



Revista Eletrônica de

FARMÁCIA

Electronic Journal of Pharmacy



Referência:

Publicação da Faculdade de Farmácia
Universidade Federal de Goiás (UFG)
Volume XII, número 3, 2015
REF – ISSN 1808–0804
<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>





Revista Eletrônica de

FARMÁCIA

Electronic Journal of Pharmacy

Volume XII, n. 3, 2015

REF – ISSN 1808 – 0804

<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

Reitor

Orlando Afonso Valle do Amaral

Vice-Reitor

Manoel Rodrigues Chaves

Pró-Reitor de Pós Graduação

José Alexandre Felizola Diniz Filho

Diretor do CEGRAF/UFG

Antonio Corbacho Quintela

FACULDADE DE FARMÁCIA

Direção

Maria Teresa Freitas Bara

Telma Alves Garcia

REVISTA ELETRÔNICA DE FARMÁCIA

Editor

Flávio Marques Lopes

Diretoria Executiva

Flávio Marques Lopes

Virgínia Farias Alves

EDITORES ASSOCIADOS

Marcela Jiron, Universidad de Chile

Francisca Cléa Florenço de Sousa, Universidade Federal do Ceará (UFC)

Marta Maria de França Fonteles, Universidade Federal do Ceará (UFC)

Silvana Nair Leite, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Valdes Roberto Bollela, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP)

Ester Massae Okamoto Dalla Costa, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Silvania Maria Mendes Vasconcelos, Universidade Federal do Ceará (UFC)

Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal, Universidade Federal do Ceará (UFC)

Jacqueline Costa TeixeiraCaramori, Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Divaldo Pereira de Lyra Jr., Universidade Federal de Sergipe (UFS)

André de Oliveira Baldoni, Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ)

Oswaldo Freitas, Universidade de São Paulo (USP)

Valdir Cechinel Filho, Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI)

CORPO EDITORIAL CIENTÍFICO

Ieda Maria Barbosa Aleluia, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Nicolina Silvana Romano-Lieber, Faculdade de Saúde Pública (USP)

RosuitaFratarari Bonito, Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Rafael Linden, Universidade Feevale

Luciano De Oliveira Siqueira, Universidade de Passo Fundo (UPF)

Cristiane Barelli, Universidade de Passo Fundo (UPF)

Camilo MolinoGuidoni, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Denis De Melo Soares, Universidade Federal Da Bahia (UFBA)

Gilberto Marcelo Sperandio da Silva, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Danielle Macêdo Gaspar, Universidade Federal Do Ceará (UFC)

Nirla Rodrigues Romero, Universidade Federal Do Ceará (UFC)

Mirian Parente Monteiro, Universidade Federal Do Ceará (UFC)

Wellington Barros Da Silva, Universidade Federal De Sergipe (UFS)

Selma Rodrigues De Castilho, Universidade Federal Fluminense (UFF)

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Ester Massae Okamoto Dalla Costa, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Paulo Sergio Dourado Arrais, Universidade Federal do Ceará (UFC)

Harnoldo Colares Coelho, Universidade de São Paulo (USP)

Julierme Silva, Universidade Federal de Goiás (UFG)

Monique de Brito, Universidade Federal Fluminense (UFF)

Cristiane dos Santos Giubert, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

Robson Roney Bernardo, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

RegisPiloniMaestri, Universidade Federal do Pará (UFPA)

Júlio Cezar Merlin, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Servio Tulio Stingham, Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI)

SECRETÁRIO EXECUTIVO

Valdir Souza Jorge, Universidade Federal de Goiás (UFG)

ESTAGIÁRIOS

Gabriela Guimarães Bessa, Universidade Federal de Goiás (UFG)
Jânio Barbosa Pereira Júnior, Universidade Federal de Goiás (UFG)

REVISÃO

Português
Camila Di Assis
Janaynne C. do Amaral

Inglês
Caius Brandão

Espanhol
Bruna Mundim Tavares
Fabiene Riány Azevedo Batista

PROJETO GRÁFICO E EDITORAÇÃO

Igor Oliveira Augstroze Aguiar

PADRONIZAÇÃO EDITORIAL

Divisão de Periódicos – CEGRAF/UFG

APOIO ESPECIAL

Programa de Apoio às Publicações Periódicas Científicas da UFG

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Seção de Normalização CEGRAF/ UFG

R454 Revista Eletrônica de Farmácia [Recurso eletrônico] = Electronic Journal of Pharmacy. v. 12, n. 3 (2015) -. Goiânia : UFG, 2015.

Semestral

Disponível em: <<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>>.

ISSN: 1808-0804

1. Revista Eletrônica de Farmácia. 2. Universidade Federal de Goiás.
3. Faculdade de Farmácia. I. Título.

CDU 615.12

Catalogação na fonte: Carminda de Aguiar Pereira CRB12974 e Natalia Rocha CRB1 3054

INDEXADA EM:

Directorio de Publicaciones Científicas Seriadadas de America Latina (LATINDEX)
Directory of Open Journal System (Doaj)
Biblioteca do Centro Universitário da Grande Dourados
EBSCOhost Online Research Databases
Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD)
Scholar Google – Google Acadêmico

CONTATO

Revista Eletrônica de Farmácia, Faculdade de Farmácia
Rua 240, esquina com 5ª Avenida s/n Setor Leste Universitário
CEP: 74605-170 Goiânia/Goiás - Brasil.
Telefone: (62) 3209 6452

SUMÁRIO

TESTE DA ANTIGLOBULINA HUMANA: UMA REVISÃO DE LITERATURA	5
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CARIOGÊNICO DE ANTI-HISTAMÍNICOS DE USO PEDIÁTRICO	15
ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS VERSUS EFEITO OBESOGÊNICO SOB A ÓPTICA DA QUÍMICA FARMACÉUTICA	23
FÁRMACOS PARA TURBINAR O CÉREBRO, USO POR QUEM PRETENDE ENTRAR NA UNIVERSIDADE	36
ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF VULPINIC ACID AT GLASSYVARBON ELECTRODE	43

TESTE DA ANTIGLOBULINA HUMANA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Alexandre Gomes Vizzoni* e Flavia Regina Medeiros da Silva

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz)

*E-mail: alexandre.vizzoni@gmail.com

Submetido em: 20/01/2015

Aceito em: 14/07/2015

Publicado em: 30/09/2015

Resumo

O teste de antiglobulina pode ser utilizado na detecção de hemácias sensibilizadas por aloanticorpos, autoanticorpos e/ou componentes do complemento. A sensibilização pode ocorrer *in vivo* ou *in vitro*. A detecção da sensibilização das hemácias *in vivo* é determinada pelo teste de antiglobulina direta ou Coombs direto, enquanto que a sensibilização *in vitro* é determinada pela técnica de antiglobulina indireta ou coombs indireto, podendo ser aplicada para os testes de compatibilidade, triagem de anticorpos irregulares, identificação de anticorpos irregulares, fenotipagem eritrocitária e estudos de titulação de anticorpos. A interpretação de um teste de antiglobulina positivo exige o conhecimento do diagnóstico do paciente, avaliação das medicações em uso, gravidez e história transfusional, assim como a informação de presença de anemia hemolítica autoimune. O fenótipo eritrocitário do paciente deve ser avaliado com cautela quando o teste de antiglobulina direto é positivo, uma vez que com as hemácias recobertas por anticorpos podem ocorrer resultados falso-positivos. As hemácias teste para a realização da técnica de antiglobulina indireta devem ter fenótipo previamente conhecido (hemácias R_1R_1 e R_2R_2) com a finalidade de possibilitar a identificação de anticorpos que apresentem efeito de dose. Somente o resultado sorológico do teste não é diagnóstico, devendo ser avaliado em conjunto com os dados clínicos e demais dados laboratoriais, tais como: hematócrito, bilirrubina, haptoglobina e contagem de reticulócitos.

Palavras-chave: Teste de Coombs, Técnicas Imunológicas, Reações Antígeno-Anticorpo.

Human Antiglobulin Test: a Literature Review

Abstract

The antiglobulin test can be used for detection of sensitized erythrocytes by alloantibodies, autoantibodies and/or complement components. Sensitization can occur *in vivo* or *in vitro*. The detection of *in vivo* sensitized erythrocytes is determined by direct antiglobulin test or direct Coombs, whereas the *in vitro* sensitization is determined by the indirect antiglobulin technique or indirect Coombs. It can be applied for compatibility testing, screening of irregular antibodies, identification of irregular antibodies, erythrocyte phenotyping, and antibody titration studies. The interpretation of a positive antiglobulin test requires knowledge of the patient's diagnosis, evaluation of medications, pregnancy and transfusion history, as well as information of the presence of autoimmune hemolytic anemia. The patient's erythrocyte phenotype should be evaluated with caution when direct antiglobulin test is positive since red blood cells coated with antibody can cause false-positive results. The red blood cells test for carrying out the indirect antiglobulin technique must have previously known phenotype (R_1R_1 RBC and R_2R_2) in order to allow the detection of antibodies that show dosage effect. The result of serological test alone is not a diagnostic and should, therefore, be evaluated in conjunction with other clinical and laboratory data, such as hematocrit, bilirubin, haptoglobin, and reticulocyte count.

Keywords: Coombs' Test, Immunological Techniques, Antigen-Antibody Reactions.

La Prueba de Antiglobulina Humana: Una Revisión de la Literatura

Resumen

La prueba de antiglobulina se puede utilizar para detectar hematíes sensibilizados por aloanticuerpos, autoanticuerpos y/o componentes del complemento. La sensibilización puede ocurrir *in vivo* o *in vitro*. La detección de la sensibilización de las hematíes *in vivo* es determinada por la prueba de antiglobulina directa o Coombs directa, mientras que la sensibilización *in vitro* es determinada por la técnica de antiglobulina indirecta o Coombs indirecta, pudiendo ser aplicada para las pruebas de compatibilidad, la selección de anticuerpos irregulares, identificación de anticuerpos irregulares, fenotipificación de eritrocitos y estudios de titulación de anticuerpos. La interpretación de una prueba de antiglobulina positiva requiere el conocimiento de diagnóstico del paciente, la evaluación de medicamentos en uso, el embarazo y la historia de la transfusión, así como la información de la presencia de anemia hemolítica autoinmune. El fenotipo de los eritrocitos del paciente debe ser evaluado con precaución cuando la prueba de antiglobulina directa es positiva, ya que las hemtaíes recubiertas con anticuerpos pueden ocurrir resultados falsos-positivos. La prueba de las hematíes para la realización de la técnica de antiglobulina indirecta deben tener fenotipo previamente conocido (hematíes R₁R₁ y R₂R₂) a fin de posibilitar la identificación de anticuerpos que presenten efecto de dosis. Solo el resultado serológico de la prueba no es diagnóstico, debiendo ser evaluado en conjunto con los datos clínicos y demás datos laboratoriales, tales como: hematocrito, la bilirrubina, haptoglobina y recuento de reticulocitos.

Palabras clave: Prueba de Coombs, Técnicas Inmunológicas, Reacciones Antígeno-Anticuerpo.

1. INTRODUÇÃO

Em 1945, Coombs, Mourant e Race produziram o soro de antiglobulina humana a partir da injeção de soro humano ou seus componentes purificados em coelhos. Embora tenham sido fundamentais em introduzir o teste de antiglobulina à sorologia de grupos sanguíneos, o princípio do teste já tinha sido descrito por Moreschi, em 1908, não sendo divulgado na época⁽¹⁻²⁾. A descoberta foi de grande importância para a medicina transfusional, pois a partir daí foi possível a detecção de vários anticorpos incompletos que não causavam aglutinação das hemácias em meio salino, como os anticorpos do sistema Rh (D) envolvidos na doença hemolítica do recém-nascido e do feto e na anemia hemolítica autoimune⁽³⁻⁴⁾.

A IgM e a IgG são os anticorpos de maior importância clínica relacionados aos grupos sanguíneos. Anticorpos da classe IgM, têm uma estrutura pentamérica, e são capazes de aglutinar diretamente as hemácias em meio salino. Anticorpos da classe IgG sensibilizam as hemácias sem causar aglutinação eritrocitária, e são considerados "incompletos"⁽⁴⁾. A detecção de hemácias sensibilizadas por IgG é realizada pela adição de antiglobulina humana (AGH) ou anti-IgG, que causa a aglutinação eritrocitária. A utilização da AGH pode ser considerada a maior descoberta da medicina transfusional depois do sistema ABO^(1,4).

O teste de antiglobulina ao utilizar a anti-IgG humana permite reconhecer a fração Fc do anticorpo fixado na membrana das hemácias sensibilizadas, dessa forma, as duas porções Fab dos heteroanticorpos contidos no soro AGH, formam uma ligação entre os anticorpos humanos, resultando no fenômeno da aglutinação^(1,3,5).

2. TIPOS DE REAGENTES DE ANTIGLOBULINA HUMANA

Os soros de antiglobulinas humanas podem ser:

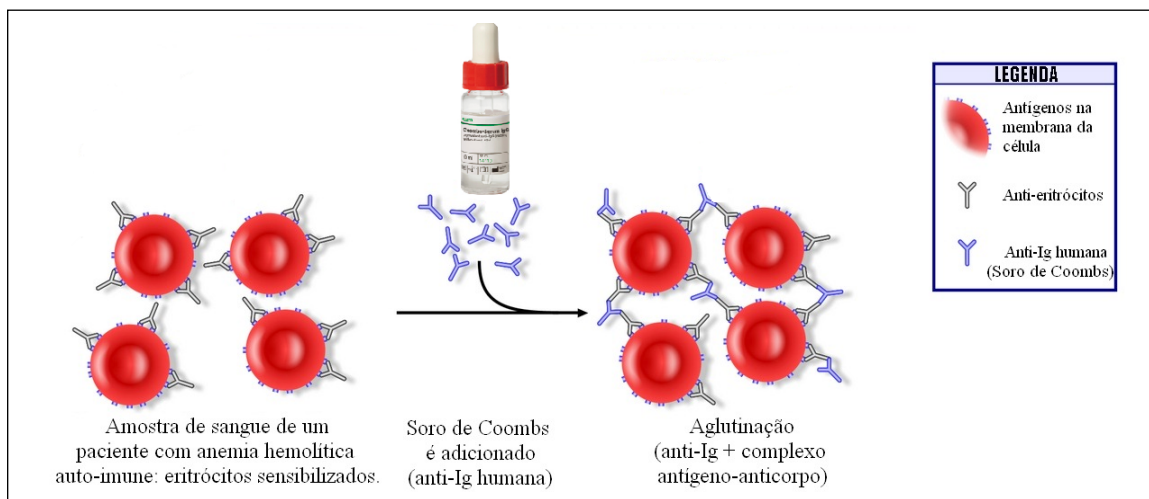
- a) Poliespecíficos:** Podem ser policlonais, monoclonais ou mistos. Contêm anticorpos contra IgG humana e contra frações do complemento C3 (C3b, C3c e/ou C3d)^(1,3).
- b) Monoespecíficos:** Podem ser policlonais ou monoclonais. Contém apenas uma especificidade de anticorpos, anticorpos anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA ou anticorpos para componentes específicos do complemento como C3b, C3c ou C3d^(1,3).
- c) Anti-IgG:** Não contém atividade anticomplemento. Contêm anticorpos específicos para o fragmento Fc da cadeia pesada gama da molécula de IgG. Está presente nos soros monoespecíficos^(1,3).
- d) Anticomplemento:** São reativos apenas contra componentes do complemento, não tendo atividade contra imunoglobulinas humanas. Está presente nos soros poliespecíficos^(1,3).

2.1 Aplicação do teste de antiglobulina humana

a) Teste da antiglobulina direto (alguns autores: teste direto da antiglobulina)

Também conhecido como Teste da Antiglobulina Direto (TAD) ou Coombs Direto (CD), é considerado um método simples para detectar a sensibilização *in vivo* de hemácias com IgG e/ou componentes do complemento, de acordo com o soro de antiglobulina humana utilizado (figura 1). Pode ser realizado pela técnica em tubo ou gel-teste⁽⁶⁾. O método em tubo é realizado após a adição de hemácias a serem testadas, previamente lavadas com solução fisiológica por 3 vezes a 0,9%, e a adição do reagente de antiglobulina humana. A lavagem das hemácias é uma etapa fundamental, pois tem a finalidade principal de remoção de globulinas humanas e evitar a neutralização do soro de Coombs.

Figura 1: Representação esquemática do teste de Coombs direto.

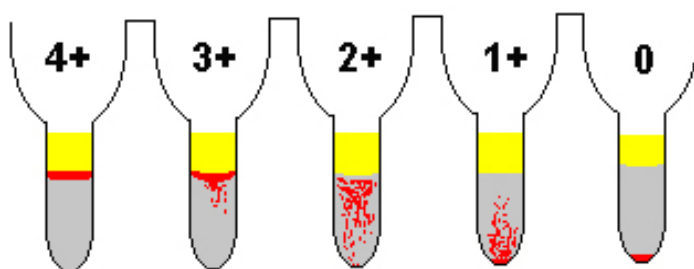


Fonte: Adaptado de: http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php

O método de gel-teste é realizado com a adição de hemácias comerciais diluídas aproximadamente a 0,8% ao cartão gel contendo o soro de AGH e, geralmente não há necessidade de lavagem prévia das hemácias teste^(3,5,7). Entretanto, resultados falso-positivos por este método podem ser elucidados se o teste for repetido com a utilização de cartão monoclonal ou células previamente lavadas com salina ou ID-Diluyente 2 pré-aquecidos a 40°C⁽⁸⁾.

A aglutinação ocorre nos microtubos durante o estágio de centrifugação. As hemácias, que são mais densas que o gel, tendem a passar através dele. Quando as hemácias não são aglutinadas por anticorpos, sedimentam-se no fundo da coluna. Quando formam aglutinados, pela ação dos anticorpos, as hemácias são retidas pelo gel durante a centrifugação, podendo apresentar padrões de intensidade de 1 a 4 cruzes quando positivas (figura 2).

Figura 2: padrão de intensidade de reação em gel teste.



Condições clínicas para um TAD positivo⁽⁹⁻¹⁰⁾:

1. Doença hemolítica do recém-nascido e do feto: Detecta hemácias fetais ou do recém-nascido sensibilizadas *in vivo* por anticorpos IgG provenientes da mãe.
2. Reação transfusional hemolítica: Geralmente demonstra a presença de IgG ou C3d, ou ambos, dependendo da natureza e especificidade do anticorpo do receptor, principalmente após pacientes terem sido submetidos a transfusão de sangue com fenótipo incompatível.
3. Anemia hemolítica autoimune (AHA) e induzida por drogas: Pacientes com anemia hemolítica autoimune por anticorpos quentes podem apresentar hemácias sensibilizadas por IgG e/ou componentes do complemento⁽¹¹⁻¹²⁾. É sabido ainda que certos fármacos como a metildopa podem desencadear reações positivas nos testes de TAD.

Um teste de antiglobulina direto com resultado positivo pode ser encontrado em 1 em 1.000 a 1:14.000 doadores de sangue saudáveis⁽¹³⁾, sem aparente hemólise. A importância deste achado não é clara, mas alguns indivíduos podem desenvolver anemia hemolítica autoimune (AHA) ou câncer⁽¹⁴⁾. O TAD é positivo em 7 a 15 % das amostras de pacientes hospitalizados. Dessa forma, ressalta-se a importância da realização do TAD e a devida correlação clínica do paciente.

b) Teste da antiglobulina indireto (alguns autores: teste indireto da antiglobulina)

O teste da antiglobulina indireto (TAI) ou Coombs Indireto detecta a presença de anticorpos não-ABO livres no soro/plasma. O TAI utiliza pelo menos duas hemácias reagentes do grupo O RhD positivo com fenótipo conhecido, contendo a maioria dos antígenos clinicamente importantes para os sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, Lewis, P, Lutheran e mais recentemente, a inclusão do antígeno Dia⁽¹⁵⁾. O painel de triagem de anticorpos é representado por um diagrama, onde estão relacionados à constituição antigênica de cada célula de avaliação, sendo fornecido a cada lote pelo fabricante (figura 3).

Figura 3: Diagrama para triagem de anticorpos irregulares.

DIAGRAMA PARA TRIAGEM DE ANTICORPOS																					
Sistema	Rh					Kell		MNS				Kidd		Duffy		Lewis		P	Lutheran		
Células	D	C	E	c	e	K	k	M	N	S	s	J	Jk	Fy ^a	Fy ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	Lu ^a	Lu ^b	
I	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+
II	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	+

O TAI tem como princípio colocar as hemácias fenotipadas em contato com soro ou plasma do indivíduo, buscando evidenciar a presença de anticorpos na amostra analisada. No método em tubo, a técnica deve incluir pelo menos três fases (figura 4):

- Temperatura ambiente (fase salina)
- Incubação 37° (fase térmica)
- Antiglobulina humana (fase de AGH)

Entre a fase térmica e a fase de antiglobulina humana, deve-se proceder a lavagem das hemácias com solução fisiológica, compreendendo uma etapa crucial do teste⁽¹⁶⁾.

Figura 4: Método em tubo do teste de antiglobulina indireto. Estão representadas as fases de temperatura ambiente, incubação a 37°C, lavagem das hemácias e antiglobulina humana.

Pequenas variações da técnica em tubo podem ocorrer dependendo do emprego de substâncias potencializadoras⁽¹⁷⁻¹⁸⁾, como a adição de albumina, polietilenoglicol (PEG) ou enzimas proteolíticas. No método em gel-teste a leitura é realizada diretamente na fase antiglobulina humana. A presença de aglutinação, em qualquer uma das fases pelo método em tubo ou na fase de antiglobulina pelo método de gel-centrifugação, revela a presença de anticorpos irregulares. Uma vez detectada a presença de anticorpos irregulares, o mesmo deverá ser identificado⁽¹⁸⁻¹⁹⁾.

O teste de antiglobulina indireto é frequentemente utilizado para^(3,4,9):

- 1. Fenotipagem eritrocitária:** Para detectar antígenos eritrocitários em testes que interagem com anticorpos conhecidos do soro reagente, como por exemplo, anti-D para determinar D fraco, anti-Kell para determinar antígeno Kell, entre outros. Na fenotipagem de alguns antígenos eritrocitários, como por exemplo, o antígeno M e o antígeno N, utiliza-se antissoros monoclonais que aglutinam as hemácias sem a necessidade do soro de Coombs. Isso se deve pelo fato desses anticorpos serem compostos de anticorpos de classe IgM.
- 2. Pesquisa de anticorpos irregulares:** Para detectar anticorpos irregulares na amostra de soro ou plasma em teste contra antígenos presentes nas hemácias de triagem. É um teste muito utilizado para monitorar mulheres no período gestacional, principalmente as Rh (D) negativo por apresentar grande possibilidade de desenvolver aloanticorpos.
- 3. Prova de compatibilidade ou prova cruzada:** Para detectar anticorpos presentes no soro ou plasma do receptor contra antígenos presentes nas hemácias do doador.
- 4. Identificação de anticorpos irregulares:** Após uma triagem inicial que indica a presença de anticorpo irregular na amostra analisada, procede-se uma identificação do mesmo, com o objetivo de determinar a sua especificidade. Este teste é extremamente útil em gestantes e pacientes candidatos a transfusão de sangue com pesquisa de anticorpos positiva.

3. IMPORTÂNCIA DO USO DAS HEMÁCIAS FENOTIPADAS NA TÉCNICA DA ANTIGLOBULINA HUMANA

O teste de antiglobulina humana indireto baseia-se na reação de aglutinação das hemácias de triagem antígeno correspondente ao anticorpo presente no soro ou plasma estudado. Como mencionado anteriormente, hemácias de triagem são no mínimo duas hemácias do grupo O, em suspensão de 0,8 a 3 % dependendo do fabricante e método utilizado. Essas hemácias devem cumprir com as recomendações e orientações para os procedimentos de compatibilidade em laboratórios de transfusão de sangue e, os seguintes antígenos eritrocitários devem estar expressos nestas células de triagem: D, C, E, c, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, Le^a, M, N, S, s^(2,4,20).

Recomenda-se que uma das células de triagem deva ser R₁R₁ e a outra R₂R₂, onde os antígenos Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b estejam presentes. Os antígenos S e s devem ser representados nas células de triagem com expressão homocigótica, ou seja, elas visam evitar o efeito de dose (anticorpos reagem mais fracamente ou podem não reagir com hemácias em que os antígenos estão expressos em heterocigose, por exemplo, Jk^a/Jk^b). As hemácias de triagem não devem ser reunidas em pool⁽²⁰⁾.

De acordo com o trabalho realizado pelo Hemocentro Regional de Guarapuava/PR, geralmente, grande parte dos laboratórios de análises clínicas realiza os testes de antiglobulina indireto utilizando hemácias do grupo O, Rh(D) positivo, não fenotipadas para os demais antígenos dos outros sistemas clinicamente importantes. Desta forma, os antígenos que deveriam estar presentes na membrana das hemácias tipo O, podem estar ausentes, o que ocasionaria um resultado falso-negativo, causado pelas hemácias normalmente adquiridas aleatoriamente pelos laboratórios em geral, dentre um pool de clientes previamente classificados como O Rh (D) positivo, do próprio laboratório⁽²¹⁾.

O conhecimento do fenótipo das hemácias de triagem e da identificação de anticorpos é extremamente importante e necessário, evitando que resultados falso-negativos ocorram pelo emprego inadequado das hemácias selecionadas para o teste⁽²²⁾.

Num estudo realizado por Furlan e Merisio (2011) no Hemonúcleo de Francisco Beltrão/PR, foram pesquisados 172 pacientes, e constatou-se que alguns antígenos eritrocitários não estavam presentes nas membranas das hemácias dos pacientes: C=35%, c=16%, E=72%, e=05%, K=97%, k=0,1%, Kp^a= 94%, Kp^b=0,1%, Jk^a=19%, Jk^b= 30%, Le^a=87%, Le^b=33%, Fy^a=28%, Fy^b=17%. Observou-se que 41% dos pacientes pesquisados eram do tipo O⁽⁷⁾. Dessa forma, um paciente que apresente um anticorpo anti-Kell, ao se realizar aleatoriamente a compatibilidade entre o soro deste paciente e as hemácias de doadores de grupo O positivo não fenotipadas previamente, a probabilidade dessas hemácias conterem o antígeno Kell e detectar o anticorpo é de 39,7% (P= 0,41 x 0,97).

Dessa forma, fica evidente que utilizar hemácias selecionadas aleatoriamente, sem o conhecimento prévio dos fenótipos, pode ocasionar grave erro na execução do teste. Anticorpos clinicamente significativos podem não ser evidenciados, resultando num teste falso-negativo. A não detecção de um anticorpo clinicamente significante (anti-K, anti-c, entre outros) pode ocasionar a destruição dos eritrócitos^(23, 24), causando anemia e consequente liberação de hemoglobina (hemólise), que será metabolizada até bilirrubina indireta. O neonato é incapaz de conjugar com eficiência a bilirrubina indireta, provocando hiperbilirrubinemia, em seu grau mais avançado o Kernicterus (que é uma síndrome neurológica devido à bilirrubina indireta (não conjugada ou lipossolúvel), que atravessa a barreira hematoencefálica e se deposita nos núcleos cerebelares e na base do cérebro, sendo considerada uma lesão cerebral irreversível), hidropsia e muito frequentemente o óbito⁽²⁵⁻²⁶⁾.

4. IMPORTÂNCIA DAS HEMÁCIAS CONTROLE (HEMÁCIAS SENSIBILIZADAS POR IGG) NO TESTE DE ANTIGLOBULINA

O resultado negativo de um teste de antiglobulina precisa ser validado com o uso das hemácias controle de AGH ou controle de Coombs. As hemácias controle são previamente sensibilizadas por anticorpos IgG e, quando adicionadas em tubo com teste de antiglobulina negativo, devem aglutinar-se pela presença do soro AGH. A aglutinação das hemácias controla e comprova a eficácia do soro AGH e também que as lavagens prévias foram realizadas corretamente^(3,4,10).

5. CONCLUSÃO

O teste da antiglobulina (também chamado teste de Coombs) baseia-se no princípio de que, globulinas anti-humanas (AGH) obtidas a partir de espécies não humanas imunizadas, se ligam a globulinas humanas, tais como: IgG ou complemento, seja livre no soro ou ligado a antígenos nas hemácias.

Existem dois tipos principais de anticorpos de grupo sanguíneo, IgM e IgG. Devido à sua grande estrutura de pentâmero, os anticorpos IgM ligam-se aos antígenos correspondentes suspensos em soro fisiológico e os aglutinam diretamente. Os anticorpos IgG são denominados não aglutinantes, porque a sua estrutura é pequena (monômero) e dessa forma não possui a capacidade de aglutinar diretamente as hemácias sensibilizadas. A adição de AHG contendo anti-IgG permite a aglutinação das células sensibilizadas.

O teste de antiglobulina contribui diretamente para o diagnóstico da anemia autoimune, pois sua positividade confirma que o anticorpo foi fixado *in vivo* à hemácia do paciente, auxiliando dessa forma o diagnóstico diferencial com outras anemias hemolíticas, como as causadas por alterações da hemoglobina ou da estrutura da hemácia. É importante também no diagnóstico das anemias hemolíticas do recém-nascido e das anemias induzidas por drogas.

Embora o teste de Coombs seja extremamente sensível, um resultado negativo não exclui a presença de anticorpos ligados às hemácias. Neste caso, testes complementares como a eluição de anticorpos podem ser necessários para a confirmação de sua positividade.

Anticorpos clinicamente significantes são aqueles capazes de se ligar à membrana eritrocitária na temperatura corpórea, reduzirem a sobrevivência das hemácias circulantes e atravessarem a barreira placentária. Estes anticorpos reagem após incubação a 37°C e são detectados pelo teste indireto da antiglobulina.

Os reagentes utilizados na pesquisa de anticorpos antieritrocitários são compostos, no mínimo, de hemácias de dois fenótipos distintos. Estas hemácias devem ser fenotipadas para os principais antígenos eritrocitários, cujos anticorpos apresentam importância clínica: D, C, c, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, Le^a, Le^b, M, N, S, s e P₁. Alguns antígenos devem estar em homozigose em pelo menos um dos reagentes (C, c, E, e, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s). Denomina-se homozigose ou antígenos em dose dupla quando a herança de alelos idênticos determina uma maior expressão do antígeno na membrana da hemácia.

O teste de antiglobulina direto está indicado somente em pacientes com suspeita de hemólise imune, ou com fins de diagnóstico ou de monitorização terapêutica (ex.: evento adverso à transfusão). Nestas situações este teste tem um bom valor preditivo.

Podem ocorrer discrepâncias entre os resultados de uma mesma amostra em decorrência da sensibilidade do método utilizado. Na metodologia em gel-teste é possível detectar uma quantidade menor de moléculas de anticorpos ligados aos eritrócitos quando comparado pelo método em tubo.

6. REFERÊNCIAS

1. Simpson PP, Hall P. Teste de Antiglobulina. In: Harmening DM. *Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão*. 4ª Ed. Filadélfia: Ed. Revinter; 2006. p. 71-87.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. *Imunohematologia: Testes pré transfusionais*. Série TELELAB; 2001. p. 37-44.
3. Girello AL, Kühn TIBB. *Fundamentos da Imuno-Hematologia Eritrocitária*. 3ª ed. São Paulo: editora Senac; 2011. Cap.3, p.91-100.
4. Machado SL, Vizzoni AG. Introdução à Imuno-Hematologia. In: Paulo CJLS (coord.), Silva AM, Neto LMR (org.). *Hematologia: métodos e interpretação*. São Paulo: Roca; 2013. p.389-421.
5. Nance S. Red Cell antibody detection and identification. In: *Imunohematology: principles and practice*. Quinley ED. Third edition: Lippicott Williams & Wilkin; 2001. P.75-94.
6. Lapierre Y, Rigal D, Adam J, Josef D, Meyer F, Greber S et al.. *The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions*. Transfusion. 1990;30(2):109-13. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2305438>
7. Furlan F, Merisio PR. *Perfil de fenótipos dos principais grupos sanguíneos de pacientes do Hemonúcleo regional de Francisco Beltrão*. NewsLab. 2011;108:98-108. Disponível em: http://www.newslab.com.br/newslab/revista_digital/108/revista.pdf
8. Diamed Latino América-Brasil. *Guia de Resolução de Problemas – Gel teste*. Disponível em: <http://www.diamed.com.br/Cmi/Pagina.aspx?82>. Acesso em: 15/05/2015.
9. Barjas-Castro ML. Aplicações do teste de antiglobulina direta. In: *Hemoterapia: fundamentos e prática*. Editora Atheneu.2007;(19):p.177-183.

10. Feitosa BAM, Vizzoni AG. *Significado Clínico do Teste de Coombs direto na rotina pré-transfusional*. Infarma. 2009;21(11-12):37-46. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v21.e11/12.a2009.pp37-46>
11. Garraty G. *Immune hemolytic anemia associated with negative routine serology*. Semin Hematol. 2005;42(3):156-164. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminhematol.2005.04.005>
12. Segel GB, Lichtman. *Direct antiglobulina ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: a review*. Blood Cells Mol Dis, 2014 apr;52(4):152-60. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1079979613002702>
13. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS. *The direct antiglobulina test: a critical step in the evaluation of hemolysis*. AM J Hematol. 2012;87(7):707-9. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajh.23218/epdf>
14. Rottenberg Y, Yahalom V, Shinar E, Barchana M, Adler B, Paltiel O. *Blood donors with positive direct antiglobulin tests are at increased risk for cancer*. Transfusion. 2009; 49:838-42. Disponível em: <http://www.docstoc.com/docs/124237998/Blood-donors-with-positive-direct-antiglobulin-tests-are-at>
15. Garratt, G. *How concerned should we be about missing antibodies to low frequency antigens?* Transfusion, 2003;43 844-47.
16. Hopkins C, Walters TK. *Thermal amplitude test*. Immunohematology. 2013;29(2):49-51. Disponível em: http://www.redcross.org/images/MEDIA_CustomProductCatalog/m38440119_29_2_05.pdf
17. Weldy L. *Polyethylene glycol antiglobulina test (PEG-AGT)*. Immunohematology. 2014;30(4):158-60.
18. Lisboa SM, Vizzoni AG. *Introdução à imuno-hematologia*. In: Silva AM, Neto LMR (Orgs). *Hematologia: métodos e interpretação*. São Paulo: Roca, 2013; Cap.15, p. 389-422.
19. Haywood JR, Moulds MKG, Bryant BJ. *Determination of optimal method for antibody identification in a reference laboratory*. Immunohematology. 2011;27(4): 146-50. Disponível em: http://www.redcross.org/images/MEDIA_CustomProductCatalog/m16141467_27_4_11.pdf
20. Gooch A , Parker J , Wray J , Qureshi H. *Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy*. British Committee for Standards in Haematology. 2008. 22p.
21. Reda SY, Oliveira DO. *Coombs indireto sem o uso de hemácias fenotipadas na gestante Rh(D) negativo: tranquilidade ou problema?* NewsLab. 2012;113:128-136. Disponível em: http://www.newslab.com.br/newslab/revista_digital/113/revista.pdf
22. Haywood Jr, Moulds MKG, Bryant BJ. *Determination of optimal method for antibody identification in a reference laboratory*. Immunohematology. 2011;27(4):146-50. Disponível em: http://www.redcross.org/images/MEDIA_CustomProductCatalog/m16141467_27_4_11.pdf
23. Cianciarullo MA, Ceccon MEJ, Vaz AC. *Prevalência de marcadores imuno-hematológicos em recém-nascidos ao nascimento e em suas respectivas mães e incidência de doença hemolítica numa maternidade de São Paulo*. Rev Assoc Med Bras. 2003; 49(1): 45-53. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0104-42302003000100033&script=sci_arttext
24. Baiocchi C, Nardoza LMM. *Aloimunização*. Rev Bras Ginecol Obstet. 2009;31(6):311-19. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032009000600008

25. Bhutani, VK, Wong RJ. *Bilirubin Neurotoxicity in Preterm Infants: Risk and Prevention*. J Clin Neonatol. 2013;2(2):61-9. Disponível em: http://www.jcnonweb.com/temp/JClinNeonatology2261-4529291_123452.pdf
 26. Kaplan M, Bromiker R, Hammerman C. *Severe Neonatal Hyperbilirubinemia and Kernicterus: Are These Still Problems in the Third Millennium?* Neonatology.2011;100:354–62. Disponível em: <http://www.karger.com/Article/Pdf/330055>
-

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CARIOGÊNICO DE ANTI-HISTAMÍNICOS DE USO PEDIÁTRICO

Cíntia Oliveira da Silva, Maria Elisangela Sousa dos Reis, Kliciene Fantin Pinheiro Santana, Felipe Piloni Maestri, Cassiano Junior Saatkamp, Regis Piloni Maestri*

Instituto Esperança de Ensino Superior (IESPES)

*E-mail: regismaestri@hotmail.com

Submetido em: 13/04/2015

Aceito em: 16/06/2015

Publicado em: 30/09/2015

Resumo

A cárie dentária destaca-se como a doença que mais acomete a cavidade oral, podendo atingir todas as faixas etárias, desde crianças a idosos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial cariogênico de anti-histamínicos de uso pediátrico. Cinco medicamentos anti-histamínicos de uso infantil com apresentação líquida, e que constam na lista de medicamentos de referência da Agência de Vigilância Sanitária foram avaliados. Foi determinado o pH dos medicamentos, a concentração de sólidos solúveis (°Brix) e a determinação do teor de açúcares totais. Verificou-se que todos os medicamentos apresentaram pH menor que 5,5, sendo, portanto, ácidos e potencialmente cariogênicos aos tecidos dentais. Em relação aos sólidos solúveis totais (°Brix) a dexclorfeniramina apresentou o menor valor de °Brix (10,4%) e o cetotifeno o maior valor de °Brix (60,4%). Em relação aos açúcares totais, o percentual variou de 2,28% (cetotifeno) a 16,76% (loratadina). Os medicamentos anti-histamínicos analisados têm um alto potencial cariogênico, visto que, possuem baixo pH e elevado teor de sólidos solúveis totais. Torna-se imprescindível, portanto, que haja uma atenção maior sobre o tema, objetivando que os profissionais de saúde reconheçam a possível relação entre o uso de medicamentos pediátricos e a cárie dentária, com o intuito de orientar adequadamente os responsáveis sobre os cuidados necessários para minimizar possíveis efeitos deletérios na saúde oral de pacientes infantis.

Palavras-chave: Cárie dentária, medicamento pediátrico, potencial cariogênico.

Assessment of Cariogenic Potential of Antihistamines for Pediatric Use

Abstract

Tooth decay stands out as the disease that most affects the oral cavity, including all age groups, from children to seniors. The objective of this research was to evaluate the cariogenic potential of antihistamines for pediatric use. Five antihistaminic medications were evaluated during the study period. The study determined the pH of the drugs, the concentration of soluble solids (Brix degrees), and the total sugar content of the sample. The results showed that all drugs have a pH less than 5.5, thus, being acidic and potentially cariogenic. In relation to the total of soluble solids (Brix degrees), the dexchlorpheniramine presented the lowest Brix value (10.4%), whereas the ketotifen, the highest Brix value (60.4%). In regard to the entire sugar concentration, the percentage ranged from 2.28% (ketotifen) to 16.76% (loratadine). The studied antihistamines have a high cariogenic potential, since they have a low pH and high content of soluble solids. Thus, it is essential to bring more attention to this issue, in order to help health professionals acknowledge the possible relation between the use of medications and dental caries, so they can properly guide those who are responsible for the care of children, minimizing possible deleterious effects on patients' oral health.

Keywords: Dental caries, pediatric medicine, cariogenic potential.

Evaluación del Potencial Cariogenicos Antihistamínicos de Uso Pediátrico

Resumen

La caries dentaria se destaca como una enfermedad que más acomete la cavidad oral, pudiendo alcanzar todas las edades, desde niños a viejos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el potencial cariogenico de los antihistamínicos para uso pediátrico. Cinco fármacos antihistamínicos fueron evaluados. Fue determinado el pH de los medicamentos, la concentración de sólidos solubles (° Brix) y la determinación del tenor de azúcar total. Se verificó que todos los medicamentos presentaron pH menor que 5,5 y, por lo tanto, ácidos y potencialmente cariogenicas a los tejidos dentales. En relación a los sólidos solubles totales (° Brix) la dexchlorpheniramina mostró el valor más bajo de ° Brix (10,4%) y el ketotifeno el mayor valor de ° Brix (60,4%). Con respecto a los azúcares totales, el porcentaje varió de 2,28% (ketotifeno) a 16,76% (loratadina). Los antihistamínicos analizados tienen un alto potencial cariogenico, ya que tienen un pH bajo y alto tenor de sólidos solubles totales. Es esencial, por tanto, que hay más atención en el tema, con el fin de que los profesionales de la salud reconozcan la posible relación entre el uso de los medicamentos pediátricos y la caries dental, para que puedan orientar adecuadamente a los responsables de los cuidados necesarios para minimizar los posibles efectos nocivos sobre la salud oral de los pacientes infantiles.

Palabras clave: La caries dental, el potencial de la medicina pediátrica cariogenico.

1. INTRODUÇÃO

A saúde bucal é essencial para a saúde em geral, crescimento e desenvolvimento de uma criança. A cárie dentária destaca-se como a doença que mais acomete a cavidade oral, podendo atingir todas as faixas etárias, desde crianças a idosos. Tem sido descrita tradicionalmente como uma doença infecciosa multifatorial, caracterizada como um processo dinâmico, resultante da interação entre o hospedeiro, as bactérias da cavidade oral e uma alimentação rica em açúcares. Contudo, além da alimentação, considera-se que os medicamentos pediátricos são um veículo importante para o fornecimento de sacarose a cavidade oral, ocasionando a cárie dental⁽¹⁾.

A grande maioria dos medicamentos, sobretudo líquidos, desenvolvidos para a pediatria tem na sua composição uma alta concentração de açúcares (de forma a tornar a sua ingestão mais agradável), elevada acidez e um baixo pH endógeno o que lhes confere um potencial cariogênico e erosivo sobre a estrutura dentária⁽²⁾.

Vale ressaltar que a elevada concentração de carboidratos fermentáveis e o baixo pH endógeno de certos medicamentos não são os únicos fatores responsáveis pelo potencial cariogênico. A frequência de ingestão e o momento de administração (diurno ou noturno), a alta viscosidade que dificulta à capacidade tampão da saliva, o uso contínuo e prolongado, a falta de higiene oral após a ingestão dos medicamentos e, em alguns casos a diminuição do fluxo salivar (efeito colateral de alguns medicamentos como os anti-histamínicos) contribuem para aumentar a experiência de cárie^(3,4,5,6).

A principal razão para a inclusão de açúcares nos medicamentos líquidos pediátricos deve-se ao seu sabor doce que mascara o gosto desagradável de alguns ingredientes ativos das formulações⁽⁷⁾. Contudo, esses carboidratos podem promover grande atividade ácida, uma vez que funcionam como substrato para bactérias cariogênicas, ocasionando a queda do pH do biofilme dental⁽⁴⁾.

O pH dos medicamentos líquidos está relacionado com as exigências das substâncias ativas presentes nas formulações, a fim de proporcionar ao medicamento condições ideais para o consumo, evitando a decomposição química em função do pH inadequado e assim, não comprometendo a ação farmacológica⁽¹⁾. O potencial cariogênico está relacionado com o alto nível

de açúcares presentes nas formulações, utilizados como adoçantes, a fim de tornar o sabor mais agradável ao paladar infantil. Os açúcares frequentemente mais encontrados nas medicações pediátricas líquidas são: sacarose, frutose, glicose e sorbitol, em concentrações que variam de 8,4% a 85,9%^(8,9).

A sacarose por ter um custo menos elevado, ser antioxidante, preservar a formulação e ser de fácil processamento, é amplamente utilizada. E ao contrário da glicose e da frutose, ela também favorece o desenvolvimento de lesões de cárie em superfícies lisas, propiciando também o surgimento de cáries rampantes⁽¹⁰⁾.

Sendo assim, o presente estudo avaliou o potencial cariogênico de anti-histamínicos de uso pediátrico. Na finalidade de medir o pH endógeno dos medicamentos selecionados; avaliar, através do °Brix, o teor de sólidos solúveis totais dos medicamentos de uso pediátrico e analisar do teor de açúcares totais dos medicamentos de uso pediátrico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental

O protocolo adotado foi dividido em duas fases, sendo que a primeira avaliou o potencial cariogênico de medicamentos anti-histamínicos de uso pediátrico (análises em triplicata), no que se refere ao pH, sólidos solúveis totais (°Brix) e o teor de açúcares totais. A segunda etapa observou as informações descritas nas bulas quanto ao tipo de constituintes (excipientes) presente nas formulações.

Selecionamos cinco medicamentos anti-histamínicos de uso infantil com apresentação líquida, e que constam na lista de medicamentos de referência da Agência de Vigilância Sanitária: loratadina, hidroxizina, desloratadina, cetotifeno e dexclorfeniramina.

2.2 Determinação do pH endógeno, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e teor de açúcares totais

O pH endógeno de cada medicamento foi determinado à temperatura ambiente, usando um medidor de pH eletrônico. O equipamento com uma precisão de 0,1 foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante (Quimis, Brasil), utilizando soluções padrões de tampão de pH 7 e pH 4.

As mensurações do teor de sólidos totais foram feitas por refratometria utilizando o refratômetro da Quimis Brasil. O equipamento foi inicialmente calibrado com água destilada, seguindo então para as análises.

A determinação do teor de açúcares totais existentes na amostra foi feita através do Método de Lane-Eynon (Fehling)⁽¹¹⁾.

Equação 1: Determinação do teor de açúcares totais existentes na amostra.

$$\frac{100 \times A \times a}{P \times V} = \text{glicídios redutores, por cento, m/m}$$

Onde:

A = volume (mL) da solução de P g da amostra.

a = massa (g) de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling.

P = massa da amostra (g).

V = volume (mL) da solução da amostra gasto na titulação.

$$\left(\frac{100 \times A \times a}{P \times V} - B \right) \times 0,95 = \text{glicídios não redutores em sacarose, por cento, m/m}$$

Onde:

A = volume (mL) da solução de P g da amostra.

a = massa (g) de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling.

P = massa da amostra (g).

V = volume (mL) da solução da amostra gasto na titulação.

B = massa (g) de glicose por cento obtidos em glicídios redutores, em glicose.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A determinação do pH é aplicada a preparações farmacêuticas veiculadas apenas em água ou em associação a outros líquidos miscíveis com a água. Portanto, aplica-se entre outras, às formas farmacêuticas líquidas de uso oral, tais como xaropes⁽¹²⁾.

O pH das medicações líquidas, frequentemente, está relacionado com as exigências das substâncias ativas no que se refere à estabilidade, pois pode ocorrer decomposição química em função do pH inadequado, comprometendo assim a ação farmacológica⁽¹²⁾.

O pH ácido evita que os medicamentos líquidos sejam contaminados por microrganismos⁽¹³⁾. Adicionalmente, pode ser mencionado o fato de que esta propriedade está diretamente associada a fatores como estabilidade química e biocompatibilidade do princípio ativo⁽¹⁴⁾. A estabilidade dos produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz. Além de outros elementos relacionados ao próprio produto como propriedades físico-químicas de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagens. O pH é de fundamental importância para a estabilidade de fármacos contidos em soluções farmacêuticas. Cada fármaco, dependendo de suas propriedades físico-químicas, possui uma região de pH de máxima estabilidade, onde a velocidade de decomposição é mínima⁽¹⁵⁾.

Quando um carboidrato é fermentado pelas bactérias presente na placa dental, há produção de ácido láctico, o que propicia a queda no pH. Quando o pH atinge 5,5 ocorrem perdas minerais no esmalte do dente devido a subsaturação de cálcio e fósforo no meio. Substâncias ácidas por natureza acarretam a queda do pH instantaneamente, sem que seja necessário metabolismo bacteriano. Sabe-se que, níveis baixos do pH em medicamentos potencializam o aparecimento de cárie dentária por dissolução cristalina, principalmente se permanecerem em contato prolongado com as superfícies dentárias^(5,9,16).

Segundo Santinho *et al.*⁽¹⁾ alguns xaropes podem provocar uma queda do pH na placa dental para um nível abaixo de 5,5 em poucos minutos, quando se inicia a desmineralização do esmalte. Subseqüentemente, tem início a restituição do pH da saliva com a finalidade de remineralização. No entanto, o retorno ao pH neutro na placa dental é considerado bastante lento quanto maior a consistência viscosa de uma preparação ingerida, sendo que as concentrações maiores que 10% de açúcar são suficientes para promover uma queda do pH, considerado crítico entre 5,3 a 5,5, acentuando o potencial erosivo dos medicamentos. O pH das medicações líquidas está relacionado com as exigências das substâncias ativas presentes nas formulações a fim de proporcionar ao medicamento condições ideais para o consumo, evitando a decomposição química em função do pH inadequado e assim, não comprometendo a ação farmacológica.

Em relação ao pH endógeno, verificou-se que o pH de todos os medicamentos anti-histamínicos analisados é ácido, o que contribui para a desmineralização do esmalte ($\text{pH} < 5,5$), (Tabela 1). Sendo o menor pH registrado para a loratadina ($\text{pH} 2,62$) e o maior, para o cetotifeno ($\text{pH} 4,56$).

Tabela 1: distribuição dos valores médios dos medicamentos para as variáveis de pH endógeno, °Brix e descrição da composição.

Medicamento anti-histamínico	pH	°Brix (%)	Composição
Dexclorfeniramina	4,45	10,4	<u>Dexclorfeniramina</u> , ciclamato de sódio, mentol, sacarina sódica, metilparabeno, propilparabeno, <u>sorbitol</u> , álcool etílico, corante vermelho ponceaux, essência de cereja e água purificada.
Cetotifeno	4,56	60,4	<u>Cetotifeno</u> , água de osmose reversa, álcool etílico, aroma de framboesa, edetato dissódico, hidróxido de sódio, metilparabeno, propilparabeno, sacarose e <u>sorbitol</u> .
Loratadina	2,62	60,3	<u>Loratadina</u> , ácido cítrico, benzoato de sódio, essência de damasco, <u>glicerol</u> , propileno glicol, sacarose e água.
Hidroxizina	3,70	33,4	Hidroxizina, benzoato de sódio, hietelose, sorbitol, sucralose, sacarina sódica, ciclamato de sódio, sorbato de potássio, essência de cereja, essência de framboesa e água purificada.
Desloratadina	2,89	27,6	Desloratadina, sorbitol, glicerol, edetato dissódico di-hidratado, metilparabeno, propilparabeno, sacarina sódica, ciclamato de sódio, hietelose, essência de damasco, ácido cítrico e água purificada.

A acidez presente em algumas formulações infantis, devido ao baixo pH endógeno, contribui para agravar o potencial cariogênico e erosivo destes medicamentos⁽¹⁷⁾. Além disso, xaropes infantis com baixo pH se mostraram capazes de provocar erosão do esmalte, embora alguns deles não tenham influenciado significativamente a rugosidade do esmalte, independentemente da condição dental (hígido ou cariado)⁽¹⁸⁾. Vale ressaltar que o risco do desenvolvimento da doença cárie, associada ao uso de medicamentos, torna-se ainda maior quando nenhuma medida efetiva de higiene bucal é realizada a fim de eliminar os resíduos destas substâncias da cavidade bucal das crianças⁽¹⁹⁾.

O teste utilizado para detecção de sólidos solúveis totais (°Brix) nos medicamentos empregou a refratometria como método de escolha, pois apesar de desvantagem como a perda da sensibilidade e dependência da temperatura, este tem sido utilizado em estudos de caracterização físico-química para análises e substâncias diversas, como sucos de frutas, energéticos e medicamentos líquidos de uso oral^(6,20).

A escala °Brix é uma escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis em solução de sacarose. Em muitos casos, todo o soluto dissolvido é o açúcar. Por exemplo, uma solução de 20°Brix tem 20 g do açúcar da sacarose por 100 g de líquido. Uma pesquisa elaborada por Costa *et al.*⁽¹²⁾, demonstrou uma variabilidade de 11,21% a 62,46% na quantidade de sacarose em diferentes medicamentos, enquanto outro estudo revelou um percentual de sacarose ainda maior em medicamentos infantis, atingindo até 80,0%. Em nosso estudo três medicamentos apresentaram elevados °Brix, superior aos 30,0% (Tabela 1) comprovando elevado potencial cariogênico. A quantidade de açúcar presente na desloratadina e dexclorfeniramina foi inferior a 30,0%, de acordo com o °Brix. Porém, deve ser levado em consideração que o teor necessário para formação do biofilme cariogênico é de 5%⁽²¹⁾.

Em relação à presença de sacarose em medicamentos, alguns estudos verificaram que a concentração deste carboidrato em formulações infantis pode variar 11,21% atingindo até 80,0%⁽¹⁸⁾. Desta forma, baseado no °Brix observa-se dexclorfeniramina (10,4%), hidroxizina (33,4%) e desloratadina (27,6%), (Tabela 1). Assim, com exceção dos xaropes dietéticos, verifica-se que o órgão responsável pela regulamentação e controle desses medicamentos no Brasil não estipula um limite mínimo para concentração desses açúcares.

Os açúcares são ingredientes multifuncionais, acrescentados às formulações dos medicamentos devido ao gosto desagradável de muitos constituintes ativos, além disso, a sacarose, especificamente, apresenta baixo custo, não possui gosto residual, pode agir como conservante/antioxidante e solvente⁸.

Medicamentos líquidos costumam ter sabor desagradável, e às vezes é necessário combinar vários adoçantes no mesmo produto para contornar esse sabor¹⁶. Nessa pesquisa, 40% (2/5) dos medicamentos anti-histamínicos apresentaram sacarose em composição, enquanto que 60% (3/5) dos medicamentos em estudo foram comumente empregados os seguintes excipientes: sacarina sódica, sorbitol e ciclamato de sódio (Tabela 1). A escolha do tipo de excipiente ou até mesmo a combinação de vários, deve-se não somente ao grau de doçura fornecido, mas a sua compatibilidade com os princípios ativos⁸.

Além disso, observou-se que a maioria dos medicamentos líquidos infantis açucarados, não informa a concentração de açúcares utilizada e não adverte na bula sobre o maior risco de desenvolvimento de cárie dentária, corroborando os estudos de Souza *et al.* (2002) e Pierro *et al.* (2005).

Na determinação dos açúcares totais, somente encontrou-se sacarose em dois medicamentos, o cetotifeno (2,28%) e a loratadina (1,76%), (Tabela 2).

Tabela 2: valor do percentual de açúcar redutor em glicose, sacarose e de açúcar redutores totais em relação aos medicamentos anti-histamínicos.

Medicamento	Análise		
	Glicose (%)	Sacarose (%)	Redutores Totais (%)
Loratadina	15	1,76	16,76
Cetotifeno	0	2,28	2,28
Desloratadina	0	0	0
Dexclorfeniramina	0	0	0
Hidroxizina	0	0	0

Fonte: Autores da pesquisa, 2014.

A análise do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) revelou que dois medicamentos apresentaram elevados valores de °Brix, cetotifeno (60,4%) e loratadina (60,3%). Visando confirmar essa condição, analisou-se a presença de açúcar. Todavia, apenas em dois medicamentos foi possível determinar os açúcares totais (Tabela 2). Uma das hipóteses, para a não obtenção do percentual de sacarose dos demais medicamentos, é que os princípios ativos dos fármacos estão interferindo na redução dos açúcares ou que se usam açúcares alternativos em substituição à sacarose, como a sacarina sódica, ciclamato de sódio e o sorbitol. A justificativa para presença da sacarose, na maior parte das preparações farmacêuticas, deve-se ao fato de este açúcar ter um baixo custo, não deixar gosto residual e, ainda, agir como conservante e antioxidante, além de melhorar a viscosidade dos medicamentos líquidos ⁽¹⁶⁾.

4. CONCLUSÃO

A avaliação do potencial cariogênico dos medicamentos líquidos pediátricos anti-histamínicos, considerados de marca para utilização em âmbito nacional, revelou que a maioria apresenta baixos valores de pH, e identificou-se a presença elevada do teor de sólidos solúveis totais podendo ser considerados potencialmente erosivos aos tecidos dentais.

Estes achados permitem considerar a possibilidade de ocorrência de desmineralização dental, que pode se manifestar na forma de lesões erosivas/cariogênicas sobre a superfície dentária, uma vez que esta substância líquida contém ácidos e açúcares, trazendo ações prejudiciais para a cavidade oral.

Por fim, pode-se concluir que este trabalho apresentou informações de grande relevância para o meio acadêmico e científico, proporcionando informações sobre os medicamentos anti-histamínicos analisados, sendo que estes possuem elevado potencial cariogênico, uma vez que demonstram elevada concentração de açúcares em sua composição e o pH endógeno ácido, sendo inferior ao pH crítico para a desmineralização do esmalte.

Dessa forma, é essencial que instruções cuidadosas quanto à higiene oral sejam fornecidas a cada prescrição de medicamentos na forma farmacêutica de xarope e com baixo pH, a fim de que se possa evitar o desenvolvimento da doença cárie e da erosão dentária em muitas crianças, em especial, aquelas que apresentam doenças crônicas. A interação entre os profissionais das diversas áreas da saúde pode significativamente desenvolver e estabelecer hábitos saudáveis e ser adotados por parte de pais e filhos, proporcionando, assim, melhor qualidade de vida.

5. REFERÊNCIAS

1. SANTINHO, A. J. P.; WALDOW, C.; SANTOS, S. B. *Estudo sobre a correlação do potencial cariogênico e do pH de xaropes pediátricos*. Revista Brasileira Farmacêutica, v. 89, n. 2, p. 88-90, 2008.
2. LEITE, FILIPA; LEITE, CRISTIANA; CORREIA, ANDRÉ; PINTO, MARIA ELVIRA. *Medicamentos pediátricos e cáries dentárias – Percepções e atitudes de um grupo de tutores pediátricos em Vila Nova de Gaia*. Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial, Portugal, v. 52 (4):193–199, 2011.
3. FEJERSKOV, O.; KIDD, E. *Cárie Dentária - A doença e seu tratamento clínico*. São Paulo: Santos, 2005.
4. CAMPOS, J. A. D. B, et al.. *Correlação entre a prevalência de cárie e a utilização de institucionalizados*. Salusvita, v.25, n.1, p. 35-42, 2006.

5. MARQUEZAN, M. *et al.*. *Medicamentos utilizados por pacientes odontopediátricos e seu potencial cariogênico*. RPG Revista Pós Graduação, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 334-9, 2007.
6. CAVALCANTI, A. L., *et al.*. *pH, Titratable Acidity Acidity and Total Soluble Solid Content of Pediatric Antitussive Medicines*. Acta Stomatol Croat, v.42, n.2, p.164-170, 2008.
7. BRADLEY, M.; KINIRONS, M. *A survey of factor influencing the prescribing of sugar-free medicines for children by a group of general medical practioners in Northern Ireland*. Internacional Journal Paediatric Dentistry, v. 6, n. 4, p. 261-4, 1998.
8. Xavier, A.F.C.; Cavalcanti, A.L.; Oliveira, M.C.O.; Vieira, F.F. *Antibióticos líquidos de uso pediátrico: caracterização físico-química*. HU Revista, Juiz de Fora, v. 37, n. 4, p. 397-401, 2011.
9. GERGER, D. *Sugar in Medicine*. CDHA Journal, v.23, n.1, p.27-28, 2007.
10. CHU, F.C.S.; SIU, A.S.C.; YIP, H.K. *Rampant caries secondary to cough syrup addiction*.
11. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos, açúcares e produtos correlatos*. São Paulo: Digital, 2008.
12. COSTA, C.C.; ALMEIDA, I.C.S.; RAYMUNDO, M.S.; FETT, R. *Análise do pH endógeno, da acidez e da concentração de sacarose de medicamentos pediátricos*. Rev. odonto ciênc v.19, n.44, p.164-169, 2004.
13. LONGHINI, R; RAKSA, S. M; OLIVEIRA, A. C. P; SVIDZINSKI, T. I. E; FRANCO, S. L. *Obtenção de extratos de brócolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica*. Rev Bras Farmacogn, São Paulo, v. 17, n. 3, 2007.
14. GIL, E. S. *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos*. 3 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.
15. BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC n. 222, 29/07/2005*. Disponível em: <http://legis.bvs.br/leisref/public/>. Acesso em: 12 de nov de 2014.
16. MARQUEZAN, M. *et al.*. *Avaliação do potencial cariogênico de medicamentos pediátricos*. Saúde Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 4-9, 2006.
17. DUGMORE, C. R; ROCK, W. P. *A multifactorial analysis of factors association with dental erosion*. Br Dent J 2004.
18. SOUSA, R.I.M.; OLIVEIRA, M.C.; CLEMENTINO, M.A.; CAVALCANTI, A.L.; VIEIRA, F.F. *Potencial erosivo e cariogênico de anti-histamínicos de uso infantil*. RFO, Passo Fundo, v. 15, n. 3, p. 257-262, 2010.
19. PIERRO, V.S.S.; ABDELNUR, J.P; MAIA, L.C.; TRUGO, L.C. *Free sugar concentration and pH of paediatric medicines in Brazil*. Community Dent. Health,London, v. 22, n.3, p. 1803, 2005.
20. BIGEARD L. *The role of medication and sugars in pediatric dental patients*. Dent Clin North Am 2000; 44: 443456.
21. CAVALCANTI, C. L; XAVIER, A. F. C. *In vitro analysis of the cariogenic and erosive potential of pediatric antitussive liquid oral medications*. Tanz J Health Res, 2012.
22. AIRES, C.P; TABCHOURY, C.P; DEL BEL CURY, A.A.; KOO, H.; CURY, J.A. *Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization*. Caries Research, Basel, v. 40, no. 1, p. 28-32, 2006.

ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS *VERSUS* EFEITO OBESOGÊNICO SOB A ÓPTICA DA QUÍMICA FARMACÊUTICA

Ana Paula Schmitz*, Olyr Celestino Kreutz, Edna Sayuri Suyenaga

Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale

*E-mail: paula.schmitz@hotmail.com

Submetido em: 22/01/2015

Aceito em: 02/07/2015

Publicado em: 30/09/2015

Resumo

Os fármacos antipsicóticos são os principais agentes utilizados no tratamento da esquizofrenia e atuam principalmente como antagonistas do receptor dopaminérgico D₂. Entre eles, destacam-se os antipsicóticos atípicos, os quais apresentam um perfil farmacológico peculiar por induzirem menos efeitos extrapiramidais. Geralmente, são indicados aos pacientes com sintomas negativos da esquizofrenia, ou em casos refratários ao tratamento com medicamentos de primeira geração. No entanto, é relatado ganho de peso durante o tratamento com estes fármacos, levando os pacientes à obesidade. Diante disso, verifica-se a importância do estudo de REA (relação estrutura química x atividade farmacológica) destes fármacos, no intuito de se observar qual o grupamento químico é responsável pelo aumento de peso. Desta forma, foi realizada uma revisão bibliográfica sobre estes fármacos correlacionando a estrutura química *versus* atividade farmacológica. Sugere-se que o grupamento piperazina seja responsável pelo ganho de peso, ao se ligar aos receptores histaminérgicos H₁. A observação dos grupamentos farmacofóricos e as modificações químicas permitem a compreensão do seu perfil farmacodinâmico e farmacocinético, cujo entendimento da sua química medicinal é de suma importância ao tratamento satisfatório do paciente esquizofrênico.

Palavras-chave: Química farmacêutica, antipsicóticos, ganho de peso.

Atypical Antipsychotics Versus Obesogenic Effects from the Perspective of the Pharmaceutical Chemistry

Abstract

Antipsychotic drugs are the main agents used to treat schizophrenia, act mainly as the dopamine D₂ receptor antagonists. Among them, stand out the atypical antipsychotics which have a peculiar profile to induce lower extrapyramidal effects. They are usually indicated for patients with negative symptoms of schizophrenia or in cases refractory to treatment with first-line drugs. However, weight gain is reported during treatment with these drugs, inducing to obesity. Therefore, we realize the importance of the SAR (chemical structure x pharmacological activity relationship) study of these drugs in order to observe which chemical grouping is responsible for the weight gain. It is suggested that the piperazine grouping is responsible for weight gain when binding to histamine H₁ receptors. The observation of pharmacophore groups and chemical modifications allow the understanding of their pharmacodynamic and pharmacokinetic profile, whose understanding of their medicinal chemistry is of paramount importance to the satisfactory treatment in schizophrenic patients.

Keywords: Pharmaceutical chemistry, antipsychotics, weight gain.

Antipsicóticos Atípicos Versus Efectos Obesogénico Sob la Perspectiva de la Química Farmacéutica

Resumen

Los fármacos antipsicóticos son los principales agentes utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia y actúan principalmente como antagonistas del receptor dopaminérgico D_2 . Entre ellos, se destacan los antipsicóticos atípicos, los cuales presentan un perfil farmacológico peculiar por inducir menos efectos extrapiramidales. Generalmente, son indicados a los pacientes con síntomas negativos de la esquizofrenia, o en casos refractarios al tratamiento con medicamentos de primera generación. Sin embargo, se observó el aumento de peso durante el tratamiento con estos fármacos, lo que induce a la obesidad. Por lo tanto, se verifica la importancia del estudio de REA (relación estructura química x actividad farmacológica) de estos fármacos, con el fin de observar cual agrupamiento químico es responsable por el aumento de peso. De esta manera, fue realizada una revisión de la literatura sobre estos fármacos que correlacionan la estructura química *versus* la actividad farmacológica. Se sugiere que el agrupamiento piperazina sea responsable por engordar, mediante la unión a los receptores H_1 de histamina. La observación de los agrupamientos farmacofóricos y las modificaciones químicas permiten la comprensión de su perfil farmacodinámico y farmacocinético, cuyo entendimiento de su química medicinal es de gran importancia al tratamiento satisfactorio del paciente esquizofrénico.

Palabras clave: Química farmacéutica, antipsicóticos, aumento de peso.

1. INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é uma doença crônica, altamente prevalente e que acomete em torno de 1% da população mundial^(1,2). Para explicar a fisiopatologia da doença, a teoria que tem sido mais aceita é a hiperdopaminérgica. O aumento da liberação de dopamina na fenda sináptica, na região mesocortical, provoca os sintomas desta enfermidade⁽³⁻⁵⁾. Assim, podem ser observados na esquizofrenia os sintomas positivos e negativos, onde os delírios, as alucinações e a desorganização do pensamento são incluídos no grupo dos sintomas positivos, enquanto que a diminuição da vontade e da afetividade, o empobrecimento do pensamento e o isolamento social são compreendidos como seus sintomas negativos⁽⁶⁾.

Os fármacos antipsicóticos têm representando um importante componente terapêutico em diversas condições psicóticas, principalmente no tratamento da esquizofrenia⁽⁷⁾. Estes fármacos podem ser classificados em antipsicóticos típicos ou de primeira geração (APG) e atípicos ou de segunda geração (ASG)^(1,8). A diferença entre as duas classificações está no mecanismo de ação. Os APG atuam predominantemente no bloqueio de receptores dopaminérgicos (D_2) reduzindo assim, os sintomas positivos da doença, enquanto que os atípicos, bloqueiam basicamente os receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A}⁽⁸⁾.

A história dos APG iniciou com a descoberta da clorpromazina, uma fenotiazina que foi primeiramente utilizada como um tranquilizante, sendo assim, considerada o primeiro antipsicótico⁽⁹⁾. Em seguida, surgem as demais fenotiazinas (alifáticas, piperazínicas, piperidínicas e outras) e os tioxantenos. Também foram desenvolvidos outros fármacos, como as butirofenonas, difenilbutilpiperidinas/ piperazinas, indóis, as benzamidas e os diferentes subgrupos das benzo-heteroepinas (dibenzoxazepinas, dibenzoxepinas, dibenzazepinas, dibenzodiazepinas, tienobenzodiazepinas, dibenzotiazepinas, dibenzotiepinas), além de compostos benzisoxazólicos, benzisotiazólicos e quinolônicos⁽¹⁰⁾.

Com o surgimento da clozapina, observou-se que este fármaco apresentou eficácia no controle dos sintomas positivos e negativos da esquizofrenia, com menor capacidade em induzir efeitos extrapiramidais, sendo o protótipo para os

antipsicóticos atípicos. Embora estes fármacos apresentem a redução dos efeitos extrapiramidais, é observado o aparecimento de aumento de peso, que pode provocar riscos de mortalidade e morbidade em pacientes que os utilizam⁽¹¹⁾.

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo a realização de revisão bibliográfica dos fármacos antipsicóticos atípicos, sob a óptica da química farmacêutica, abordando as suas características químicas, bem como aspectos farmacodinâmicos, com o objetivo de relacionar a estrutura química com o aumento de peso comumente observado nos pacientes.

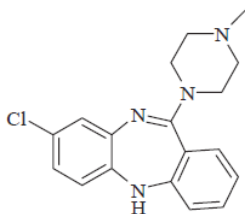
2. ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS

Os antipsicóticos atípicos surgiram em meados da década de 60, apresentando algumas vantagens quando comparados aos antipsicóticos já existentes, principalmente contra os sintomas negativos da doença⁽¹¹⁾. Estudos sugerem que os sintomas negativos da doença não respondam aos antipsicóticos convencionais⁽¹²⁾.

Após a introdução da clozapina, vários outros fármacos com características similares tornaram-se disponíveis para o tratamento da esquizofrenia. Pesquisas indicam que estes fármacos não apresentam afinidade apenas pelos receptores D_2 ^(13,14), mas sim, alta afinidade por receptores serotoninérgicos, noradrenérgicos, histaminérgicos e colinérgicos, onde atuam como antagonistas⁽¹⁵⁾. Uma maior afinidade pelos receptores D_4 , em relação aos receptores D_2 ⁽¹¹⁾, associada à ação antagonista dos receptores $5-HT_{2A}$, colabora para a diminuição de efeitos adversos extrapiramidais dos antipsicóticos atípicos^(16,17).

Com um perfil terapêutico diferenciado, o núcleo farmacofórico da clozapina (Figura 1) sofreu modificações químicas que permitiram desenvolver compostos mais eficazes e com menos efeitos colaterais⁽¹¹⁾. Tanto os APG quanto os atípicos estão associados com efeitos adversos metabólicos. No entanto, estas consequências são mais proeminentes nos atípicos. Entre os efeitos adversos, destacam-se o aumento de peso, desordens cardíacas, hiperlipidemia, distúrbios glicídicos⁽¹⁸⁾, hiperprolactinemia, perda de memória, hipotensão, sonolência e algum efeito extrapiramidal⁽¹⁹⁾. Porém, nem todos os atípicos causam estes efeitos mencionados⁽²⁰⁾. No Quadro 1 estão agrupados alguns destes efeitos indesejáveis, causados por este grupo de fármacos relacionando com o seu mecanismo fisiológico.

Figura 1: Grupo farmacofórico da clozapina.



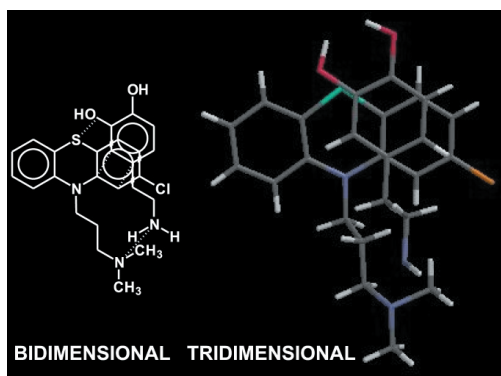
Quadro 1: Efeitos indesejáveis dos antipsicóticos atípicos e mecanismo fisiológico.

Efeitos indesejáveis	Mecanismo fisiológico
Efeitos extrapiramidais	Antagonismo D_2 nigroestriatal ⁽¹⁹⁾
Ganho de peso	Antagonismo $5-HT_{2C}$ e H_1 ⁽²⁰⁾
Hipotensão	Antagonismo α_1 ⁽²⁰⁾
Hiperprolactinemia	Antagonismo D_2 ⁽¹⁹⁾
Sonolência	Antagonismo H_1 ⁽²⁰⁾

Os antipsicóticos atípicos estão agrupados em diferentes classes, classificados de acordo com a sua estrutura química, os quais possuem a capacidade em bloquear as subclasses de receptores serotoninérgicos (5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}), noradrenérgicos (alfa₁ e alfa₂), histaminérgicos (H₁), colinérgicos (muscarínicos M₁)⁽¹⁵⁾ e com bloqueio prevalente em receptores dopaminérgicos D₁, D₃ ou D₄, ou uma fraca ligação e mais rápida dissociação entre o fármaco e o receptor D₂^(21, 22).

Estudos evidenciaram a similaridade conformacional entre a estrutura cintilográfica da clorpromazina (APG) e da dopamina. Através dessa constatação, sabe-se que o perfil terapêutico da clorpromazina está relacionado à modulação dopaminérgica, devendo apresentar conformação *cis* (Figura 2)⁽¹¹⁾. Dessa forma, propõe-se que os demais antipsicóticos, principalmente os atípicos, possam ter esta relação também.

Figura 2: Sobreposição das estruturas da dopamina e clorpromazina⁽¹¹⁾.

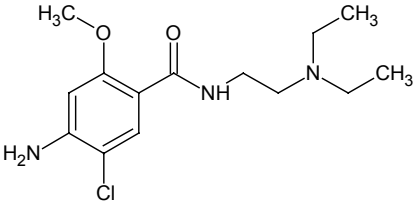
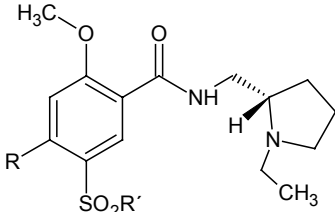


Em um estudo utilizando o modelo algoritmo *HipHop* implementado ao *software* CATALYST, foi sugerida uma hipótese sobre a interação dos grupamentos farmacofóricos dos APG e atípicos frente aos receptores 5-HT_{2A} e D₂. Os APG como clorpromazina, haloperidol, tioridazina e flufenazina apresentaram menor afinidade aos receptores 5-HT_{2A} do que aos D₂. Ao contrário, os atípicos apresentaram alta afinidade aos receptores 5-HT_{2A} e menor aos D₂⁽²⁰⁾, promovendo efeito antagonista por esses dois receptores, sendo a base para a atividade dos antipsicóticos atípicos⁽²³⁾.

3. DERIVADOS DAS BENZAMIDAS

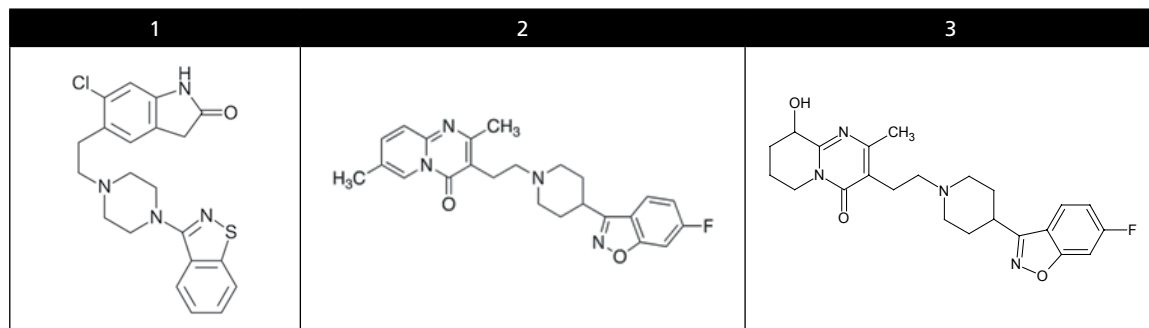
A metoclopramida é uma benzamida com similaridade às fenotiazinas antieméticas (ex.: prometazina)⁽²²⁾ que possui atividade antagonista dos receptores dopaminérgicos, com baixa penetração no sistema nervoso central⁽¹⁰⁾, por apresentar uma estrutura química menos lipofílica. Com baixa afinidade e seletividade por receptores D₂/D₃, também bloqueia alguns receptores muscarínicos e serotoninérgicos. Essas características de seletividade e afinidade permitiram mudanças conformacionais na porção 2-dietilamino-etil⁽²³⁾ surgindo as benzamidas pirrolidínicas (Quadro 2)⁽¹⁰⁾.

Quadro 2: Estruturas químicas da metoclorpramida, sulpirida e amilsupirida.

Fármaco	Estrutura
Metoclorpramida (protótipo) ⁽²³⁾	
Sulpirida: R= H, R'=NH ₂ (23) Amilsupirida: R=NH ₂ , R'=Et ⁽²³⁾	

4. BENZISOXAZOLPIPERIDINAS E INDÓIS

A classe dos indóis, como por exemplo, a ziprasidona e os benzisoxazóis que possuem como representante a risperidona e pariperidona (Figura 3), estão relacionados com baixo risco de efeitos extrapiramidais e efeito terapêutico contra os sintomas negativos da esquizofrenia⁽²⁴⁾.

Figura 3: Estruturas da ziprasidona (1), risperidona (2) e pariperidona (3).

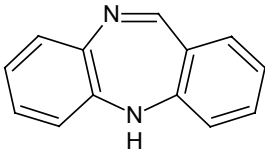
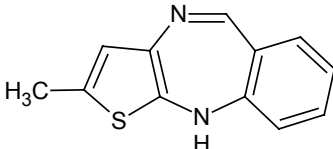
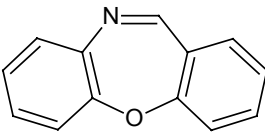
A risperidona atua bloqueando os receptores 5-HT_{2A} e D₂. Também é antagonista dos receptores histaminérgicos H₁ e adrenérgicos alfa-1 e alfa-2. A paliperidona (9-OH-risperidona) é um metabólito ativo da risperidona, biotransformado pelo sistema citocromo P450_{6A2D}. Apresenta vantagem frente a risperidona, pois liga-se em menor proporção aos receptores histaminérgicos H₁⁽²⁵⁾. A maior afinidade da risperidona e da paliperidona por receptores 5-HT_{2A} em relação aos receptores D₂ está relacionada ao baixo risco de efeitos extrapiramidais⁽²³⁾.

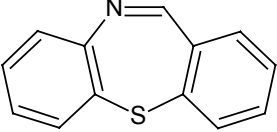
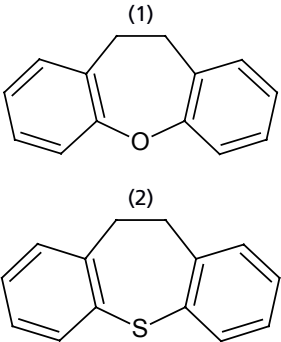
Quanto ziprasidona, este fármaco possui além do anel indol, o grupamento piperazina e benzotiazol, o qual atua como agonista parcial frente aos receptores D₂ e apresenta menor ganho de peso ao paciente⁽²³⁾.

5. BENZO-HETEROEPINAS

As dibenzodiazepinas, tienobenzodiazepinas, dibenzoxazepinas, dibenzotiazepinas, dibenzazepinas, dibenzotiepinas, dibenzoxepinas e dibenzotiazepinas são subgrupos da classe das benzo-heteroepinas formadas por modificações estruturais no anel central ciclo-heptano⁽¹⁰⁾. Esta classe de fármacos possivelmente surgiu a partir dos antipsicóticos fenotiazínicos que possuem importante estrutura anelar tricíclica. A estrutura tricíclica é semelhante àquela encontrada em uma grande variedade de fármacos, como por exemplo, alguns anti-histamínicos de primeira geração e nos antidepressivos tricíclicos (ADT). Por isso, podem ser explicados os sintomas de sedação pelo antagonismo H₁. Excepcionalmente, a classe das benzo-heteroepinas apresenta alta similaridade com os antidepressivos tricíclicos, contudo o que os diferencia farmacologicamente, é a conformação tridimensional do anel tricíclico e conseqüentemente a afinidade pelo receptor. Ao analisar o anel tricíclico das benzo-heteroepinas e a dopamina, verifica-se que estes compostos possuem similaridades conformacionais, o que favorece a ação antipsicótica. Tanto as estruturas das benzo-heteroepinas quanto da dopamina são sobreponíveis, o que pode justificar a ligação nos receptores dopaminérgicos^(20, 23).

Quadro 4: As classes químicas e sua estrutura⁽¹⁰⁾.

Classe/Antipsicótico	Anel tricíclico	Constituição
Dibenzodiazepina Clozapina		Anel central com sete constituintes e dois átomos de nitrogênio
Tienobenzodiazepina Olanzapina		Substituição de grupo aromático por anel tieno
Dibenzoxazepinas Loxapina		Presença de anel central oxazepina

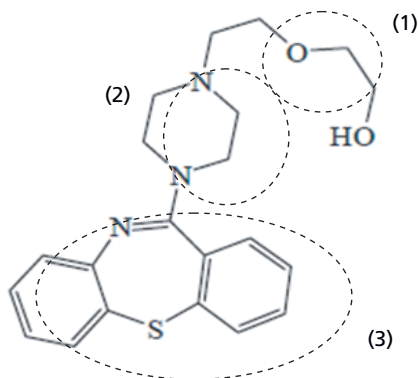
Classe/Antipsicótico	Anel tricíclico	Constituição
Dibenzotiazepina Quetiapina		Presença de anel central tiazepino
Dibenzazepinas: dibenzoxepina (1) dibenzotiepina (2)		Diferenciados pelos átomos de oxigênio e enxofre no anel central

Os ciclos dibenzodiazepino e tienobenzodiazepino possuem maior afinidade pelos receptores dopaminérgicos mesolímbicos do que pelos receptores da região nigroestriatal e mesocortical, o que explica a ação proeminente sob os sintomas negativos da doença⁽²⁴⁾.

6. A RELAÇÃO ESTRUTURA QUÍMICA VERSUS AUMENTO DE PESO

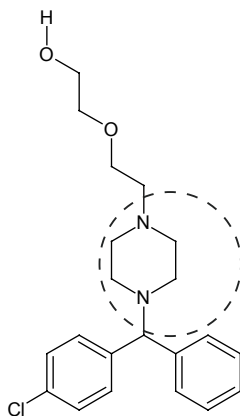
Dentre os fármacos em que é relatado o aumento de peso, destacam-se os derivados dibenzodiazepinas. A quetiapina (Figura 4) possui uma ampla faixa de afinidade por receptores histaminérgicos H₁ (sedativos), adrenérgicos alfa₁ (hipotensor), e alfa₂ (relaxante-muscular), receptores serotoninérgicos 5-HT₂ e menor afinidade do que a clozapina, por receptores dopaminérgicos D₂. Por ser derivado dibenzotiazepina possui alta incidência de agranulocitose⁽²⁶⁾. O grupamento piperazina possui potente atividade sedativa com propriedade relaxante-muscular. A porção éter da quetiapina é importante para o seu extenso metabolismo de primeira passagem. Possui tempo de meia-vida de aproximadamente 6 horas, relativamente curto, que pode ser justificado pela constante metabolização e presença da hidroxila terminal. A presença do átomo de enxofre também pode ser responsável por uma excreção mais acelerada, devido ao extenso metabolismo hepático⁽²³⁾.

Figura 4: Estrutura da quetiapina destacando-se a porção éster (1), anel piperazina (2), anel dibenzotiazepina (3).



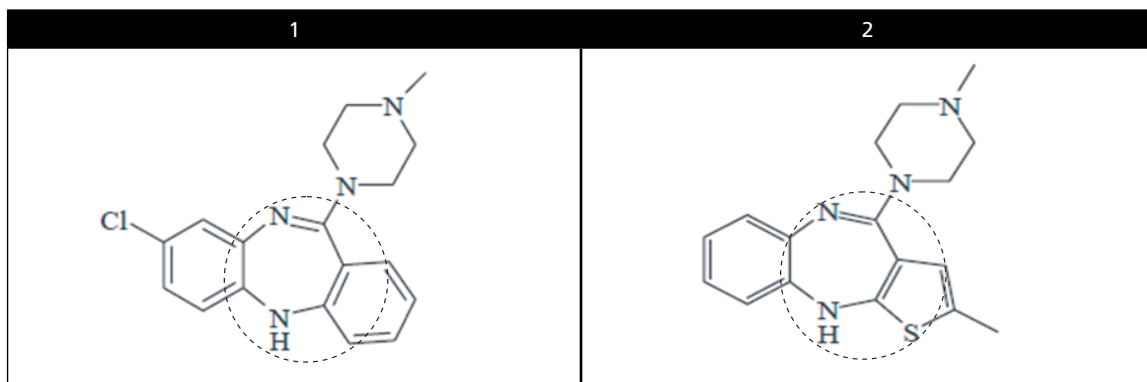
Analisando os efeitos obesogênicos, as dibenzodiazepinas (clozapina) e as tienobenzodiazepinas (olanzapina) possuem maior tendência à indução de peso e desordens metabólicas^(7,8). O que explica isto é o bloqueio dos receptores histamérgicos (H_1)^(18,19). Esta afinidade ocorre porque há uma similaridade estrutural com os fármacos anti-histamínicos H_1 , os quais são divididos em diferentes subgrupos, de acordo com a sua cadeia lateral. Entre eles, destacam-se os derivados piperazínicos (Figura 5)⁽²⁷⁾.

Figura 5: Estrutura da hidroxizina, anti-histamínico piperazínico.

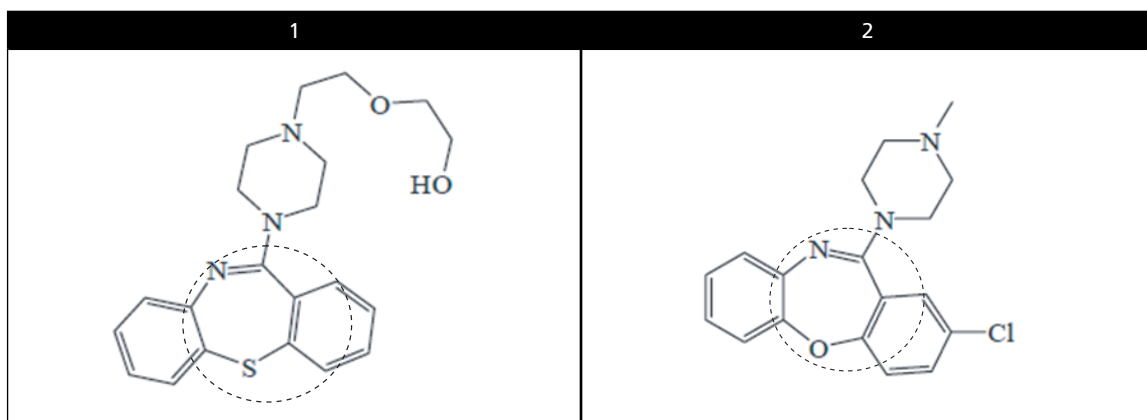


O sistema tricíclico da clozapina e olanzapina possui semelhança com o sistema anelar tricíclico dos anti-histamínicos fenotiazínicos, o que pode justificar também o bloqueio dos receptores H_1 da histamina.

A clozapina e a quetiapina (Figura 6) contêm um anel heterocíclico diazotado central, bem como a presença do núcleo piperazina, caracterizando estes compostos por promoverem elevada incidência de ganho de peso⁽²⁴⁾.

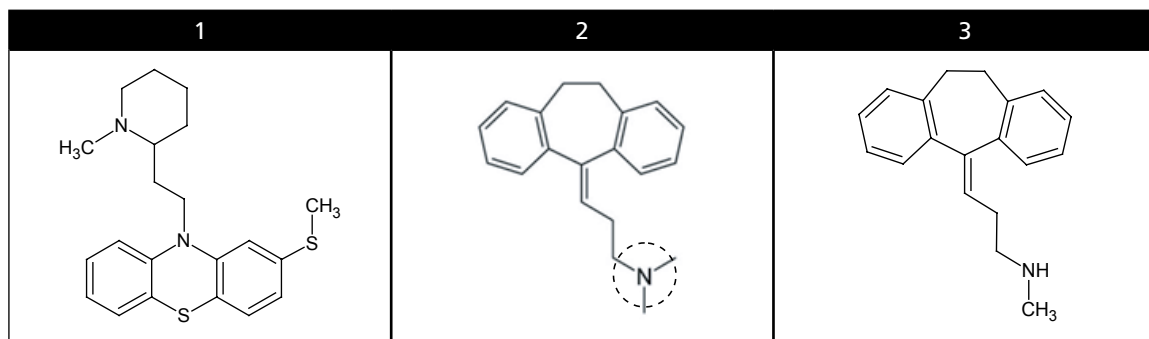
Figura 6: Estruturas da clozapina (1) e olanzapina (2).

As estruturas da quetiapina e loxapina (Figura 7) contêm anel heterocíclico central de sete membros, porém substituídos com oxigênio e enxofre que estão associados com pouco ou nenhum ganho de peso⁽²⁴⁾.

Figura 7: Estruturas da quetiapina (1) e loxapina (2).

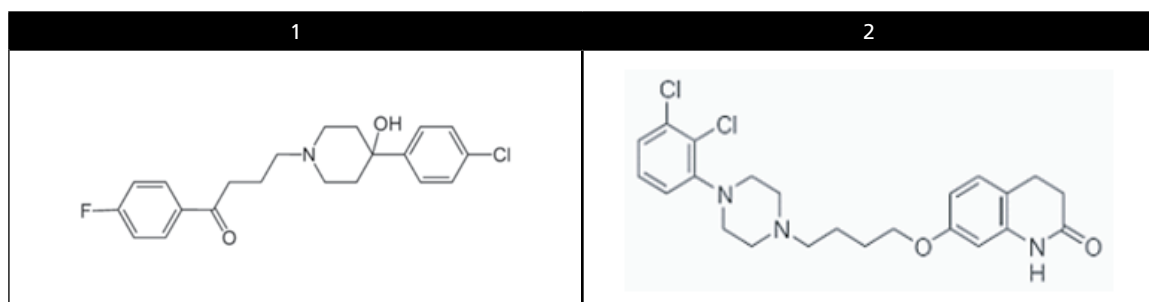
Pode-se perceber o que as difere das benzo-heteroepinas anteriormente citadas é a presença dos heteroátomos no anel central, que pode contribuir para uma menor afinidade pelos receptores H_1 e, conseqüentemente, menor ganho de peso.

Um baixo risco é reportado aos indóis, benzamidas e benzaxazóis. Entre os antipsicóticos típicos, a tioridazina que pertence à classe das fenotiazinas possui grande capacidade de induzir os efeitos obesogênicos^(27,28). Sabe-se, que os antidepressivos tricíclicos (ex.: imipramina, amitriptilina) também estão associados com a indução de peso^(29, 30). Estas relações podem ser explicadas pela similaridade do anel tricíclico. Os antidepressivos tricíclicos que apresentam um radical nitrogênio terminal terciário (Figura 8) ainda são mais propensos a essa indução do que os secundários (ex.: nortriptilina), pois são ainda mais seletivos no antagonismo H_1 ⁽²⁴⁾.

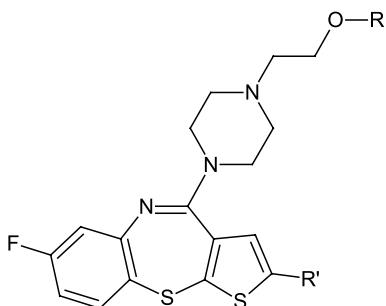
Figura 8: Estruturas da tioridazina (1) amitriptilina (2) e nortriptilina (3).

De acordo com estudos pré-clínicos para a obtenção de novos fármacos, os grupos metila, isopropila e flúor nos anéis tiofeno e fenila, proporcionam os efeitos benéficos de interação com receptores de dopamina. A presença de metoxietila aumenta efeito dopaminérgico e também pode reduzir interação com receptores H_1 ⁽²⁴⁾.

Uma alternativa para o tratamento da esquizofrenia, que apresenta baixo potencial indutor de efeitos extrapiramidais e poucos efeitos metabólicos é o aripirazol (Figura 9). Este fármaco apresenta núcleo piperazínico, com atividade agonista parcial frente aos receptores D_2 e $5-HT_{1A}$, sendo classificado como a terceira geração de antipsicóticos⁽²³⁾. Possui também menos efeitos colaterais, tais como ganho de peso, sedação e elevação de prolactina, quando comparado aos APG. O fármaco aripirazol apresenta afinidade pelo receptor D_2 de 4 a 20 vezes menor do que o haloperidol⁽³¹⁾.

Figura 9: Estruturas do haloperidol (1) aripirazol (2).

Para o desenvolvimento de um fármaco antipsicótico ideal, por meio das análises de REA, sugere-se que um protótipo (Figura 10), cuja estrutura central é tricíclica com heterociclo de sete membros. Ao anel central está ligado um grupo anel piperazina, com um substituinte etoxietila e um resíduo alquílico curto (R). Sugere-se a presença de uma cadeia aberta curta (R') no anel tiofeno e grupamento halogenado (ex. flúor) no anel aromático. Estas porções químicas parecem ser essenciais para um efeito mais direcionado aos receptores $5-HT_{2A}$, podendo contribuir para a redução de efeitos extrapiramidais, além de baixa afinidade aos receptores histaminérgicos H_1 , diminuindo assim, indução do aumento de peso.

Figura 10: Proposta de antipsicótico ideal.

7. CONCLUSÃO

O uso de fármacos antipsicóticos atípicos tem sido fundamental no tratamento aos portadores de esquizofrenia refratários aos APG, ou aqueles que apresentam sintomas negativos. Porém, observa-se dentre outros efeitos indesejáveis, o aumento de peso.

No presente trabalho, sugere-se que a capacidade de interação dos fármacos antipsicóticos atípicos, com receptores histaminérgicos H₁, seja o responsável pelo aumento de peso, cujo mecanismo de ação não está bem elucidado, até o momento. Modificações estruturais que diminuam a afinidade a estes receptores poderão reduzir a incidência desta reação indesejada.

Desta forma, compreende-se a importância de estudos mais aprofundados da química medicinal, para a busca de novos candidatos a agentes antipsicóticos ideais.

8. REFERÊNCIAS

1. Sun J, Zhao M, Fanous AH, Zhao Z. Characterization of Schizophrenia Adverse Drug Interactions through a Network Approach and Drug Classification. *BioMed Research International*. 2013;1-10.
2. Melnik T, Soares BG, Pugames, Atallahna. Efficacy and safety of atypical antipsychotic drugs (quetiapine, risperidone, aripiprazole and paliperidone) compared with placebo or typical antipsychotic drugs for treating refractory schizophrenia: overview of systematic reviews. *São Paulo Med. J.* 2010;128(2):141-166.
3. Silva RCB. Esquizofrenia: uma revisão. *Psicol. USP*.2006;17(4):263-285.
4. Stones JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia a synthesis and selective review. *J.Psychopharmacol.* 2007;21(4):440-452.
5. Bali A, Sen U, PeshinT. Synthesis, docking and pharmacological evaluation of novel indole based potential atypical antipsychotics. *Eur. J. Med. Chem.* 2014;(74):477-490.
6. Durão ANM, Souza MCBM, Miaso AI. Cotidiano de portadores de esquizofrenia após uso de clozapina e acompanhamento grupal. *Rev. Esc. Enferm. USP* 2007;41(2):251-257.

7. Leitão-Azevedo CL, Guimarães LR, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P. Ganho de peso e alterações metabólicas em esquizofrenia. *Rev. Psiquiatr.* 2007;34 Suppl 2:184-188.
8. Reynolds GP, Kirk SL. Metabolic side effects of antipsychotic drug treatment – pharmacological mechanisms. *Pharmacology & Therapeutics.* 2010;(125):160-179.
9. López-Muñoz F, Alam OC, Rubio G, Cuenca E. Half a century since the clinical introduction of chlorpromazine and the birth of modern psychopharmacology. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2004;28(1):205-208.
10. Frota LH. *Cinquenta anos de medicamentos antipsicóticos em psiquiatria* [Internet]; Rio de Janeiro: INSTITUTO DE PSICOLOGIA DA UFRJ; 2003 [cited 2014 abr 12]; Disponível em: <http://www.medicina.ufrj.br/cursos/LH%20FROTA%20-%201%20Ed%20-%2050%20ANOS%20DE%20MEDICAMENTOS%20ANTIPSICOTICOS.pdf>
11. Menegatti R, Fraga CAM, Barreiro EJ, Lima VLE, Rates SMK, Costa TD. Esquizofrenia: quarenta anos da hipótese dopaminérgica sob a ótica da quimicamedicinal. *Quim. Nova.* 2004;27(3):447-455.
12. Moller HJ. Antipsychotic agents. Gradually improving treatment from the traditional oral neuroleptics to the first atypical depot. *European Psychiatry.* 2005;20:379-385.
13. Mortimer AM. Antipsychotic treatment in schizophrenia: atypical options and NICE guidance. *European Psychiatry.* 2003;18:209-219.
14. Su J, Tang H, Mckittrick BA, Burnett DA, Zhang H, Smith-Torhan, Fawzi A et al. Modification of the clozapine structure by parallel synthesis. *Bioorg. Med. Chem.* 2006;16: 4548–4553.
15. Shayegan DK, Stahl SM. Atypical antipsychotics: matching receptor profile to individual patient's clinical profile. *CNS Spectr.* 2004;10Suppl 11:6-14.
16. Sampaio LRL. Efeitos comportamentais e neuroquímicos da clorpromazina e clozapina no modelo de esquizofrenia induzido pela cetamina em camundongos [dissertation]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará/UFC; 2011. 85p.
17. Garzya V, Forbes IT, Gribble AD, Hadley MS, Lightfoot AP, Payne AH et al. Studies towards the identification of a new generation of atypical antipsychotic agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2007;17:400-405.
18. Boyda HN, Tse L, Procyshyn RN, Honer WG, Barr AM. Preclinical models of antipsychotic drug-induced metabolic side effects. *Trends Pharmacol. Sci.* 2010;31:484-497.
19. Newman-Tancredi A, Kleven MS. Pharmacology of “atypicality” of antipsychotic drugs: status and perspectives. *Arch. Psych. Psych.* 2010;4: 5–11.
20. Sekhar KVG, Vyas DRK, Nagesh HN, Rao VS. Pharmacophore Hypothesis for Atypical Antipsychotics. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2012;33(9):2930-2936.
21. Tomic M, Ignjatovic D, Tovilovic G, Andric D, Roglic G, Kostic-Rajacic S. Two new phenylpiperazines with atypical antipsychotic potential. *Bioorg. Med. Chem.* 2007;17: 5749–5753.
22. Souza JS. Eficácia de antipsicóticos atípicos comparados à clozapina em pacientes com esquizofrenia refratária: revisão sistemática e metanálise [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo/USP; 2010. 182 p.

23. Lemke TL, Williams DA. *Foye's principles of medicinal chemistry*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2008. 1009 p.
 24. Jafari S, Fernandez-Enright F, Huang XF. Structural Contributions of antipsychotic drugs to their therapeutic profiles and metabolic side effects. *J. Neurochem.* 2012;120:371-384.
 25. Álamo C, López-Muñoz F. The Pharmacological Role and Clinical Applications of Antipsychotics' Active Metabolites: Paliperidone versus Risperidone. *Clin. Exp. Pharmacol.* 2013; 3:1-12
 26. Psicosite [Internet]. Seroquel. [cited 2014 abr 20]; Disponível em: <http://www.psicosite.com.br/far/anp/bula/seroquel-b.htm>
 27. Fernandes JPS. Planejamento e síntese de compostos potencialmente ligantes nos receptores 5-HT_{2c} e H₄ [dissertation]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2010. 224 p.
 28. Jafari S. Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Antipsychotic Drugs Based on Olanzapine that Display Reduced Weight Gain and Metabolic Side Effects [dissertation]. School of Health Sciences: University of Wollongong; 2012. 140 p.
 29. Peixoto HGE, Vasconcelos IAL, Sampaio ACM, Ito MK. Antidepressivos e alterações no peso corporal. *Rev. Nutr.*2008; 21(3):341-348.
 30. Sena EP, Sampaio AS, Quarantini LC, Oliveira IR. Diabetes mellitus e antipsicóticos atípicos. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2003; 25(4):253-257.
 31. Hounie A, Mathis A, Sampaio AS, Mercadante MT. Aripiprazol e síndrome de Tourette. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2004;26(3): 213.
-

FÁRMACOS PARA TURBINAR O CÉREBRO, USO POR QUEM PRETENDE ENTRAR NA UNIVERSIDADE

Nilton Cesar Pasquini*

Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)

*E-mail: niltoncesar.cesar@yahoo.com.br

Submetido em: 04/03/2015

Aceito em: 13/07/2015

Publicado em: 30/09/2015

Resumo

Este estudo tem o intuito de verificar o grau de utilização de fármacos para turbinar o cérebro entre pretendentes a prestar vestibular. Dos 3553 alunos entrevistados, 1236 (34,8%) afirmaram ter usado ou fazer uso de algum estimulante cerebral. No entanto, só foram considerados 710 (19,9%), pois estes souberam dizer o nome do fármaco, 255 (7,2%) relataram ter usado e 455 (12,8%) que usa atualmente, 1209 (34,0%) afirmaram conhecer alguém que faz uso. Os fármacos utilizados para “turbinar” o cérebro foram: memantina (2,96%), benzedrina (4,93%), donepezil (9,01%), metilfenidato amisulprida (19,87%) e modafinil (49%).

Palavras-chave: Melhorar a concentração, drogas, mau uso, psicoestimulantes.

Drugs to Boost the Brain, Use by Those Who Intend to Get to College

Abstract

This study aims to assess the level of drug use to boost brain function among applicants for college entrance exam. Out of 3,533 interviewed students, 1,236 (34.8%) reported having used or making use of some brain stimulants. However, we have only considered 710 (19.9%) respondents because they knew how to say the name of the drug. Among those, 255 (7.2%) reported having used and 455 (12.8%) that make current use. The total of 1209 (34.0%) respondents reported knowing someone who uses this type of drug. The drugs used to “supercharge” the brain were memantine (2.96%), amphetamine (4.93%), donepezil (9.01%), methylphenidate (19.87%) and modafinil (49%).

Keywords: Improve concentration, drug misuse, psychostimulants.

Fármacos para Impulsar el Cerebro, Uso por Quen Pretende Ingresar en la Universidad

Resumen

El estudio tiene como objetivo verificar el grado de utilización de fármacos para estimular el cerebro entre los pretendientes a tomar exámenes de ingreso. De los 3.553 estudiantes entrevistados, 1.236 (34,8%) afirmaron haber utilizado o hacer uso de algún estimulante del cerebro, sin embargo, solo se consideraron 710 (19,9%), pues estos supieran decir el nombre del fármaco, 255 (7,2%) relataron haber usado y 455 (12,8%) que utilizan actualmente, 1.209 (34,0%) afirmaron que conocían a alguien que hace uso. Los medicamentos utilizados para “reforzar” el cerebro fueron: memantina (2,96%), benzedrina (4,93%), donepezil (9,01%), metilfenidato amisulprida (19,87%) y modafinil (49%).

Palabras clave: Mejorar la concentración, abuso de drogas, psicoestimulantes.

1. INTRODUÇÃO

Na contemporaneidade, algumas substâncias psicotrópicas (psique – mente; topos – alteração), por modificarem os modos de ser, de viver e de trabalhar, apenas secundariamente são utilizadas para minimização do sofrimento. O seu consumo atual, diferentemente do que observava Freud em “O mal-estar na civilização”, vem constituindo uma estratégia de potencialização para aumento de produtividade diante das transformações ocorridas no modo de produção capitalista, desde as três últimas décadas do século XX. A busca de reconhecimento social pelo sujeito tem se tornado um estímulo para prescrições farmacológicas legais, para o uso recreativo e instrumental – voltado para a produção. Este tipo de consumo atinge escalas crescentes e alarmantes, cada vez maiores no Brasil e no mundo, especialmente, de substâncias que elevariam a capacidade produtiva⁽¹⁾.

No Brasil, ainda não existe uma palavra ou expressão estabelecida para nomear essa prática. Uso instrumental de remédios, drogas para turbinar o cérebro, neurologia cosmética, *doping* cerebral e drogas de inteligência foram alguns dos termos utilizados pela mídia para descrever o que no presente trabalho é chamado de aprimoramento cognitivo farmacológico ou neuroaprimoramento farmacológico⁽²⁾.

O paradoxo contemporâneo referente à atenção nos mostra que, ao mesmo tempo em que se exige mudança constante dos regimes atentos e de distração na vida presente repleta de estímulos - o flâneur de Benjamin hoje não consumiria estados intensivos sem passar pelas demandas de seu celular, orkut, twitter etc. -, exige-se a atenção normatizada necessária para os alunos que, no limite, vislumbram o *doping* mental como um oásis de eficácia diante de demandas infinitas⁽³⁾.

As drogas psicoativas agem no cérebro de várias maneiras. Os estimulantes fazem o cérebro funcionar mais rapidamente, colocando-o sob um estado de alerta exagerado. Eles causam euforia e bem-estar, com o consequente aumento da capacidade de trabalho. Como representantes principais desse grupo destacam-se as anfetaminas, o ecstasy e a cocaína. As drogas depressoras fazem com que o Sistema Nervoso Central (SNC) funcione de uma forma mais lenta, produzindo, assim, uma sensação de tranquilidade e de desligamento da realidade. São exemplos desse tipo de drogas os tranquilizantes e os barbitúricos. Os alucinógenos, por sua vez, atuam perturbando o funcionamento do cérebro. Eles não aceleram nem diminuem o ritmo do SNC, mas são capazes de provocar delírios, ilusões e alucinações acompanhados por relaxamento ou euforia. Alguns dos principais representantes desse grupo são a maconha, o LSD e o chá de cogumelos⁽⁴⁾.

2. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no período de maio a julho de 2013 e outubro a dezembro de 2013 com alunos de cursinho, e de escola particular e pública que iriam prestar vestibular, utilizou-se um delineamento transversal.

O universo amostral abrangeu 3553 alunos, todos residentes no estado de São Paulo. Para a coleta de dados, foi utilizado um questionário fechado, de caráter anônimo, de autoperenchimento, baseado no estudo de Babcock e Byrne⁽⁵⁾.

3. RESULTADOS

O estudo não tem o intuito de comparar estatisticamente a porcentagem de alunos entre escolas, se é pública, particular ou cursos, mas sim mostrar como está o uso dos fármacos para turbinar o cérebro.

Na tabela 1, podemos observar a quantidade de alunos entrevistados (3553), a área que pretende prestar vestibular e a porcentagem de mulher e homem. O curso de Medicina é analisado separadamente por apresentar alto índice de alunos conhecedores do fármaco. Nos cursos de Engenharias de áreas de exatas, o estudo mostrou a prevalência do uso de fármacos pelos pretendentes ao curso de engenharia, quando comparado com cursos como Matemática, Física, Química etc. Posada⁽⁶⁾ em

estudo realizado pelo Ministério da Saúde da Colômbia, demonstrou que, dentre os grupos de risco selecionados em todo país, os estudantes de Medicina foram os maiores consumidores. Babcock e Byrne⁽⁵⁾ encontraram a prevalência de 16% em estudo realizado numa universidade do Estado de Massachusetts.

Tabela 1: Entrevistados, divididos por áreas e sexo.

Cursos	Quantidade	%	Mulher (%)	Homem (%)
Engenharia	901	25,36	28,75	71,25
Medicina	865	24,35	47,51	52,49
Humanas	658	18,52	77,35	22,65
Biológicas	635	17,87	45,83	54,17
Exatas	494	13,90	18,42	81,58
Total	3553	100,00		

Dos 3553 alunos entrevistados, 1236 (34,8%) afirmaram ter usado ou fazer uso de algum estimulante cerebral. No entanto, só foram considerados 710 (19,9%), pois estes souberam dizer o nome do fármaco, 255 (7,2%) relataram ter usado e 455 (12,8%) que usa atualmente, 1209 (34,0%) afirmaram conhecer alguém que faz uso, 482 (13,6%) usariam se julgassem necessário.

Tabela 2: Quantidade e porcentagem de alunos que usou, usa ou pretende usar.

Cursos	Quant.	Usou		Usa		Pretende usar	
		Quant.	%	Quant.	%	Quant.	%
Engenharia	901	47	5,22	79	8,77	16	1,78
Medicina	865	167	19,31	271	31,33	34	3,93
Humanas	658	11	1,67	16	2,43	5	0,76
Biológicas	635	27	4,25	41	6,46	9	1,42
Exatas	494	3	0,61	48	9,72	27	5,47
Total	3553	255	7,18	455	12,81	91	2,56

Os fármacos utilizados para “turbinar” o cérebro foram: memantina (2,96%) utilizada no tratamento da doença de Alzheimer, benzedrina (4,93%), donepezil (RS)-2-[(1-benzyl-4-piperidyl)methyl]- 5,6-dimethoxy-2,3-dihydroinden-1-one (9,01%) utilizada no tratamento da doença de Alzheimer, metilfenidato methyl pehnyl(piperidin-2-yl) acetato (14,23%) usado para o controle de crianças com Transtorno de Déficit de Atenção com ou sem Hiperatividade (TODA/H), amissulprida prescrito para estados deficitários e distímia (19,87%) e modafinil (RS)-2-benzhydrylsulfinyl ethanamide (49%).

Os homens representam 65,1% (462) e as mulheres 34,9% (248) dos 710. Todos os 710 (19,9%) estudantes afirmaram que a razão para o uso do fármaco foi o aumento de rendimento escolar, 100% consideram que o consumo dessa substância seja feita de forma abusiva; 931 (26,2%) sabem onde comprar a droga sem prescrição médica. Dos 710 pesquisados, 135 (19%) associam com Piracetam e 201 (28,3%) com *Ginkgo biloba* L.

O Piracetam é indicado para tratamento sintomático da síndrome psico-orgânica cujas características melhoradas pelo tratamento são: perda de memória, alterações da atenção e falta de direção. Tratamento de acidente vascular cerebral e de suas sequelas, principalmente afasia. Tratamento de dislexia em crianças, em associação com medidas apropriadas tais como logopedia. Tratamento de vertigem e alterações de equilíbrio associadas, exceto nas vertigens de origem vasomotora ou psíquica^(7,8).

Os efeitos da *Ginkgo biloba* L sobre a cognição normal foram avaliados por alguns estudos controlados em amostras com adultos jovens e idosos. O uso de 180 mg/dia de EGb761 durante 6 semanas em 48 adultos com mais de 55 anos associou-se à melhora objetiva na velocidade de processamento cognitivo, além de uma impressão subjetiva de melhora das habilidades gerais de memória^(9,10).

Memantina possui um mecanismo de ação que envolve um antagonismo não competitivo de baixa afinidade na subunidade NR2B do receptor NMDA. Isso leva a um bloqueio parcial do influxo excessivo de cálcio decorrente do aumento de glutamato na fenda sináptica, mas é capaz de manter a atividade do receptor em níveis fisiológicos⁽¹¹⁾. O fabricante LIBBS⁽¹²⁾ recomenda que seja iniciado o tratamento com Zider® (cloridrato de memantina) de forma gradativa e ingerida oralmente, mantendo 20 mg ao dia. O nosso estudo constatou que 45% utilizou 20 mg ao dia, inalado via nasal.

Acredita-se que o cloridrato de donepezil exerça sua ação terapêutica incrementando a função colinérgica. Isso se dá com o aumento da concentração da acetilcolina através da inibição reversível da hidrólise pela acetilcolinesterase. Se o mecanismo de ação proposto for correto, o efeito de donepezil poderá diminuir à medida que o processo da doença avança e um menor número de neurônios permaneça funcionalmente intacto. Não há comprovação de que o donepezil mude o curso do processo demencial subjacente⁽⁶⁾.

A Wyeth⁽¹³⁾ relata que, doses de 5 mg e 10 mg de Eranz® (cloridrato de donepezila) mostraram ser eficazes em ensaios clínicos comparativos com placebo, quando administradas uma vez ao dia. Determinou-se que 16,5% dos alunos que admitiu ter usado, ingeriu 20 mg ao dia.

Dez por cento admitiram usar o Concerta® 54 mg (cloridrato de metilfenidato) uma vez ao dia. Para Singh⁽¹⁴⁾ e Dupanloup⁽¹⁵⁾, o valor do uso terapêutico do fármaco está fundamentado no diagnóstico de TDAH. A ampliação da definição da doença e a confiabilidade nos sinais e sintomas clínicos não laboratoriais passaram a servir como referência para legitimar o diagnóstico. As autoridades sanitárias alegam que existem indícios de abuso e desvio de utilização para finalidades não terapêuticas. O medicamento vem sendo foco de vários estudos e questionamentos quanto ao seu uso massivo e efeitos secundários, pois sua utilização já ocorre entre empresários e estudantes, para fins de emagrecimento e uso recreacional, na forma triturada ou diluída em água para ser injetado⁽¹⁶⁾. Greely *et al.* ⁽¹⁷⁾ investigaram 1.427 pesquisadores, na qualidade de sujeitos da pesquisa, com o objetivo de avaliar o desempenho profissional. Verificaram que 20% dos entrevistados declaram fazer uso de metilfenidato como estimulante para melhorar a concentração e focar a memória.

O nosso estudo mostrou que 2866 (55,9%) não fizeram uso de metilfenidato e 2286 (44,1%) já fizeram uso em algum momento na vida. Nenhum dos entrevistados afirmou ser portador de TDAH; 23 (0,45%) relataram conseguir o receituário para aquisição do fármaco apenas para melhorar o rendimento escolar. O consumo do medicamento é maior pelos alunos do sexo masculino (74,5%), Cruz ⁽¹⁸⁾ também observou esta prevalência ao estudar alunos de medicina. Dos 2286 estudantes, 1435 conhece alguém que usa ou já usou, DeSantis⁽¹⁹⁾ (2008) demonstrou a prevalência de 34%, entre estudantes de diversas faculdades norte- americanas.

Forlini e Racini⁽²⁰⁾ encontraram diferentes pontos de vista ao analisarem os diversos meios que discutem o assunto. Os defensores argumentam que o metilfenidato é uma droga segura com poucos efeitos colaterais e que a utilização de psicoestimulantes para aperfeiçoamento cognitivo é um objetivo louvável e uma escolha pessoal. Em oposição, vários

pesquisadores alegam que seria antiético melhorar deliberadamente a concentração e memória de um indivíduo, além de questionar as vantagens do metilfenidato, uma vez que estas são mínimas e os riscos do uso a longo prazo são desconhecidos.

O Socian® (amissulprida) é um neuroléptico pertencente à classe das benzamidas substituídas e que se caracteriza por sua rapidez de ação e por seu perfil terapêutico bipolar, com atividade sobre sintomas tanto produtivos quanto deficitários. No homem, a amissulprida liga-se seletivamente e com elevada afinidade aos receptores dopaminérgicos subtipos D2 e D3, sendo desprovida de afinidade para os receptores subtipos D1, D4 e D5. Em animais, nas doses recomendadas no tratamento da distímia, a amissulprida bloqueia preferencialmente os receptores pré-sinápticos D2 e D3, induzindo a liberação de dopamina e produzindo uma intensificação da transmissão dopaminérgica, a qual é responsável por sua ação desinibitória e atividade do tipo antidepressiva⁽²¹⁾.

No nosso estudo 7% dos estudantes faz uso de 1000 mg ao dia. A Sanofi⁽²¹⁾ descreve que o Socian® (amissulprida) nas síndromes psicóticas produtivas, o esquema terapêutico preconizado é de 600 a 1200 mg ao dia.

O modafinil é uma droga estimulante e promotora da vigília que é estruturalmente e farmacologicamente distinta dos estimulantes tradicionais do SNC. Seu mecanismo de ação é discutível, mas acredita-se que seu efeito seja na inibição seletiva da recaptação de serotonina ou via adrenalina, noradrenalina, serotonina ou sistema gabaérgico⁽²²⁾. Segundo Schwartz⁽²³⁾, são aprovados para uso em pacientes com SED relacionada à narcolepsia, SAOS (com sonolência residual após o uso do CPAP) e trabalhadores em turnos. A Academia Americana de Medicina do Sono recomenda o modafinil como tratamento padrão para SED causada por narcolepsia.

De acordo com um estudo do *King's College* de Londres, o modafinil atua de maneira diferente nas pessoas, ou seja, o efeito da droga é maior nas pessoas menos inteligentes, assim, “[...] as pílulas da inteligência poderiam aproximar os menos favorecidos intelectualmente da média da população”⁽²⁴⁾.

Brant e Carvalho⁽¹⁾ salientam que uma droga leve pode se tornar pesada (e vice-versa) dependendo da sua forma de socialização no âmbito da cultura e de seu uso na esfera individual, considerando as interações rizomáticas entre indivíduo e sociedade. Os efeitos de uma droga em decorrência do abuso são atravessados também pelo conjunto de idéias, imagens e percepções que se constroem socialmente sobre a substância química. Extratos de cactos peruanos ou do peote, por exemplo, assumem dimensões e manifestações corpóreas completamente diferenciadas quando utilizados em rituais religiosos e quando consumidos recreativamente.

Quando uma droga psicoativa é legalmente condicionada como terapêutica, a medicina torna-se a instituição responsável pelo estabelecimento do uso “controlado”. Os usuários de uma mesma substância são reconhecidos socialmente como doentes quando recebem uma prescrição médica, e são rotulados de dependentes químicos na utilização para outros fins, que não sejam para o tratamento de uma doença. Ambos constituem uma população cada vez maior, merecendo especial atenção da saúde pública. Isso não significa a necessidade de se atender à imposição de uma sociedade demandante de respostas em curto prazo, o que dificulta o cuidado de si e o uso dos prazeres⁽²⁵⁾. Todo fármaco contém uma faixa de ação terapêutica⁽¹⁰⁾, conhecida e prescrita pelo médico, e ao usar para outros fins não segue o indicado por especialistas.

Nenhum dos estudantes tem conhecimento da farmacologia⁽⁸⁾ dos fármacos usados, no entanto 634 (89,3%) se preocupam com as reações futuras.

4. CONCLUSÃO

O estudo mostra o preocupante consumo abusivo de fármacos como memantina, benzedrina, donepezil, metilfenidato, amissulprida e modafinil sem prescrição médica, para fins não recomendados pelo fabricante, representando um grave problema de saúde pública. A busca incessante dos alunos de superar limites, de sobressair sobre os demais arriscando a saúde, torna esses fármacos um sonho de consumo, um fetiche.

5. REFERÊNCIAS

1. Brant LC, Carvalho TRF. Metilfenidato: medicamento gadget da contemporaneidade. *Interface – Comunicação, Saúde, Educação*. 2012;16(42):623-636.
2. Barros D; Ortega F. *Metilfenidato e aprimoramento cognitivo farmacológico*: representações sociais de universitários. *Saúde Soc*. São Paulo. 2011,20(2):350-362.
3. Tucherman I; Clair ES. *Turbinando os cérebros, construindo corpos*: sobre mídia, biotecnologias e eficácia. Disponível em: <http://interin.utp.br/index.php/vol11/article/viewFile/66/56>. Acessado em: 21/02/2014.
4. *Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas* (CEBRID). 2007. Disponível em: <http://www.unifesp.br> Acessado em: 01/02/2014.
5. Babcock Q; Byrne T. 2000. *Student perceptions of methylphenidate abuse at a public liberal arts college*. *J. Am. Coll. Health*. 2000, 49:143-145.
6. Posada J. *Uso y abuso del metilfenidato en Colombia*. Ministerio de Salud. Bogotá. AlzheimerMed, 1996. Disponível em: <http://www.alzheimermed.com.br/tratamento/inibidores-da-acetilcolinesterase-parte-1> Acessado em: 21/02/2014.
7. *Aventis Pharma Ltda*. Disponível em: https://www.bibliomed.com.br/bulario/exibir_farmaco.cfm?id=3280 Acessado em: 15/03/2015.
8. Pasquini NC. *Uso de metilfenidato (MFD) por estudantes universitários com intuito de “turbinar” o cérebro*. *Biofar, Rev. Biol. Farm.*, 2013,9(2):107-2013.
9. Mix JA, Crews Jr W.D. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial of Ginkgo biloba extract EGb 761 in a sample of cognitively intact older adults: neuropsychological findings. *Hum Psychopharmacol*, 2000, 17(6):267-77.
10. Pasquini NC; Pasquini NLS. Biodisponibilidade da azitromicina livre e complexada em β -ciclodextrinas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 2008, v. 5(1):46-51. Disponível em: <http://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/4613/3935> Acessado em: 21/02/2014.
11. Jonhson JW; Kotermanski SE. *Mechanism of action of memantine*. *Curr Opin Pharmacol*. 2006,6:61-67.
12. *LIBBS*. Disponível em: <http://www.libbs.com.br/Arquivos/Produto/ZIDER.pdf>. Acessado em: 22/02/2014.
13. *Wyeth*. Disponível em: <http://www.pfizer.com.br/arquivoPdf/Eranz.pdf>. Acessado em: 02/02/2014.
14. Singh, I. Not just naughty: 50 years of stimulant drug advertising. In: TONE, A.; WATKINS, E. (Orgs.). *Medicating modern America: prescription drugs in history*. New York: New York University Press. 2007, p.131-5.

15. Dupanloup A. *L'Hyperactivité infantile: analyse sociologique d'une controverse socio-médicale*. Tese (Doutorado) - Université de Neuchâtel, Neuchâtel. 2004.
 16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resultados de 2009. Brasília, 2010. P.1-51.
Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotside/sngpc/relatorio_2009.pdf. Acessado em: 10/12/2014.
 17. Greely, H., Sahakian, B., Harris, J., Kessler, R. C., Gazzaniga, M., Campbell, P., Farah, M. J. Towards responsible use of cognitive-enhancing drugs by the healthy. *Nature*, 2008,456(7223):702-5.
 18. Cruz TCSC; Barreto Junior EPS; Gama MLM; Maia LCM; Melo Filho MJX; Neto OM; Coutinho DM. Uso não-prescrito de metilfenidato entre estudantes de medicina na Universidade Federal d Bahia. *Gaz. Méd. Bahia*. 2011,81(1)3-6.
 19. DeSantis, AD, Webb EM, Noar SM. Illicit use of prescription ADHD medications on a college campus: a multimethodological approach. *J. Am. Coll. Health*,2008,57:315–324.
 20. Forlini C, RACINE E. *Disagreements with implications: diverging discourses on the ethics of non-medical use of methylphenidate for performance enhancement*. *BMC Med. Ethics*. 2009,10:1-13.
 21. Sanofi. *Socian*. Disponível em: <http://www.def.com.br/HTML/Bulario/4309.htm>. Acessado em: 15/12/2014.
 22. Neu D, Linkowski P, Le Bon O. Clinical complaints of daytime sleepiness and fatigue: How to distinguish and treat them, especially when they become 'excessive' or 'chronic'? *Acta Neurologica Belgica*, 2010, 110(1):15-25.
 23. Schwartz JR, Roth T, Hirshkowitz M, Wright KP. Recognition and management of excessive sleepiness in the primary care setting. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*. 2009, 11(5):197-204.
 24. Nogueira S. A pílula da inteligência: já existem medicamentos capazes de turbinar o cérebro – para você pensar, estudar e trabalhar mais e melhor. Mas até que ponto é seguro tomá-los? *Superinteressante*, São Paulo, ed. 2009, 271:62-71.
 25. Foucault M. *História da sexualidade: o uso dos prazeres*. Rio de Janeiro: Graal. Jonson. J. W.; Kotermanski, S. E. (2006). Mechanism of action of memantine. *Curr Opin Pharmacol*, 1084,6.
-

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF VULPINIC ACID AT GLASSY CARBON ELECTRODE

Luane Ferreira Garcia* e Eric de Souza Gil
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG)
*E-mail: luane.fg@hotmail.com

Submetido em: 15/04/2015

Aceito em: 16/06/2015

Publicado em: 30/09/2015

Abstract

The electrochemical redox behavior of vulpic acid, a lichen derivative, mainly investigated by its antibiotic activity was carried out in aqueous electrolytes at glassy carbon electrode. This investigation was developed by using cyclic, differential pulse and square wave voltammetry in a wide range of pH. Thus, the electrochemical oxidation of vulpic acid showed to occur in a single anodic and irreversible process with strong adsorption of oxidation products. The oxidation of adsorbed species leads to a second anodic peak, meanwhile the first anodic peak decreases intensely. Such events showed to be higher in non-neutral pH, and should be associated to hydrolysis of lactone.

Keywords: Lichens, antibiotic, voltammetric analysis.

Comportamento Eletroquímico do Ácido Vulpínico em Eletrodo de Carbono Vítreo

Resumo

O ácido vulpínico é um produto extracelular de líquens que apresenta atividade antibiótica. O comportamento eletroquímico deste composto foi obtido com eletrodos de carbono vítreo em eletrólito aquoso. As análises foram realizadas por voltametria cíclica, pulso diferencial e onda quadrada, em uma ampla faixa de pH. A oxidação eletroquímica do ácido vulpínico demonstrou ter ocorrido em um único processo anódico e irreversível, com uma forte adsorção dos produtos de oxidação. As espécies adsorvidas conduziram a um segundo pico anódico, enquanto isso o primeiro pico anódico diminui intensamente. Tais eventos foram maiores em pH não-neutro, e podem estar associados à hidrólise da lactona.

Palavras-chave: Líquens, antibiótico, análises voltamétricas.

Comportamiento Electroquímico del Ácido Vulpínico en Electrodo de Carbono Vítreo

Resumen

El ácido vulpínico es un producto extracelular de los líquenes, que presentan actividad antibiótica. El comportamiento electroquímico de este compuesto se obtuvo con electrodos de carbón vítreo en electrolito acuoso. Los análisis se realizaron mediante voltametría cíclica, pulso diferencial y de onda cuadrada, en un amplio rango de pH. La oxidación electroquímica de ácido vulpínico se ha demostrado en un solo proceso anódico e irreversible, con una fuerte adsorción de productos de oxidación. Las especies adsorbidas condujeran a un segundo pico anódico, mientras que el primer pico anódico disminuye intensamente. Estos eventos fueron más altos en pH no neutro y pueden estar asociados con la hidrólisis de la lactona.

Palabras clave: Líquenes, antibióticos, análisis voltamétrica.

1. INTRODUCTION

Together with plants, lichens are one of the main sources of natural products, whose interest is governed by a wide range of biotechnological applications, *i.e.* Pharmaceutical, Cosmetic, Dyes, and poisons⁽¹⁻⁶⁾. The organic compounds produced by lichens can be divided into two groups: primary metabolites and secondary metabolites. Among the well-known secondary metabolites is vulpinic acid (VA)⁽⁷⁾.

Chemically, VA, methyl 2-(3,5-dioxo-4-phenyl-2-furylidene)-2-phenylacetate is an ethanol soluble bright yellow pigment⁽⁸⁾. Also named as vulpic acid, VA is found in wide variety of lichen and mushrooms species^(9,10).

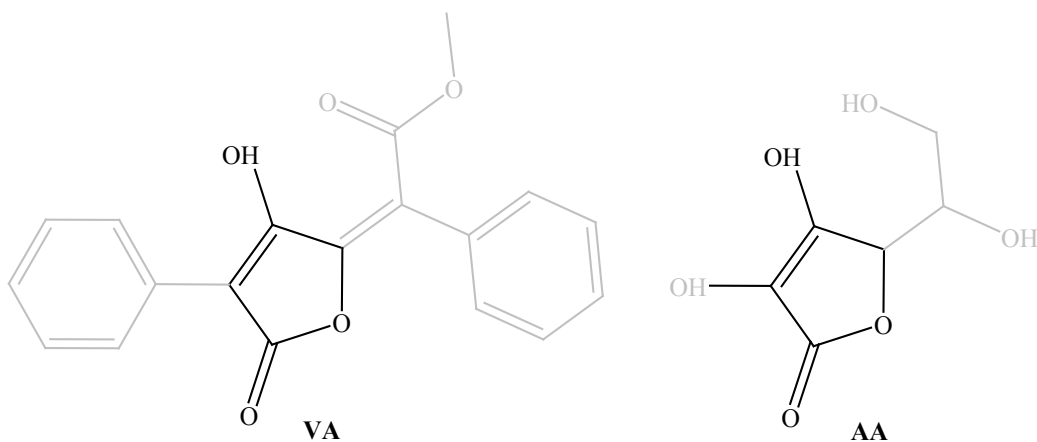
Owing to its diverse biological activities, lichens containing VA have a strong history of medicinal use⁽¹¹⁾. As in the case of usnic acid, the most extensively studied lichen metabolite, VA has been also speculated by its antibiotic and antiproliferative activity^(1,2,5).

Although, the antimicrobial and antiproliferative activities of VA showed to be significantly higher against Gram-positive bacteria^(12,13), the toxicity of VA against mammalian cells is not negligible. As an example, it was also found that vulpinic acid was an effective antiherbivorous, being used as a grazing insects or invertebrates repellent⁽¹⁴⁾. Meanwhile, lichens extracts containing high amounts of VA, *i.e.* *Lethariavulpina* and *Vulpicidapinastris* were used by Eskimos to poison wolves in Northern Europe. Notwithstanding, the large amounts of VA and pinastric acid, both natural dyes, confer to such lichen species their yellow color. Thus, the dyes and toxicological properties of VA and its derivatives have attracted the attention of the scientific community^(8,13,14).

However, despite its inherent toxicity, VA, and its derivatives have displayed anti-inflammatory activity, meanwhile the therapeutic ratio was moderately good^(9,13).

On the other hand, VA and chemical congeners have exhibited strong antioxidant activity. The antioxidant properties of several VA analogs were evaluated using spectrometric assays, *i.e.* ABTS and DPPH free radical scavenging assays. The importance of the central tetronic ring (Figure 1), whose central heterocyclic ring resembles ascorbic acid (AA) was evidenced⁽¹⁵⁾.

Figure 1: Chemical structure of vulpinic acid (VA) and ascorbic acid (AA).



Such biological properties are often related to a well-defined chemical structural pattern but they deserve further research^(4,15).

However, in spite of all promising applications of VA, the studies concerning its physicochemical properties are scarce and outdated^(16,17).

The electroanalytical assays leading to the determination of physicochemical parameters, e.g., redox potential, the number of electrons transferred, electrode-reaction rate constant, are a relevant tool to characterize chemical compounds⁽¹⁸⁾. Furthermore, the understanding of the redox behavior is of fundamental importance for species with recognized antioxidant activity^(19,20). On the other hand, such studies may also provide useful data for the development of electroanalytical methods.

2. EXPERIMENTAL

2.1 Materials and Reagents

The VA was obtained from Extrasynthese (Genay, France) and used without further purifications. All supporting electrolyte solutions were prepared using analytical grade reagents and purified water from a Millipore Milli-Q system (conductivity $\leq 0.1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Microvolumes were measured using EP-10 and EP-100 Plus Motorized Microliter Pippettes (Rainin Instrument Co. Inc., Woburn, USA).

The pH measurements were carried out using a CrisonmicropH 2001 pH-meter with an Ingold combined glass electrode.

2.2 Voltammetric Parameters and Electrochemical Cells

Voltammetric experiments were carried out using an Autolab PGSTAT 30 running with GPES 4.9 software, (EcoChemie, Utrecht, The Netherlands), and a three-electrode system in a 1.0 mL compartment electrochemical cell of capacity 2 ml (Cypress System Inc., USA). Glassy carbon electrode, GCE ($d = 1.5 \text{ mm}$) was the working electrode, Pt wire the counter electrode, and the Ag/AgCl (3M KCl) reference electrode.

In order to ensure the reproducibility of results, the GCE was polished using diamond spray (particle size $3 \mu\text{m}$) before each experiment. After polishing, it was rinsed thoroughly with Milli-Q water. Following this mechanical treatment, the GCE was placed in buffer supporting electrolyte and voltammograms were recorded until a steady state baseline was obtained.

The experimental conditions for differential pulse voltammetry were: pulse amplitude 50 mV, pulse width 70 ms, and scan rate 5 mV s^{-1} . For square wave voltammetry a frequency of 75 Hz and a potential increment of 2 mV, corresponding to an effective scan rate of 100 mVs^{-1} were used.

The electrochemical experiments were done at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) in different pH supporting electrolytes.

2.3 Acquisition and Presentation of Voltammetric Data

The differential pulse voltammograms presented were background-subtracted and baseline-corrected using the moving average application with a step window of 5 mV included in GPES version 4.9 software. This mathematical treatment improves the visualization and identification of peaks over the baseline without introducing any artifact, although the peak intensity is, in some cases, reduced ($<10\%$) relative to that of untreated curve. Nevertheless, this mathematical treatment of the original was used for all experimental voltammograms for a better and clearer identification of the peaks. The values for peak current presented in all plots were determined from the original untreated voltammograms after subtraction of baseline.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The cyclic voltammogram obtained for $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ VA in pH 8.0 showed two anodic peaks, 1a and 2a, at $E_{p1a} = 0.55 \text{ V}$ and $E_{p2a} = 1.1 \text{ V}$, on the reverse scan the corresponding cathodic peak cannot be observed in such conditions. After successive scans, the peak current falls intensely, showing strong adsorption process leading to the blockade of electrode surface (Figure 2 A).

When the scans were performed on the inverse direction from 1.1 V to -0.25 V except, one reduction peak was observed at $E_{p1c} = 0.1 \text{ V}$ (Figure 2 B). On the reverse scan, one anodic peak, 1a, appears at $E_{pa1} = 0.65 \text{ V}$.

The adsorptive behavior of VA was more evidenced in DPV experiments, where successive scans were performed without cleaning the electrode surface. Thus, it can be observed in Figure 3, that the peak currents, I_{p1a} of peak 1a at $E_{p1a} \sim 0.5 \text{ V}$, pH 4.0 are progressively decreased and shifted to more positive peak potentials, meanwhile a second anodic peak, 2a appears at $E_{p2a} \sim 0.74 \text{ V}$.

Also, the adsorption was strongly enhanced in higher molar concentrations, thus leading to very short linear range and low accuracy for quantitative analysis of this natural product (Figure 3 B).

Figure 2: Cyclic voltammograms obtained for $35 \mu\text{mol L}^{-1}$ VA in 0.1 mol.L^{-1} phosphate buffer, pH 8.0 (A) or 0.1 mol.L^{-1} acetate buffer, pH 4.0 (B); (—) first, (- - -) second and (•••) third scans at $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Scan range from 0 to $+1.25 \text{ V}$ (A) or from $+1.1$ to -0.25 V (B).

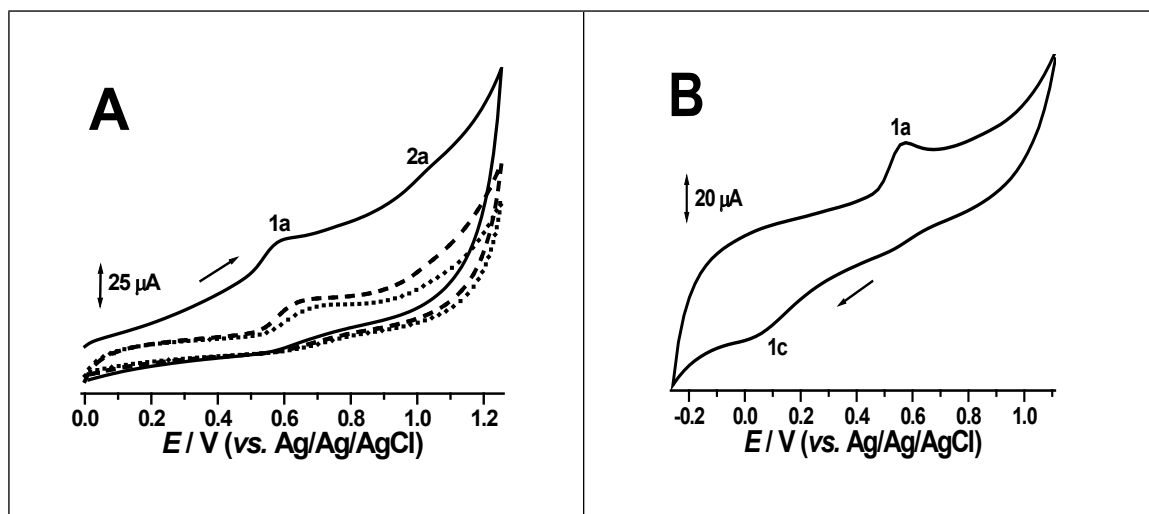
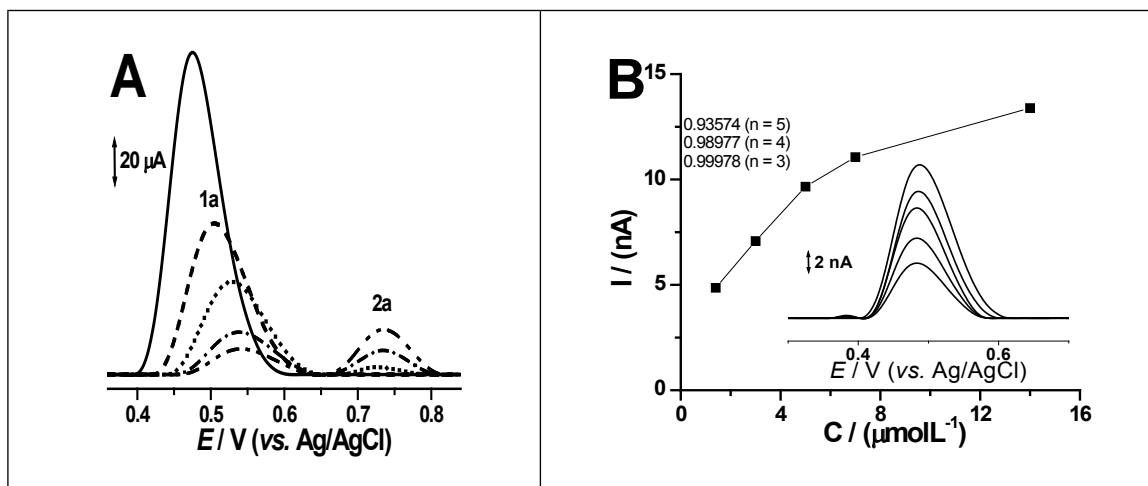


Figure 3: (A): DP voltammograms base-line corrected of 20 μM VA obtained in pH 4.0 0.1 mol.L⁻¹ acetate buffer; (—) first scan, (- - -) second scan, (•••) third scan, (- • -) forth scan, and (- • • -) fifth scan. (B): Calibration graph obtained for successive increasing concentrations of VA by DPV.



The strong adsorptive behavior, as well the appearance of an anodic peak, 2a only at the second scan, suggest the generation of electroactive oxidation products (Figure 3A).

The pH dependence was also evaluated by DPV, and it has shown that peak potentials decrease linearly up to pH 6.0, then it becomes almost constant. The 3D plot as well the E_p , I_p vs. pH plot are shown on Figure 4.

The slope of 30 mV/pH is very distant from the theoretical value of 59 mV/pH for equal involvement between protons and electrons. Indeed, the electro-oxidation of VA showed to be very complex in nature, in which hydrolytic and polymeric reactions may exert some influence. The adsorption process was also expressive at higher scan rates, as it can be seen in the deformed SW voltammograms (Figure 5).

Figure 4: 3D plot of DP voltammograms base-line corrected (A) and E_p , I_p vs. pH plots (B) obtained for 30 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ VA in different pH solutions.

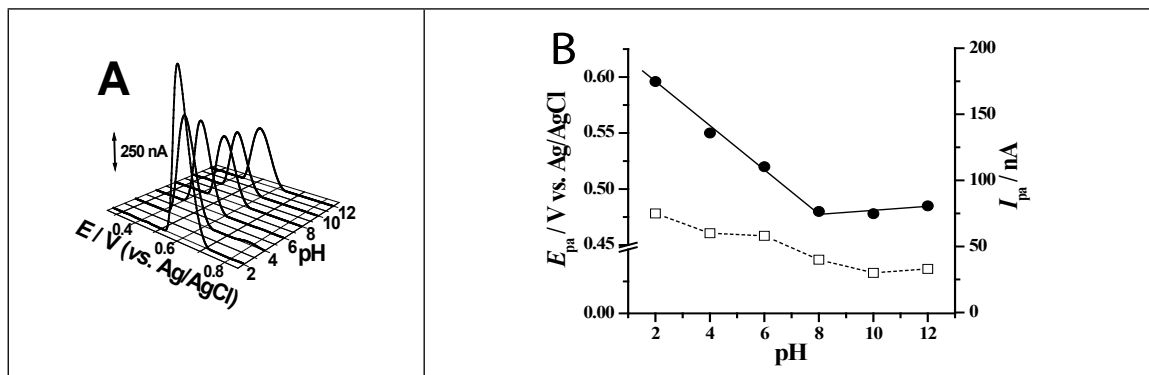
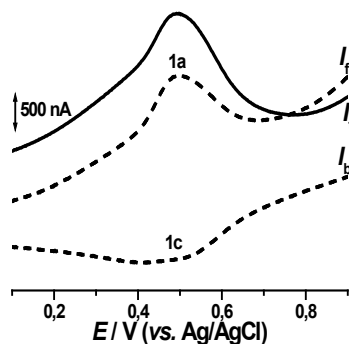
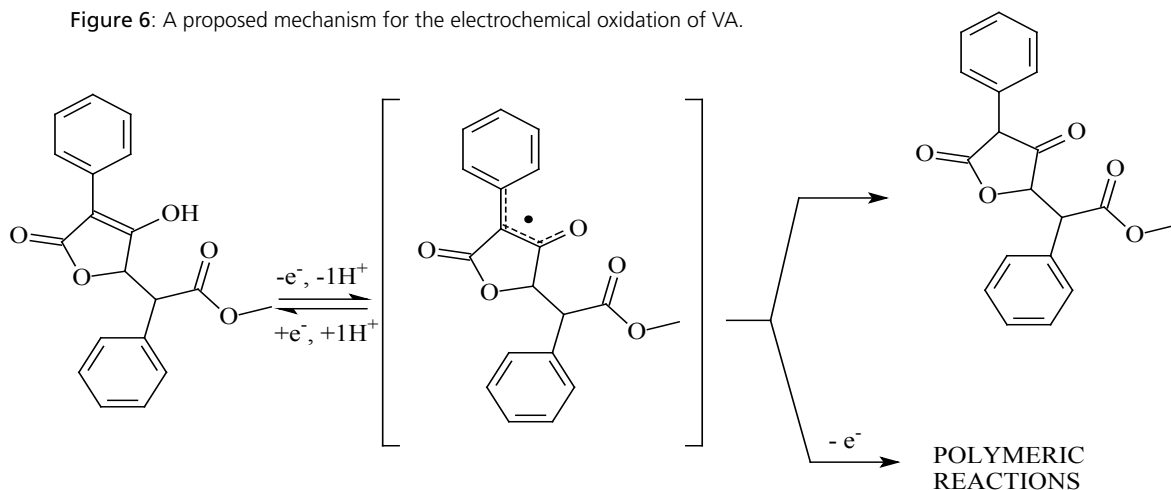


Figure 5: SW voltammograms of 40 μM vulpic acid in pH = 7.0 0.1 M phosphate buffer; $f = 50$ Hz, $\Delta E_s = 2$ mV, $v_{\text{eff}} = 100$ mV s^{-1} ; I_t - total, I_f - forward and I_b -backward.



Moreover, it was also observed on SWV experiments, that the forward and backward currents are almost equivalent, which implies that the process is quasi-reversible. Therefore, the changing of electrode surface caused by adsorptive process not only reduces the anodic peaks observed on successive scans but also jeopardizes the observation of the correspondent cathodic peak on CV. The proposed mechanism is presented on Figure 6.

Figure 6: A proposed mechanism for the electrochemical oxidation of VA.



4. CONCLUSION

The electrochemical behavior of vulpic acid was carried with glassy carbon electrodes and showed to occur in a single anodic and irreversible process, with strong adsorption of oxidation products. It is concluded that such events may be associated with hydrolysis of the lactone.

5. REFERENCES

1. Lawrey JD. Biological role of lichen substances. *Bryologist*. 1986;89:111-122.
2. Lauterwein M, Oethinger M, Belsner K, Peters T, Marre R. In vitro activities of the lichen secondary metabolites vulpinic acid, (+)-usnic acid and (-)-usnic acid against aerobic and anaerobic microorganisms. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1995;39:2541-2543.
3. Barnes J. Pharmacognosy in the 21st century. *Pharm J*. 2000;264:701-703.
4. Müller K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Appl. Microbiol. Biotech*. 2001;56:9-6.
5. Cochietto M, Skert N, Nimis PL, Sava G. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*. 2002;89(4):137-146.
6. Anar M, Kizil HE, Agar G. The determination of antioxidative effect and anticancer potential of vulpinic acid. *Journal of biotechnology*. 2014;185:s107.
7. Türk AÖ, Yilmaz M, Kivanç M, Türk H. The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Cetrariaaculeata* and its protolichesterinic acid constituent. *Verlag der ZeitschriftfürNaturforschung*. 2003;58:850-854.
8. Kanokmedhakul S, Kanokmedhakul K, Prajuabsuk T, Soyong K, Kongsaree P, Suksamrarn A. A bioactive triterpenoid and vulpinic acid derivatives from the mushroom *Sclerodermacitrinum*. *Planta Med*. 2003;69(6):568-571.
9. Honda NK, Vilegas W. A química dos líquens. *Quím. Nova*. 1999;22(1):110-125.
10. Mattsson JE, Lai MJ. Vulpicida, a new genus in parmeliaceae (Lichenized Ascomycetes). *Mycotaxon*. 1993;46:425-428.
11. Shukla V, Joshi GP, Rawat MSM. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochemistry Reviews*. 2010;9(2):303-314.
12. Nadir MT, RashanLJ, AyoubMT, AwniLT. Antibacterial and antiproliferative activities of vulpinic acids in vitro. *Farmaco*. 1992;47(5):643-647.
13. Bourdreux Y, Bodio E, Willis C, Billaud C, Gall T, Mioskowski C. Synthesis of vulpinic and pulvinic acids from tetronic acid. *Tetrahedron*. 2008;64:8930-8937.
14. Emmerich R, Giez I, Lange OL, ProkschP. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodopteralittoralis*. *Phytochem*. 1993;33(6):1389-1394.
15. Nadal B, Sophie AL, Laurent T, Pin S, Renault JP, Cressier D, et al. Synthesis and antioxidant properties of pulvinic acids analogues. *Bioorg. Med. Chem*. 2010;18:7931-7939.
16. Arup U, Ekman S, Lindblom L, Mattsson J-E. High performance thin layer chromatography (HPTLC), an improved technique for screening lichen substances. *Lichenologist*. 1993;25(1):61-71.
17. Yoshimura I, Kinoshita Y, Yamamoto Y, Huneck S, Yamada Y. Analysis of secondary metabolites from Lichen by high performance liquid chromatography with a photodiode array detector. *Phytochem. Anal*. 1994;5: 197-205.
18. Gil ES, Couto RO. Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2013;23(3):542-558.

19. Reis NS, SerranoSHP, MeneghattiR, Giles. Métodos eletroquímicos usados para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. *Lat. Am. J. Pharm.* 2009;28(6):949-53.
20. Jorge SMA, Pontinha ADR, Marques MPM, Oliveira-BrettAM. Solid state electrochemical behavior of usnic acid at a glassy carbon electrode. *Anal. Lett.* 2010;43:1713-1722.

Acknowledgement: CNPq financial support, Projeto Universal 2013.



FF
FACULDADE DE
FARMÁCIA