte de EE (71,1 g) foi dissolvido em metanol:H<sub>2</sub>O (1:1; v/v) e particionado em solventes de diferentes polaridades, resultando, após liofilização, nas frações *n*-hexano (FH, 16,6 g), acetato de etila (FA, 31,3 g) e hidrometanólica (FM, 18,8 g).

## 2.3 Determinação do Teor de Fenólicos Totais (FT)

Cem microlitros da solução metanólica das amostras (4 mg/mL) foram adicionados a 250  $\mu$ L de solução aquosa do reagente de Folin-Ciocalteu (1:1 v/v) e 1 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 15%, e o volume completado para 5 mL com água destilada. Após 2 h, a absorbância foi medida a 760 nm (espectrofotômetro UV-Vis Metash, UV-5100) tendo como branco o metanol e todos os reagentes, menos a amostra (SINGLETON; ROSSI, 1965). Uma curva de calibração foi construída com ácido gálico (0,05–0,15 mg/mL) e o FT expresso em mg EAG/g de amostra. Os ensaios foram realizados em triplicata.

## 2.4 Avaliação *in vitro* da Capacidade Antioxidante

### 2.4.1 Método DPPH

Um mililitro da solução metanólica das amostras em diferentes concentrações foi adicionado a 2,0 mL de solução metanólica de 2,2'-difetil-1-picrilhidrazil (DPPH $\cdot$ ; 0,06 mg/mL). Após 30 min de reação, protegido da luz, a absorbância foi medida a 516 nm. A porcentagem de inibição do DPPH $\cdot$  foi calculada pela equação  $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$ , onde  $A_0$  é o valor da absorbância da solução de DPPH $\cdot$  na ausência da amostra e  $A_1$  na presença da amostra (EL-MASSRY et al., 2002). Os ensaios foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como concentração da amostra necessária para inibir 50% (IC<sub>50</sub>) do DPPH $\cdot$ . A atividade dos antioxidantes butil hidroxitolueno (BHT) e quercetina (QT) também foi avaliada.

### 2.4.2 Método do ABTS

Uma solução de ABTS $^{+\cdot}$  [2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] foi preparada a partir da reação de 5 mL de solução de ABTS (7 mM) com 88  $\mu$ L de solução de persulfato de potássio (140 mM), em temperatura ambiente e mantida no escuro por 16 h antes do uso. A solução de ABTS $^{+\cdot}$  foi diluída com etanol até obter uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm. Foram adicionados 30  $\mu$ L da solução da amostra em diferentes concentrações a 3,0 mL da solução diluída de ABTS $^{+\cdot}$ . A mistura foi mantida no escuro por 6 min e a absorbância foi medida a 734 nm. Como branco foi utilizado etanol (RE et al., 1999). Foi construída uma curva de calibração

de Trolox (0,001-2,5 mM), sendo a capacidade antioxidante expressa em mM ET/g de amostra. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.4.3 Método FRAP

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) foi realizado de acordo com Rufino et al. (2006), com algumas modificações. O reagente FRAP foi preparado a partir de solução tampão acetato (300 mM, pH 3,6), solução de tripiridiltriazina (10 mM) e solução de  $\text{FeCl}_3$  (20 mM) na proporção de 10:1:1 (v/v/v). A solução metanólica da amostra (90  $\mu\text{L}$ ) foi adicionada a 270  $\mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. A mistura foi homogeneizada e incubada a 37°C por 30 min, no escuro. A absorbância foi medida em 595 nm em comparação ao branco. Uma curva de calibração foi construída com Trolox (0,001-1,0 mM) e os resultados expressos em mM ET/g de amostra. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.4.4 Método xantina oxidase

A capacidade das amostras em sequestrar o radical ânion superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) foi avaliada pelo método de inibição da quimioluminescência gerada no sistema xantina/luminol/xantina oxidase (XO). Em 400  $\mu\text{L}$  de uma solução de EDTA 1 mM e tampão glicina 100 mM pH 9,4 serão adicionados 150  $\mu\text{L}$  de xantina (6 mM), 10  $\mu\text{L}$  da amostra e 10  $\mu\text{L}$  de uma solução de luminol (0,6 mM). Cem microlitros de XO (2,2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) foram adicionados à reação (GIROTTI et al., 2000). A leitura foi realizada em luminômetro (Autolumat LB 953). A porcentagem de sequestro do  $\text{O}_2^{\cdot-}$  foi calculada pela equação  $(L_0 - L_1 / L_0) \times 100$ , onde  $L_0$  é o valor de luminescência na ausência da amostra e  $L_1$  na presença da amostra. Os resultados foram expressos como  $\text{IC}_{50}$ . Os ensaios foram realizados em triplicata.

## 2.5 Avaliação *in vitro* da Citotoxicidade e da Atividade Fotoquimioprotetora

### 2.5.1 Cultura de células

Fibroblastos L929 (L-M[TK-] [LM{tk-}, LMTK-]) (ATCC® CCL-1.3™) foram cultivados e mantidos em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de sulfato de estreptomicina e 100 UI/mL de penicilina, a 37°C /5% de  $\text{CO}_2$  e 95% de umidade.

### 2.5.2 Avaliação da citotoxicidade

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio do vermelho neutro (VN) (BORENFREUND; PUERNER, 1985). Fibroblastos foram semeados em microplacas de 96 poços ( $2,5 \times 10^5$  células/poço), incubados a 37°C/5% de  $\text{CO}_2$  por 24 h, até

a formação da monocamada, e então tratados por 24 h com a  $IC_{50}$  dos insumos com maior potencial antioxidante ou da QT, verificada no método do DPPH'. Após o tratamento, as células foram lavadas com PBS (tampão fosfato de salina), foram adicionados 200  $\mu$ L/poço de VN (4 mg/mL) e a placa foi incubada por 3 h a 37°C, protegida da luz. A absorbância foi medida em 540 nm em espectrofotômetro de microplacas (Bio Tek, Power Wave XS). A porcentagem de células viáveis foi calculada em relação ao grupo controle sem tratamento.

### 2.5.3 Avaliação do efeito fotoquimioprotetor frente aos raios UVB

A irradiação UVB foi realizada em caixas de irradiação equipadas com duas lâmpadas UVB (Philips, TL 40W/12 RS). A intensidade de radiação foi monitorada através de radiômetro (Vilber Lourmat, VLX-3W). A dose de irradiação capaz de diminuir em aproximadamente 40% a viabilidade dos fibroblastos (500 mJ/cm<sup>2</sup>) foi determinada por análise de regressão linear e utilizada para avaliar o potencial fotoquimioprotetor das amostras. As células foram lavadas com HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution*) e submetidas aos tratamentos:

- Pré-tratamento: as células foram tratadas por 1 h com EE (9,05  $\mu$ g/mL) ou FA (5,66  $\mu$ g/mL) ou QT (2,90  $\mu$ g/mL). O sobrenadante foi substituído por HBSS e as células foram irradiadas.

- Pós-tratamento: foram adicionados 500  $\mu$ L de HBSS, as células foram irradiadas e tratadas por 1 h com EE ou FA ou QT.

Após, as células foram incubadas durante 24 h com DMEM isento de SFB e submetidas ao ensaio VN para avaliação da viabilidade celular. Os ensaios foram acompanhados por grupos controle.

## 2.6 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA (one-way) seguido pelo teste de Tukey, considerando  $p < 0,05$  significativo.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A crescente preocupação com os efeitos fotobioquímicos deletérios que a radiação UV exerce na pele humana, incluindo processos oxidativos, inflamatórios, imunossupressores e alterações físicas, que podem levar ao fotoenvelhecimento e até mesmo ao desenvolvimento de cânceres, tem estimulado a busca por produtos naturais, principalmente os de origem vegetal, capazes de os prevenir/atenuar (BOSE et al., 2017).

Insumos vegetais são capazes de fotoproteger a pele de diferentes formas. Como antioxidantes sequestram / neutralizam ERO, as quais quando em excesso promovem estresse oxidativo, podendo causar danos a biomoléculas, tais como

DNA, proteínas e lipídios, comprometendo estruturas celulares fundamentais. Podem também, dentre outras, atuar na inibição de vias pró-inflamatórias e estímulo da resposta imune (ADHAMI et al., 2008; BOSE et al., 2017; PANICH et al., 2016). Desse modo, insumos vegetais antioxidantes são importantes alternativas para minimizar os efeitos deletérios cutâneos ocasionados pela radiação UV, uma vez que agentes antioxidantes são capazes de prevenir ou retardar danos oxidativos celulares.

Dentre os metabólitos secundários que auxiliam no combate aos fotodanos estão os compostos fenólicos, conhecidos pela sua multifuncionalidade biológica, e que atuam principalmente por mecanismos antioxidantes, por exemplo, quelando metais de transição, doando átomos de hidrogênio provenientes das hidroxilas presentes em sua estrutura aromática e interrompendo reações em cadeia geradas por radicais livres (MIN; EBELER, 2008). Por isso, a quantificação de FT pode auxiliar na busca por insumos vegetais bioativos. O EE e FA apresentaram elevado teor de compostos fenólicos (Tabela 1).

Amostra	FT (mg EAG/g de amostra)	DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL)	ABTS (mM ET/g de amostra)	FRAP (mM ET/g de amostra)	XOD IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EE	597,70 ± 5,44 <sup>a</sup>	9,05 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,94 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,58 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,00 <sup>a</sup>
FH	nd	89,05 ± 1,51 <sup>b</sup>	1,71 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,07 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,74 ± 0,02 <sup>b</sup>
FA	592,09 ± 4,40 <sup>a</sup>	5,66 ± 0,08 <sup>c</sup>	4,67 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,02 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,04 ± 0,00 <sup>c</sup>
FM	239,16 ± 1,81 <sup>b</sup>	9,37 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,27 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,55 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,18 ± 0,05 <sup>d</sup>
BHT	-	12,44 ± 0,50 <sup>d</sup>	-	-	-
QT	-	2,90 ± 0,01 <sup>e</sup>	-	-	-

Tabela 1. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante do extrato etanólico (EE), obtido das folhas de *Campomanesia guaviroba*, de suas frações *n*-hexano (FH), acetato de etila (FA) e hidrometanólica (FM), do butil hidroxitolueno (BHT) e da quercetina (QT)

Dados experimentais: média ± desvio padrão. nd = não detectado. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (p-valor < 0,05).

A capacidade antioxidante dos insumos vegetais foi inicialmente avaliada por métodos amplamente utilizados na busca e triagem de novos agentes antioxidantes, como o do DPPH, do ABTS e do FRAP. O método DPPH avalia a habilidade de redução do radical livre estável DPPH<sup>•</sup> por substâncias doadoras de átomos de hidrogênio ou elétrons. De acordo com os valores de IC<sub>50</sub> obtidos por esse método os insumos são classificados como ótimos (IC<sub>50</sub> < 15 µg/mL), bons (IC<sub>50</sub> de 15 a 50 µg/mL), medianos (IC<sub>50</sub> de 50 a 100 µg/mL) e fracos (IC<sub>50</sub> > 100 µg/mL) (MARTINS et al., 2016). O método ABTS é baseado na capacidade de estabilização do radical pré-formado ABTS<sup>•+</sup> por substâncias doadoras de elétrons. E o método FRAP demonstra o poder de redução do complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe<sup>3+</sup> – TPTZ) em complexo ferroso (Fe<sup>2+</sup> - TPTZ) por substâncias doadoras de elétrons (RE et al., 1999; RUFINO

et al., 2006).

FA, EE e FM apresentaram ótima capacidade de sequestro do DPPH<sup>•</sup>, superior à verificada para o antioxidante sintético BHT, amplamente utilizado. Considerável capacidade de neutralizar o radical ABTS<sup>•+</sup> e de redução dos íons Fe<sup>+3</sup> a Fe<sup>+2</sup> também foi verificada para esses três insumos (Tabela 1).

Adicionalmente, a capacidade antioxidante foi avaliada pelo método XO, que avalia a habilidade da amostra em sequestrar o O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, presente no processo de estresse oxidativo. A exposição à radiação UV pode resultar na produção de diferentes ERO, dentre elas o O<sub>2</sub><sup>•-</sup> relacionado com a indução de danos oxidativos e inflamatórios e formação de outras espécies reativas como o radical hidroxil (PANICH et al., 2016).

A capacidade de sequestro do O<sub>2</sub><sup>•-</sup> foi mensurada pelo sistema xantina/luminol/xantina oxidase, no qual o O<sub>2</sub><sup>•-</sup> é resultante da reação da xantina oxidase com o substrato xantina na presença de O<sub>2</sub>. Posteriormente o luminol é oxidado pelo O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e emite luz. Dessa forma, são proporcionais a quantidade de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e luz emitida pelo luminol. Substâncias antioxidantes são avaliadas pela sua capacidade em sequestrar os radicais O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, diminuindo assim a luminescência no sistema (VAZ, 2013). A FA demonstrou excelente capacidade de sequestro dos radicais O<sub>2</sub><sup>•-</sup> (Tabela 1) comparável ao antioxidante natural QT (0,14 µg/mL) (OLIVEIRA et al., 2018).

Culturas de células presentes na pele têm sido frequentemente utilizadas para avaliar o efeito fotoquimioprotetor de insumos vegetais, particularmente as de fibroblastos (JUNG et al., 2014; THIESEN et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; SOUZA, DE et al., 2018), que são de fácil cultivo e respondem aos estímulos provocados pela radiação UV.

Os diferentes tipos celulares cutâneos reagem à exposição intensa à radiação UV, levando, por exemplo, à formação de ERO e conseqüente redução da viabilidade celular. Ainda, a incidência de raios UV promove a redução, em número e tamanho, dos fibroblastos (OLIVEIRA et al., 2018). Assim, os efeitos citotóxicos do EE e FA, que apresentaram maior potencial antioxidante, foram avaliados em fibroblastos L929 com a concentração inibitória para 50% do radical DPPH<sup>•</sup>. EE (9,05 µg/mL) e FA (5,66 µg/mL) não demonstraram citotoxicidade, não diferindo significativamente do controle negativo (CN, células cultivadas e não tratadas) nem da QT (2,90 µg/mL) (Figura 1A).

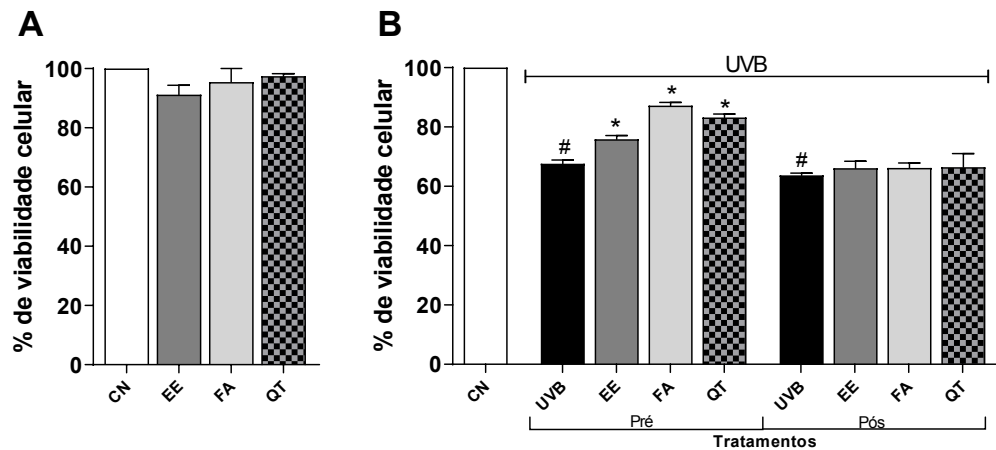


Figura 1. Citotoxicidade em fibroblastos L929 tratados com extrato etanólico (EE, 9,05  $\mu\text{g/mL}$ ) ou com fração acetato de etila (FA, 5,66  $\mu\text{g/mL}$ ) ou com quercetina (QT, 2,90  $\mu\text{g/mL}$ ) por 24 h (A). Efeito fotoquimioprotetor de EE, FA e QT em fibroblastos L929 irradiados com UVB (500  $\text{mJ/cm}^2$ ). Células foram tratadas por 1 h antes (Pré) ou por 1 h depois da irradiação (Pós) (B). #p-valor <0,05 indica diferença significativa quando comparada ao controle não irradiado e não tratado (CN). \*p-valor <0,05 indica diferença significativa quando comparada ao controle irradiado e não tratado (UVB).

Estudos recentes reportam que insumos vegetais ricos em compostos fenólicos combatem os efeitos deletérios provocados pela radiação UV devido suas propriedades antioxidantes. A viabilidade celular foi substancialmente aumentada quando fibroblastos foram pré-tratados durante 24h com o extrato metanólico (10  $\mu\text{g/mL}$ ) da casca do caule de *Pinus densiflora* e expostos à radiação UVB (100  $\text{mJ/cm}^2$ ) (JUNG et al., 2014), com o EE das folhas de *Litchi chinensis* (10  $\mu\text{g/mL}$ ) em fibroblastos irradiados com UVB (35  $\text{mJ/cm}^2$ ) (THIESEN et al., 2017) e com EE ou EAF (10  $\mu\text{g/mL}$ ) das folhas de *Nectandra hihua* e expostos à radiação UVB (600  $\text{mJ/cm}^2$ ) (OLIVEIRA et al., 2018). Neste estudo, foi avaliada a capacidade fotoquimioprotetora do EE (9,05  $\mu\text{g/mL}$ ) e da FA (5,66  $\mu\text{g/mL}$ ) das folhas de *C. guaviroba* em fibroblastos pré- e pós-tratados e irradiados com UVB (500  $\text{mJ/cm}^2$ ) (Figura 1B). A irradiação com UVB reduziu a viabilidade dos fibroblastos L929 em ambos os tratamentos. Não foi observada citoproteção significativa para nenhuma das amostras testadas no pós-tratamento. O melhor efeito fotoquimioprotetor foi verificado no pré-tratamento com FA, que restaurou a viabilidade celular em 19,6%, próximo significativamente ao da QT (15,6%), em comparação ao controle irradiado e não tratado. Os resultados obtidos confirmam o potencial desses insumos na prevenção de danos cutâneos oxidativos.

#### 4 | CONCLUSÃO

Os presentes dados mostram que os insumos obtidos das folhas de *C. guaviroba* apresentam grande potencial antioxidante e de fotoproteção aos fibroblastos expostos



à radiação UVB, especialmente FA, justificando a continuidade dos estudos por terem demonstrado serem promissores ingredientes ativos para o desenvolvimento de formulações para o cuidado da pele.

## REFERÊNCIAS

- ADHAMI, V. M.; SYED, D. N.; KHAN, N.; AFAQ, F. Phytochemicals for prevention of solar ultraviolet. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, p. 489–500, 2008.
- BORENFREUND, E.; PUERNER, J. A. Toxicity determined *in vitro* by morphological alterations and neutral red absorption. **Toxicology Letters**, v. 24, p. 119–124, 1985.
- BOSE, B.; CHOUDHURY, H.; TANDON, P.; KUMARIA, S. Studies on secondary metabolite profiling , anti-inflammatory potential , *in vitro* photoprotective and skin-aging related enzyme inhibitory activities of *Malaxis acuminata* , a threatened orchid of nutraceutical importance. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 173, p. 686–695, 2017.
- BURKE, K. E. Mechanisms of aging and development - A new understanding of environmental damage to the skin and prevention with topical antioxidants. **Mechanisms of Ageing and Development**, p. 1–8, 2017.
- CHANCHAL, D.; SWARNLATA, S. Herbal photoprotective formulations and their evaluation. **The Open Natural Products Journal**, v. 2, p. 71–76, 2009.
- CHEN, L.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, 2012.
- COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G.; VIEIRA, M. C.; CARDOSO, C. A. L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* ( Cambess .) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 322–327, 2010.
- CZAIKOSKI, K.; MESOMO, M. C.; KRÜGER, R. L.; QUEIROGA, C. L.; CORAZZA, M. L. Extraction of *Campomanesia xanthocarpa* fruit using supercritical CO<sub>2</sub> and bioactivity assessments. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 79–85, 2015.
- DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR, T.; FESTUCCIA, W. T.; GENOVESE, M. I. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O . Berg ) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat , high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 69, p. 170–178, 2015.
- EL-MASSRY, K. F.; EL-GHORAB, A. H.; FAROUK, A. Antioxidant activity and volatile components of *Egyptian Artemisia judaica* L. **Food Chemistry**, v. 79, p. 331–336, 2002.
- GIROTTI, S.; FINI, F.; FERRI, E.; BUDINI, R.; PIAZZI, S.; CANTAGALLI, D. Determination of superoxide dismutase in erythrocytes by a chemiluminescent assay. **Talanta**, v. 51, p. 685–692, 2000.
- JUNG, H.; SHIN, J.; PARK, S.; KIM, N.; KWAK, W.; CHOI, B. *Pinus densiflora* extract protects human skin fibroblasts against UVB-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs and increasing type I procollagen expression. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 658–666, 2014.
- KNAK, A.; REGENSBURGER, J.; MAISCH, T.; BÄUMLER, W. Exposure of vitamins to UVB and UVA radiation generates singlet oxygen. **Photochemical & Photobiological Sciences**, 2014.

MADALOSSO, R. C.; OLIVEIRA, G. C.; MARTINS, M. T.; VIEIRA, A. E. D.; BARBOSA, J.; CALIARI, M. V.; CASTILHO, R. O.; TAGLIATI, C. A. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. as a gastroprotective agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 3, p. 772–779, 2012.

MARTINS, F. J.; CANESCHI, C. A.; VIEIRA, J. L. F.; BARBOSA, W.; RAPOSO, N. R. B. Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 161, p. 34–39, 2016.

MELLADO, M.; MADRID, A.; JARA, C.; ESPINOZA, L. Antioxidant effects of *Muehlenbeckia hastulata* J. (Polygonaceae) extracts. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 2, p. 1301–1304, 2012.

MIN, K.; EBELER, S. E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 96–104, 2008.

OLIVEIRA, M. M. DE; DARÉ, R. G.; BARIZÃO, É. O.; VISENTAINER, J. V.; ROMAGNOLO, M. B.; NAKAMURA, C. V.; TRUITI, M. C. T. Photodamage attenuating potential of *Nectandra hihua* against UVB-induced oxidative stress in L929 fibroblasts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 181, p. 127–133, 2018.

PANICH, U.; SITTITHUMCHAREE, G.; RATHVIBOON, N.; JIRAWATNOTAI, S. Ultraviolet radiation-induced skin aging: the role of DNA damage and oxidative stress in epidermal stem cell damage mediated skin aging. **Stem Cells International**, v. 2016, 2016.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; MIN, Y.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; et al. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. 2006.

SCHUELLER, R. ROMANOWSKI, P. Introdução aos produtos fotoprotetores. **cosmetics & toiletries**, p. 60–67, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SOUZA, R. O. DE; ASSIS DIAS ALVES, G. DE; AGUILLERA, A. L. S.; ROGEZ, H.; FONSECA, M. J. V. Photochemoprotective effect of a fraction of a partially purified extract of *Byrsonima crassifolia* leaves against UVB-induced oxidative stress in fibroblasts and hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2018.

THIESEN, L. C.; BACCARIN, T.; FISCHER-MULLER, A. F.; MEYRE-SILVA, C.; COUTO, A. G.; BRESOLIN, T. M. B.; SANTIN, J. R. Photochemoprotective effects against UVA and UVB irradiation and photosafety assessment of Litchi chinensis leaves extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2017.

VAZ, M. M. DE O. L. L. **A quimioluminescência na quantificação da penetração de componentes antioxidantes do extrato de açaí na pele**, 2013. Universidade de São paulo.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Adesão 67, 74, 75, 77, 78, 90, 91

Antirretroviral 68, 77

Avaliação 13, 14, 15, 42, 66, 71, 77, 90

### B

Brasil 1, 22, 24, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 47, 55, 61, 63, 65, 66, 68, 71, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 87, 88, 89, 90, 91

Brief Medication Questionnaire 67, 68, 69, 77

### C

Consumo 65, 66

### D

Diabetes 29, 30, 77, 79, 80, 81, 82, 84, 85, 89, 90

### E

Ensino superior 83

Estudos 18, 23, 42, 65, 80

### F

Farmacêutico 92

Farmácia 2, 5, 1, 43, 79, 81, 82, 83, 88, 89, 90, 92

### H

HIV 67, 68, 69, 70, 71, 74, 75, 77, 78

### I

Infarto Agudo 53

Influença 19, 89

Insulina 24

### M

Magnésio 43, 44, 45, 53

Metilfenidato 54, 60, 66

Miocárdio 53

## **O**

Obesos 27

Osteoporose 53

## **P**

Pacientes 21, 77

Perfil 83

Pesquisa e Desenvolvimento 41

## **R**

Resistência 21, 22

## **S**

Saúde Pública 42, 77, 78, 91

## **T**

Terapia 67, 68, 77

Tratamento 78, 90, 91

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-509-9

