

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE ODONTOLOGIA**

MARCUS ANTÔNIO BEZERRA DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DOS POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS
DO MONOTERPENO 7-HIDROXICITRONELAL: ENSAIOS *IN SILICO***

PATOS-PB

2017

MARCUS ANTÔNIO BEZERRA DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DOS POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS
DO MONOTERPENO 7-HIDROXICITRONELAL: ENSAIOS *IN SILICO***

Trabalho de conclusão do curso (TCC) apresentado à coordenação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

PATOS-PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S586b Silva, Marcus Antônio Bezerra da
Bioprospecção dos potenciais farmacológicos e toxicológicos do
monoterpeno 7-hidroxicitronelal: ensaios *in silico* / Marcus Antônio Bezerra
da Silva. – Patos, 2017.
50f. il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2017.

"Orientação: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho".

Referências.

1. Farmacologia. 2. Monoterpenos. 3. Antioxidantes. I. Título.

CDU 616-085:619

MARCUS ANTÔNIO BEZERRA DA SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DOS POTENCIAIS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS
DO MONOTERPENO 7-HIDROXICITRONELAL: ENSAIOS *IN SILICO***

Trabalho de Conclusão do Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

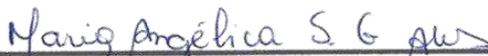
ORIENTADOR: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

Aprovado em 08/02/2017

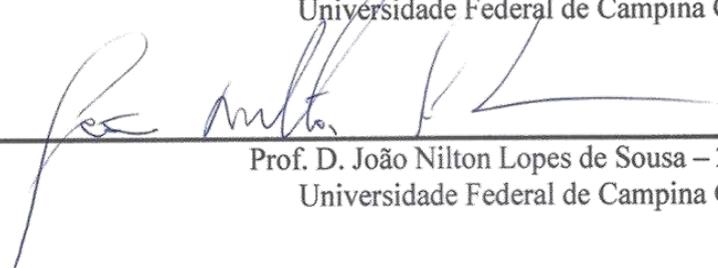
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho – Orientador
Universidade Federal de Campina Grande



Prof. Dra. Maria Angélica Satyro Gomes Alves – 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande



Prof. D. João Nilton Lopes de Sousa – 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande

Dedico este trabalho a meus pais, Sandoval Pereira da Silva e Aidenise Maria Bezerra da Silva, além também do meu irmão Sandro Marck Bezerra da Silva que sempre estiveram ao meu lado, batalhando, sacrificando-se e acreditando na realização desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela dádiva da vida, por sempre se fazer presente ao meu lado, dando-me força, conhecimento e paciência para concluir a jornada.

Aos meus Pais, Sandoval e Aidenise, minha eterna gratidão, pela proteção, amor e apoio incondicional, e por acreditarem no meu sonho não mediram esforços durante todos esses anos para me proporcionarem sempre o melhor. Vocês são os melhores pais do mundo.

A meu Irmão Sandro, pelo apoio, amizade, companheirismo e acima de tudo pelo exemplo de amigo, inocência e bondade que fez com que eu me espelhasse a cada dia.

A meu orientador Prof. Abrahão por ser meu exemplo, por ter acreditado e ajudado-me quando parecia impossível conseguir, serei eternamente grato pelos ensinamentos e atenção que teve comigo durante todo o tempo, sem sua ajuda eu nunca teria chegado tão longe, foi muito mais que um orientador, foi um amigo.

A minha amiga Aliane, que se fez presente todos os dias desses cinco anos. Ao seu lado a jornada se tornou mais fácil. Jamais me esquecerei de todos os momentos que vivemos juntos, você foi peça fundamental na realização desse sonho.

Aos parentes e amigos, em especial a minha tia Vanilda, que foi uma segunda mãe, meu muito obrigado pelo apoio que me deu durante todo o curso, nunca esquecerei.

A todos os funcionários e professores do curso de odontologia da UFCG, que sempre estiveram dispostos a ajudar, obrigada por todo conhecimento e exemplo que me forneceram durante todos esses anos. Em especial a professora Angélica Sátyro, pela oportunidade da monitoria e pelos muitos ensinamentos pessoais e profissionais transmitidos ao longo desse curso, foram inestimáveis.

A todos os meus colegas da turma 2012.1, que tornaram esses cinco anos mais prazerosos, além de contribuírem muito com minha formação pessoal.

Aos meus pacientes que tanto contribuíram para minha formação.

“E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse montanhas, se não tivesse amor, eu nada seria.” Coríntios 13:2

RESUMO

Os óleos essenciais de plantas, bem como os compostos derivados destes óleos como os terpenos, têm atraído cada vez mais interesse por causa das suas propriedades antioxidantes. O 7-hidroxicitronelal é um monoterpene derivado do citronelal, apresentando fórmula molecular $C_{10}H_{20}O_2$. Como objetivo principal deste trabalho procurou-se avaliar as atividades toxicológicas e farmacológicas *in silico* do monoterpene, entre elas a atividade antioxidante, bem como o perfil de biodisponibilidade oral teórico. Para isso, utilizou-se as técnicas *in silico* através dos programas: PASS[®] online, para avaliação das propriedades farmacológicas teóricas da substância, *Osiris*[®] para avaliação do potencial toxicológico do monoterpene, e *Molinspiration*[®] para avaliar o perfil de biodisponibilidade oral do composto. Os resultados mostraram amplo espectro de atividades farmacológicas *in silico*, entre elas efeito antioxidante. A análise toxicológica teórica, por sua vez, mostrou probabilidade de a substância apresentar considerável efeito irritante. O perfil de biodisponibilidade oral teórico foi considerado adequado, uma vez que todos os requisitos estabelecidos na regra dos cinco de Lipinski foram atendidos. Assim pôde-se concluir que o monoterpene é portador de atividade antioxidante teórica *in silico*, tem boa biodisponibilidade oral e pode apresentar efeito irritante. Contudo mais estudos *in vitro* e em organismos vivos devem ser realizados para investigar essas atividades.

Palavras-chave: Farmacologia. Monoterpenos. Antioxidantes.

ABSTRACT

Essential oils of plants, as well as compounds derived from these oils like terpenes, have attracted increasing interest because of their antioxidant properties. 7-hydroxycitronellal is a monoterpene derived from citronellal, presenting molecular formula $C_{10}H_{20}O_2$. The main objective of this work was to evaluate the *in silico* toxicological and pharmacological activities of monoterpene, among them the antioxidant activity, as well as the theoretical oral bioavailability profile. For this, *in silico* techniques were used through the following programs: PASSTM online, for evaluation of the theoretical pharmacological properties of the substance, OsirisTM for evaluation of the toxicological potential of monoterpene, and MolinspirationTM to evaluate the oral bioavailability profile of the compound. The results showed a broad spectrum of pharmacological activities *in silico*, among them antioxidant effect. Theoretical toxicological analysis, in turn, showed a probability that the substance has a considerable irritating effect. The theoretical oral bioavailability profile was considered adequate, since all the requirements established in the Lipinski rule of five were met. Thus, it can be concluded that monoterpene has antioxidant activity theoretical *in silico*, has good oral bioavailability and may present an irritant effect. However, more *in vitro* and *in vivo* studies should be performed to corroborate these activities.

Keywords: Pharmacology. Monoterpenes. Antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química do monoterpeno 7-hidroxicitronelal	15 e 34
Figura 2 – Classificação das doenças periodontais	17
Figura 3 – Mecanismo de lesão periodontal provocado por processo inflamatório crônico	18
Figura 4 – Equação de formação de EROs.....	19
Figura 5 – Equação de formação da ERN peroxinitrito	19
Figura 6 – Mecanismos de ação antioxidantes fisiológicos	20
Figura 2 – Atividades farmacológicas teóricas do monoterpeno 7-HCT de interesse	34
Figura 3 – Perfil de toxicidade teórica do monoterpeno 7-hidroxicitronelal	35
Figura 4 – Perfil de biodisponibilidade oral teórico do 7-HCT.....	36

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

7-HCT	7-hidroxicitronelal
ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Eliminação e Toxicidade
cLogP	Coefficiente de partição octanol-água
Da	Dalton
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ERN	Espécie Reativa de Nitrogênio
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
g/mol	Gramas por mol
IL- 1 β	Interleucina 1-beta
MM	Massa Molecular
nALH	Número de aceptores de ligação de hidrogênio
nDLH	Número de doadores de ligação de hidrogênio
nm	Nanômetro
NO	Óxido Nítrico
Pa	Probabilidade de ser ativo
PASS	Previsão do Espectro de Atividade de Substâncias
PB	Paraíba
Pi	Probabilidade de ser inativo
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
TCC	Trabalho de Conclusão do Curso
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande

LISTA DE SÍMBOLOS

C	Carbono
H	Hidrogênio
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
α	Alfa
β	Beta
®	Marca registrada
•	Radical livre
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 DOENÇA PERIODONTAL : CLASSIFICAÇÃO E PARTICIPAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO	16
2.2 ESTRESSE OXIDATIVO	18
2.3 AGENTES ANTIOXIDANTES	20
2.4 PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	21
2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS E MONOTERPENOS.....	22
2.6 ENSAIOS <i>IN SILICO</i>	22
REFERÊNCIAS	24
3 ARTIGO	31
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
ANEXO A- NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE	40
ANEXO B- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE	49

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é um termo usado para descrever um processo inflamatório, iniciado com a instalação do biofilme ou placa bacteriana sobre a superfície dentária, que leva a destruição de fibras do ligamento periodontal e conseqüentemente perda de ligação do periodonto à superfície radicular e osso alveolar adjacente, levando, em estágio mais avançado, a perda dentária (CHAPPLE, MATTHEUS, 2000).

Recentemente, alguns fatores têm ganhado importância na patogênese da doença periodontal, como o desequilíbrio no metabolismo oxidativo desencadeado pelo estado inflamatório crônico, que ao promover a oxidação de células e tecidos, pode agravar a doença e levar a aceleração na destruição do periodonto (CHAPPLE, MATTHEUS, 2000).

A oxidação é um processo fisiológico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais livres (STIEVEN et al., 2009).

Os radicais livres, por sua vez, são responsáveis por mediar a oxidação, sendo esta um importante processo biológico para os organismos. Entretanto quando este processo se torna sobrecarregado, podem ocasionar o surgimento de várias desordens patológicas, como por exemplo: o câncer, as doenças cardiovasculares e as doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (NADKARMI, 1988; ANTHONY et al., 2012).

Dentre os radicais livres mais comuns, encontram-se as espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), que induzem danos oxidativos a várias biomoléculas presentes nas células humanas, tais como, os lipídios, as proteínas e os ácidos nucleicos, resultando assim no chamado estresse oxidativo (FREITAS et al., 2014).

Nesse contexto surgem os agentes antioxidantes, que por sua vez têm a capacidade de proteger as moléculas dos danos causados por estes radicais e servem ainda como agentes quimioprotetores, inibindo a geração de radicais livres e tendo um importante papel na neutralização de danos oxidativos causados por esses radicais (ANTHONY et al., 2012).

Os antioxidantes sintéticos são adquiridos pela suplementação alimentar e em adição a alimentos, prática comum na indústria alimentícia (PITARO et al., 2009). Já os

antioxidantes naturais, adquiridos na dieta, têm como principal fonte as vitaminas (A, C e E), compostos fenólicos e carotenóides, contidos principalmente nas frutas e vegetais (RATMAN et al., 2006; PEREIRA et al., 2009).

Recentemente, os óleos essenciais de plantas, bem como os compostos derivados destes óleos, como por exemplo os terpenos, têm atraído cada vez mais interesse por causa das suas propriedades antioxidantes, e conseqüentemente têm sido extensivamente estudados principalmente em sistemas *in vitro* (HORVATHOVA et al., 2014).

Os compostos terpenoides têm sua origem biossintética das unidades do isopreno, que por sua vez é originado a partir do ácido mevalônico (SPITZER, 2004). Estes compostos são divididos, de acordo com o número de carbono (C) em suas moléculas, em: isoprenos ou hemiterpenos (5 C), monoterpenos (10 C), sesquiterpenos (15 C); diterpenos (20 C); sesterpenos (25 C); triterpenos (30 C); tetraterpenos (40 C) e polisoprenoides (n C) (SPITZER, 2004; BAKKALI et al., 2008).

Os monoterpenos são constituintes que fazem parte da composição dos óleos essenciais, que por sua vez são empregados na indústria na produção de perfumes e cosméticos (EDRIS, 2007), além de apresentarem diversos efeitos farmacológicos, entre eles: anti-hipertensivo, anti-inflamatório, antimicrobiano (ZORE et al., 2011) e antioxidante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011).

Dentre os vários monoterpenos existentes na natureza, destaca-se o 7-hidroxicitronelal, um composto pouco relatado na literatura com relação aos seus efeitos farmacológicos e tóxicos. Este monoterpeno é um derivado do citronelal, metabólito de origem vegetal que já possui várias atividades farmacológicas comprovadas na literatura, como atividades analgésica (ALMEIDA et al., 2001), antioxidante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011), ansiolítica (ALMEIDA et al., 2004) antimicrobiana (ZORE et al., 2011) e anticonvulsivante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008).

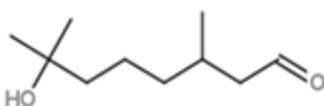
Embora sejam considerados de menor risco em comparação às drogas sintéticas, os produtos naturais, como os monoterpenos, não são completamente livres da possibilidade de toxicidade ou outros efeitos adversos (VEIGA JÚNIOR et al., 2005).

Desta forma, diferentes testes têm sido utilizados para avaliar a toxicidade das substâncias. Neste contexto, destacam-se os testes que utilizam os modelos *in silico* (expressão usada com o significado de “executado em computador”), que são rápidos, reprodutíveis e normalmente baseados em biorreguladores humanos, garantindo assim a

segurança para a utilização do produto natural como um futuro fármaco (ANGELO et al., 2006; SRINIVAS et al., 2014).

Com base nestas informações sobre as várias atividades terapêuticas já demonstradas pelos monoterpenos e a importância de estudos toxicológicos dos produtos naturais, esse trabalho procurou avaliar, por meio de testes *in silico*, as possíveis atividades farmacológicas do monoterpeno 7-hidroxicitronelal, juntamente com seu perfil de biodisponibilidade oral, e ainda determinar a toxicidade teórica deste composto, através de correlações de sua estrutura química (Figura 1) com o provável perfil farmacológico.

Figura 1 - Estrutura química do monoterpeno 7-hidroxicitronelal, derivado do citronelal, com fórmula molecular $C_{10}H_{20}O_2$.



Fonte: Silva, 2016.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOENÇA PERIODONTAL: CLASSIFICAÇÃO E PARTICIPAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

O termo “doença periodontal” tem sido bastante utilizado de uma forma ampla para abranger as mais diversas condições patológicas que acometem as estruturas do periodonto seja ele de proteção e/ou sustentação (NOVAK, 2002).

Entre as diversas classificações adotadas na periodontia a mais atual diz respeito a elaborada pela Academia Americana de Periodontologia durante a reunião do Workshop Mundial para a Classificação das Doenças e Condições Periodontais, no ano de 1999 que pode ser resumida na figura 1 (ARTIMAGE, 1999).

A periodontite, um estágio mais avançado da doença periodontal, é caracterizada por um processo crônico onde há perda de suporte dos dentes afetados, sobretudo de fibras do ligamento periodontal e do osso alveolar, onde estão inseridos, levando então a perda óssea (LINDHE, 1997; JÚNIOR, GABRIELLI, 2004).

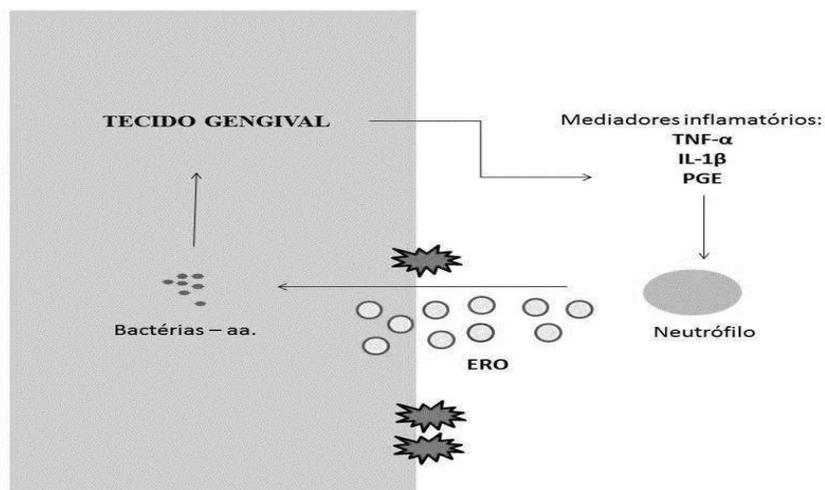
Acredita-se que a interação entre microrganismos, tais como o *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, e a resposta imunológica do hospedeiro pode levar ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina 1-beta (IL-1 β), bem como de prostaglandina E2 (PGE2), que desta forma podem contribuir para a destruição do tecido conjuntivo e osso alveolar (O'BEIRNE et al., 1996; FIVES-TAYLOR, MEYER, MINTZ, 1999; GREENSTEIN, 2000).

Muitos estudos levam a crer que neutrófilos, presentes no tecido conjuntivo gengival, ao serem atraídos por citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , para o tecido acometido pela doença periodontal, liberam EROs durante o processo de fagocitose, em resposta a placa microbiana adjacente a margem gengival, podendo assim causar danos aos tecidos, como esquematizado na figura 3. (MIYASAKI, 1991; KHWAJA, CARVER, LINCH, 1992; ELBIM et al., 1994; CHAPPLE, MATTHEWS, 2000).

Figura 2 - Classificação das doenças periodontais, 1999 de acordo com a Academia Americana de Periodontologia.

DOENÇAS GENGIVAIS	
INDUZIDAS POR PLACA	NÃO INDUZIDAS POR PLACA
1. Doenças gengivais associadas apenas a placa I-sem fatores locais II-com fatores locais	1. Doenças gengivais de origem bacteriana I-Associada a <i>Neisseria gonorrhoea</i> II-Associada a <i>Treponema pallidum</i> III-Associada a <i>Streptococcus sp</i> IV-Outros
2. Doenças gengivais modificadas por fatores sistêmicos I-Associada ao sistema endócrino Puberdade Ciclo menstrual Gravidez Diabetes <i>mellitus</i> II-Associada a discrasias sanguíneas Leucemia Outros	2. Doenças gengivais de origem viral I-Infecções por herpes II-Outros
	3. Doenças gengivais de origem fúngica I-Infecções por <i>Candida sp</i> II-Eritema gengival linear III-Histoplasmose IV-Outros
3. Doenças gengivais modificadas por medicamentos I-Hiperplasias influenciadas por drogas II-Gengivites influenciadas por drogas Associadas a contraceptivos orais Outros	4. Lesões gengivais de origem genética I-Fibromatose gengival hereditária II-Outros
	5. Manifestações de condições sistêmicas I-Alterações mucocutâneas II-Reações alérgicas
4. Doenças gengivais modificadas por desnutrição I-deficiência de vitamina C Outros	6. Lesões traumáticas
	7. Reações de corpo estranho
	8. Outras não especificadas
DOENÇAS PERIODONTAIS	
1. Periodontite crônica	4. Doenças periodontais necrosantes I-Gengivite Ulcerativa Necrosante II-Periodontite Ulcerativa Necrosante
2. Periodontite agressiva	5. Abscessos Periodontais I-Abscesso Gengival II-Abscesso Periodontal III-Abscesso Pericoronário
3. Periodontite como manifestação de doenças sistêmicas I-Associada a discrasias sanguíneas Neutropenia adquirida Leucemia Outros II-Associada a distúrbios genéticos Neutropenia cíclica e familiar Síndrome de Down Deficiência de adesão leucocitária Síndrome de Papillon-Lefèvre Síndrome de Chediak-Higashi Síndrome de histiocitose Doença de Acúmulo de glicogênio Agranulocitose infantil genética Síndrome de Cohen Síndrome de Ehlers-Danlos Hipofosfatase Outras III-Outras não especificadas	6. Periodontite Associada a Lesões Endodônticas
	7. Condições e Deformidades Congênitas ou Adquiridas I-Fatores modificadores locais da doença gengival ou periodontal, relacionados com o dente Fatores anatômicos dentais Restaurações/aparelhos dentais Fraturas radiculares Reabsorção radicular cervical e deslocamento do cimento Deformidades e condições mucogengivais ao redor do dente Deformidades e condições mucogengivais em rebordos edêntulos Trauma oclusal

Figura 3 - Mecanismo de lesão periodontal provocado por processo inflamatório crônico, devido a presença de bactérias, fazendo com que a atuação de neutrófilos cause liberação de ERO no periodonto.



Fonte: Silva, 2017.

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO

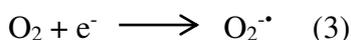
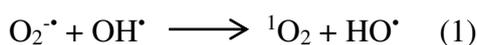
Os processos oxidativos ocorrem naturalmente nos seres vivos, a exemplo a fagocitose (CORRÊA et al., 2006), e a produção de energia na forma de ATP via cadeia respiratória (FERREIRA, AGUIAR, VILARINHO, 2008), processos estes essenciais para o bom funcionamento do organismo.

Contudo, como consequência desses processos é que surgem os radicais livres, classicamente descritos como átomos ou moléculas altamente reativos apresentando número ímpar de elétrons na última camada eletrônica (HALLIWELL, 1990, 1992), sendo tal falta de emparelhamento responsável por sua alta reatividade frente a outros átomos e moléculas (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

O estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre os compostos oxidantes e antioxidantes (SIES, 1993), sendo que os primeiros predominam, onde podem ser divididos em dois grupos distintos: as espécies reativas de oxigênio – ERO, e as espécies reativas de nitrogênio – ERN (VISIOLI, KEANEY, HALLIWELL, 2000; FINKEL, HOLBROOK, 2000; HALLIWELL, 2000).

Entre as espécies reativas de oxigênio mais conhecidas podem-se citar: oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), formado a partir da adição de um elétron à molécula de oxigênio (equação 3); radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), obtido através da reação do oxigênio singlete com o radical hidroxila (equação 1); e radical hidroxila (OH^{\cdot}), formado pela decomposição do peróxido de hidrogênio durante a oxidação do Fe^{2+} , também conhecida como reação de Fenton (equação 2), como pode ser observado pela figura 4. (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990; BIANCHI, ANTUNES, 1999; HALLIWELL, 2000) além de outras que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são bastante reativas devido a sua instabilidade química, como: peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

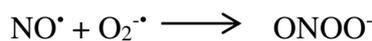
Figura 4 - Equações de formação de EROs: do (1) oxigênio singlete - $^1\text{O}_2$, e dos radicais (2) hidroxila - OH^{\cdot} e (3) superóxido - $\text{O}_2^{\cdot-}$.



Fonte: Berra, Menck, Di Mascio, 2006; Barreiros, David, David, 2006

Quanto as ERNs as mais encontradas são: radical óxido nítrico (NO^{\cdot}), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e o radical peroxinitrito ($\text{ONOO}^{\cdot-}$), este último formado a partir de dois outros radicais: o óxido nítrico e superóxido, como mostrado na figura 5 (HALLIWELL, 1999; BIANCHI, ANTUNES, 1999).

Figura 5 - Equação de formação de ERN peroxinitrito.



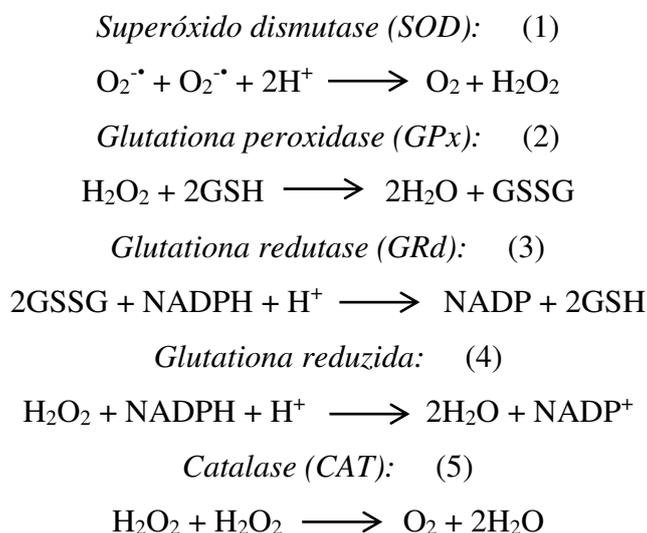
Fonte: Barreiros, David, David, 2006.

2.3 AGENTES ANTIOXIDANTES

Antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, uma vez presente em pequena concentração quando comparada à do substrato oxidável, é capaz de regenerar ou prevenir a oxidação do mesmo (HALLIWELL, 2000).

Naturalmente, o organismo humano apresenta diversos sistemas de defesa antioxidante, onde os principais de natureza enzimática são: glutathiona reduzida (GSH), que opera em conjunto com outras duas enzimas: glutathiona-peroxidase (GSH-Px), levando a redução do peróxido de hidrogênio a água, e sendo então regenerada por intermédio da glutathiona-redutase (GSH-Rd) novamente a forma reduzida. Há ainda a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio e por fim a enzima catalase (CAT) responsável por converter o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (FERREIRA, MATSUBARA, 1997). Todas essas reações estão esquematizadas na figura 6.

Figura 6 - Mecanismo de ação antioxidantes fisiológicos.



Fonte: Berra, Menck, Di Mascio, 2006.

Além destas muitas substâncias com atividade antioxidante podem ser encontradas na dieta, tais como as vitaminas A (retinol), C (ácido ascórbico) e E (tocoferol), além de outros compostos (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

Vários são os mecanismos de proteção sobre o organismo, que ao atuar em diferentes estágios previnem ou corrigem desordens já instaladas na célula. Assim, podem impedir a formação dos radicais, como ocorre com a inibição das reações em cadeia do Fe^{2+} e Cu^{2+} . Através da interceptação de espécies reativas geradas pelo metabolismo podem proteger lipídeos, aminoácidos bem como as bases do DNA. Ainda podem promover reparos nas lesões causadas pelos radicais, através da remoção de danos ao DNA, bem como a reconstituição de membranas danificadas (BIANCHI, ANTUNES, 1999).

Devido a sua importância, várias técnicas experimentais têm sido utilizadas para avaliar o potencial antioxidante dos mais diversos compostos, sendo algumas já bastante consagradas na literatura, como testes utilizando o radical DPPH \cdot (2,2-difenil-1-picrilhidrazina), e sobre o radical NO \cdot , formado a partir da decomposição do nitroprussiato de sódio (NPS) (BRAND-WILLIAMS, CUVELIER, BERSSET, 1995; BAZU, HARZA, 2006; SILVA, 2012; ZHANG, 2013).

2.4 PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os produtos naturais foram e continuam sendo de grande valor para pesquisas de novos candidatos a fármacos, apesar da grande quantidade também de compostos produzidos por síntese (MONTANARI, BOLZANI, 2001).

A indústria farmacêutica, por exemplo, motivada pela descoberta de vários compostos com estruturas moleculares complexas, como os quimioterápicos, vincristina, vimblastina e os análogos etoposídeo e teniposídeo, camptotecina e taxol reativou seu interesse pelos produtos naturais, uma vez que a produção de compostos sintéticos com estruturas tão complexas são praticamente impossíveis de serem obtidos a custos racionais (MONTANARI, BOLZANI, 2001).

Alguns derivados das plantas, conhecidos como metabólitos secundários tem sido bastante utilizados em ensaios farmacológicos, sendo alguns deles: óleos essenciais, e seus derivados – terpenos; compostos fenólicos, entre eles os flavonóides, e compostos alcalóides (BENNET, WALLSGROVE, 1994).

Entre os diversos metabólitos secundários, muitos apresentam atividade antioxidante, já tendo sido relatadas em diversos estudos, como é o caso dos flavonoides

(ROSA et al, 2010) e os óleos essenciais e seus derivados, os monoterpenos, além de outras atividades (COSTA et al., 2012).

2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS E MONOTERPENOS

Os óleos essenciais são constituintes voláteis responsáveis pela fragrância de muitas plantas, podendo ser extraídos das mais diversas partes desta como das folhas, flores, frutos, raízes e caules e tem sido extensivamente estudados na literatura por seu potencial antioxidante (LIMA, CARDOSO, 2007; SOUZA et al., 2007; BAKKALI, 2008; DOBRAVALSKYTÈ, VENSKUTONIS, TALOU, 2012).

Os terpenóides, também conhecidos como isoprenos, são obtidos dos óleos essenciais e formados por repetições de unidades ramificadas de cinco carbonos, sendo essas similares a unidades de isopreno e são derivadas do ácido mevalônico, estes podem ser referidos como isoprenos ativos (SHARKEY, YEH, 2001; SIMÕES, SPITZER, 2004).

Sua nomenclatura depende do número de unidades de isopreno, sendo assim classificados como monoterpeno, diterpeno, triterpeno, tetraterpeno, sesquiterpeno ou politerpeno. No caso dos monoterpenos, esses podem ainda ser divididos em três subgrupos: acíclicos, monocíclicos e bicíclicos (SIMÕES, SPITZER, 2004).

Vários estudos na literatura correlacionam a atividade antioxidante a monoterpenos tais como citronelal (ANDRADE et al., 2012), ciano-carvona (COSTA et al., 2012) e α -pineno (WANNES et al., 2010).

2.6 ENSAIOS *IN SILICO*

Em função da necessidade de novos agentes farmacológicos para o tratamento das mais diversas doenças, métodos de planejamento de fármacos auxiliados por computador tem ganhado destaque uma vez que, a partir desta, é possível reduzir custos e tempo para a obtenção de resultados, reduzindo também o uso de animais de laboratório (ERIKSSON et al., 2003).

Estes estudos, feitos através de programas computacionais, por meio de um banco de dados reúnem diversas informações a respeito de características pertinentes

aos fármacos, como aspectos químicos, físicos, farmacológicos e biológicos a respeito dessas drogas e seus possíveis alvos (WISHART et al., 2006).

Ensaios *in silico* podem ser feitos através de diferentes princípios metodológicos, tais como (Q)SAR – (*Quantitative*) *Structure Activity Relationships*, formação de categoria, análise de tendência, métodos de extrapolação, entre outros, que já são aplicados em softwares de agências como a USEPA (*United States Environmental Protection Agency*), OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) e Comissão Européia (SANTOS, RODRIGUES, 2011).

Os métodos que mais vem ganhando destaque em experimentos farmacológicos empregando a tecnologia computacional são os métodos baseados no ligando (*ligand-based methods*), pesquisa de similaridade em 2D (*2D similarity search*), pesquisa de similaridade em 3D (*3D similarity search*), métodos baseados na estrutura (*structure-based methods*), acoplamento inverso (*docking inverse*), (grupos) farmacóforos baseados na estrutura (*structure-based pharmacophore*) e similaridade no local de ligação (*binding site similarity*), permitindo assim prever resultados e direcionar pesquisas (LAVECCHIA, CERCHIA, 2016).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. N. et al . Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plusmaze test in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.77, p. 361-364, 2004.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, v.8, p.310-322, 2001.
- ANDRADE, M. A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cynnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agrônômica**. v.43, n.2, p.399-408, 2012.
- ANGELO, V.; MAX, D.; MARKUS, A. L. The Challenge of Predicting Drug Toxicity *in silico*. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v.99, p.195-208, 2006.
- ANTHONY, K. P.; DEOLU-SOBOGUN, S. A.; SALEH, M. A. Comprehensive Assessment of Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of Food Science**, v.77, n.8, 2012.
- ARITMAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal disease and conditions. **Periodontology**. v.4, n.1, p.1-16, 1999.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008..
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**. v.29, n.1, p.113-123, 2006.
- BASU, S.; HARZA, B. Evaluation of nitric oxide scavenging activity, *in vitro* and *ex vivo*, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases. **Phytotherapy Research**, v.20, n.10, p.896-900, 2006.

BENNETT, R.N; WALLSGROVE, R.M. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. Review. **New Phytologist**. v.127, p. 617-633, 1994.

BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Química Nova**. v.29, n.6, p.1340-1344, 2006.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os antioxidants da dieta. Artigo de Revisão. **Revista Nutrição**. v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, v.28, n.25-30, 1995.

CHAPPLE, I. L. C.; MATTHEWS, J. B. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. **Periodontology**. v.43, p.160-232, 2000.

CORRÊA, V. S. C.; MAYNIÉ, J. C.; FRANÇA, E. L.; HONÓRIO-FRANÇA, A. C. Atividade funcional de fagócitos na presença do fitoterápico “Mais Vida”. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.8, n.2, p.26-32, 2006.

COSTA, D. A.; OLIVEIRA, G. A. L.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R.M. Avaliação do potencial antioxidante in vitro do composto ciano-carvona. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.33, n.4, p.567-575, 2012.

DOBRAVALSKYTÈ, D; VENSKUTONIS, P. R.; TALOU, T. Antioxidant properties and essential oil composition of *Calamintha grandiflora* L. **Food Chemistry**. v.135, p.1539-1546, 2012.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. **Phytoterapy Research**, v.21, p.308-323, 2007.

ELBIM, C. et al. Differential priming of proinflammatory cytokines on human neutrophil oxidative burst in response to bacterial N-formyl peptides. **Infection and Immunity**. v.62, p.2195-2201, 1994.

ERIKSSON, L. et al. Methods for reliability and uncertainty assessment and for applicability evaluations of classification –and regression- based QSARs. **Environmental Health and Perspectives**. v.111, n.10, p.1361-1375, 2003.

FERREIRA, A. L. A.; MASTUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FERREIRA, M.; AGUIAR, T.; VILARINHO, L. Cadeia respiratória mitocondrial: Aspectos Clínicos, Bioquímicos, Enzimáticos e Moleculares Associados ao Déficit do Complexo I. **Arquivos de Medicina**. v.22, n.2/3, 2008.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**. v. 408, n.6809, p.239-247, 2000.

FIVES-TAYLOR, P. M.; MEYER, D. H.; MINTZ, K. P. Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Periodontology**. v.20, p-136-137, 1999.

FREITAS, R. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). **Revista Ciência e Farmacologia Básica Aplicada**. v.35, n.1, p.113-118, 2014.

GREENSTEIN, G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. **Journal of American Dental Association**. v.131, p.1580-1592, 2000.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism, and the effects of nutrition. **Mutation Research**. v.443, n.1-2, p.37-52, 1999.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal of Neurochemistry**. v.59, p.1609-23, 1992.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **The Lancet**. v.355, n.9210, p.1179-1180, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**. v.186, p.1-85, 1990.

HORVATHOVA, E. et al. Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-Protective effects of selected essential oil components (Eugenol, Carvacrol, Thymol, Borneol, Eucalyptol) of plants and intact *rosmarinus officinalis* oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.28, p.6632-6639, 2014.

JUNIOR, P. R.; GABRIELLI, M. F. R. Alterações imunológicas na doença periodontal: Revisão de literatura. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**. v.27, n.5, p.195-198, 2004.

KHWAJA, A.; CARVER, J. E.; LINCH, D. C. Interactions of GM-CSF, G-CSF, and TNF- α in the priming of the neutrophil respiratory burst. **Blood**. v.79, p.745-753, 1992.

LAVECCHIA, A.; CERCHIA, C. *In silico* methods to address polypharmacology: current status, applications and future perspectives. **Drug Discovery Today**. v.21, n.2, p.288-298, 2016.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família *Lamiaceae*: Importantes Óleos Essenciais com Atividade Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**. v.3, n.3, p. 14-24.

LINDHE, J. Patogênese da doença periodontal. In: Lindhe, J. Tratado de Periodontologia Clínica e Implantodontia. São Paulo: Guanabara Koogan, 1997.

MIYASAKI, K. T. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. **J Periodontology**. v.62, p.761-774, 1991.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**. v.24, n.1, p.105-111, 2001.

NADKARNI G. D.; D'SOUZA N. B. Antioxidant and free radical scavenging enzymes in chronically ethanol-consuming rats: controversy over hepatic lipid peroxidation. **Drug and Alcohol Dependence**, v.22, n.1-2, p.161-164, 1988.

NOVAK, M. J. Classification of disease and conditions affecting the periodontium. In: Newman, M. G.; TAKEI, H. H.; CARRANZA, F. A. **Carranza's Clinical Periodontology**. 9. Ed. Califórnia: W.B. Saunders Company, 2002. P. 64-73.

O'BEIRNE, G. et al. Efficacy of toothbrush on inflammation and probing depth in adult periodontitis. **Journal of Periodontology**. v.67, p.900-908, 1996.

PEREIRA A. L. F.; VIDAL T. F.; CONSTANT P. B. L. Dietary antioxidants: chemical and biological importance. **Journal of the Brazilian Society and Food Nutrition**. v.34, n.3, p.231-247, 2009.

PITARO S. P.; JORGE N.; FIORANI L. V. Efeito antioxidante do extrato de manjeriço em óleo de soja sob condições de oxidação. **UNESP**, v.8, n.1, p.33-36, 2009.

QUINTANS-JUNIOR L. et al. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytochemistry**, v.15, p.619-624, 2008.

QUITANS-JÚNIOR, L. et al. Antinociceptive Action and Redox Properties of Citronellal and Essential Oil Present in Lemongrass. **Journal of Medicinal Foot**. v.14, n.6, p.630-639, 2011.

RATMAN D. V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Control Release**, v.113, n.2, p.189-207, 2006.

ROSA, E. A et al. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, n.4, p.484-488, 2010.

SANTOS, C. E. M.; RODRIGUES, A. S. Toxicologia *in silico*: contexto de aplicação e o modelo de custo efetividade nos testes alternativos. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.4, n.3, p. 92-113, 2011.

SHARKEY, T. D.; YEH, S. Isoprene emission from plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v.52, p.407-436, 2001.

SIES, H. Strategies of antioxidante defense. Review. **European Journal of Biochemistry**. v.215, n.2, p.213-19, 1993.

SILVA, O. A. et al. Potencial antioxidante in vitro do (-)- α -terpineol. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.08, n.03, 2012.

SOUZA, T. J. T. et al. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.3, p.368-372, 2007.

SPITZER, C. M. O. S. V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O et al. Farmacognosia – da planta ao medicamento. 5a ed. Porto Alegre/Florianópolis: **Editores da UFRGS/Editores da UFSC**, p.467-495, 2004.

SRINIVAS, N. et al. *In Vitro* Cytotoxic Evaluation and Detoxification of Monocrotaline (Mct) Alkaloid: An *In Silico* Approach.. **International Invention Journal of Biochemistry Bioinformatics**, v.2, n.3, p.20-29, 2014.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; FERRAZ, C. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis Cambess*): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v.34, n.3, p.7-16, 2009.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, v.28, p.519-528, 2005.

VISIOLI, F.; KEANEY JR, J.F.; HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease, panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular Research**. v.47, p.409, 2000.

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis var. italic* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemistry Toxicology**. v.48, n.5, p.1362-1370, 2010.

WISHART, D. S. et al. Drug Bank: a comprehensive resource for *in silico* drug discovery and exploration. **Nucleic Acids Research** v.34, p.668-372, 2006.

ZHANG, Y. et al. Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC-DPPH assay. **Food Research International**, v.53, n.2, p.847-856, 2013.

ZORE, G. B. et al. Phytomedicine Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. **European Journal of Integrative Medicine**, v.18, n.13, p.1181-1190, 2011.

3 ARTIGO

Bioprospecção dos potenciais farmacológicos e toxicológicos do monoterpeno 7-hidroxicitronelal: Ensaio *in silico*

Bioprospecting of pharmacological and toxicological potentials of 7-hydroxycitronellal monoterpene: in silico approach

Marcus Antônio Bezerra da Silva¹; Marthana de Maria Araújo Miranda²; Denildo de Araújo Carvalho³; Abrahão Alves de Oliveira Filho⁴

1 – Graduando em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Patos/PB. E-mail: marcusantonyo27@hotmail.com

2 – Graduanda em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Patos/PB. E-mail: marthana_miranda@hotmail.com

3 – Graduando em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Patos/PB. E-mail: denildocarvalho@hotmail.com

4 – Professor coordenador da disciplina de Bioquímica do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Patos/PB. E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo: Os óleos essenciais de plantas, bem como os compostos derivados destes óleos como os terpenos, têm atraído cada vez mais interesse por causa das suas propriedades antioxidantes. O 7-hidroxicitronelal é um monoterpeno derivado do citronelal, apresentando fórmula molecular $C_{10}H_{20}O_2$. Como objetivo principal deste trabalho procurou-se avaliar as atividades toxicológicas e farmacológicas *in silico* do monoterpeno, entre elas a atividade antioxidante, bem como o perfil de biodisponibilidade oral teórico. Para isso, utilizou-se as técnicas *in silico* através dos programas: PASS[®] online, para avaliação das propriedades farmacológicas teóricas da substância, Osiris[®] para avaliação do potencial toxicológico do monoterpeno, e Molinspiration[®] para avaliar o perfil de biodisponibilidade oral do composto. Os resultados mostraram amplo espectro de atividades farmacológicas *in silico*, entre elas efeito antioxidante. A análise toxicológica teórica, por sua vez, mostrou probabilidade de a substância apresentar considerável efeito irritante. O perfil de biodisponibilidade oral teórico foi considerado adequado, uma vez que todos os requisitos estabelecidos na regra dos cinco de Lipinski foram atendidos. Assim pôde-se concluir que o monoterpeno é portador de atividade antioxidante teórica *in silico*, tem boa biodisponibilidade oral e pode apresentar efeito irritante. Contudo mais estudos *in vitro* e em organismos vivos devem ser realizados para corroborar essas atividades.

Palavras-chave: Farmacologia. Monoterpenos. Antioxidantes.

Abstract: Essential oils of plants, as well as compounds derived from these oils like terpenes, have attracted increasing interest because of their antioxidant properties. 7-hydroxycitronellal is a monoterpene derived from citronellal, presenting molecular formula $C_{10}H_{20}O_2$. The main objective of this work was to evaluate the *in silico* toxicological and pharmacological activities of monoterpene, among them the antioxidant activity, as well as the theoretical oral bioavailability profile. For this, *in silico* techniques were used through the following programs: PASS[™] online, for evaluation of the theoretical pharmacological properties of the substance, Osiris[™] for evaluation of the toxicological potential of monoterpene, and Molinspiration[™] to evaluate the oral bioavailability profile of the compound. The results showed a broad spectrum of pharmacological activities *in silico*, among them antioxidant effect. Theoretical toxicological analysis, in turn, showed a probability that the substance has a considerable irritating effect. The theoretical oral bioavailability profile was considered adequate, since all the requirements established in the Lipinski rule of five were met. Thus, it can be concluded that monoterpene has antioxidant activity theoretical *in silico*, has good oral bioavailability and may present an irritant effect. However, more *in vitro* and *in vivo* studies should be performed to corroborate these activities.

Keywords: Pharmacology. Monoterpenes. Antioxidants.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é um termo usado para descrever um processo inflamatório, iniciado com a instalação do biofilme ou placa bacteriana sobre a superfície dentária, que leva a destruição de fibras do ligamento periodontal e conseqüentemente perda de ligação do periodonto à superfície radicular e osso alveolar adjacente, levando, em estágio mais avançado, a perda dentária (CHAPPLE, MATTHEUS, 2000).

Recentemente, alguns fatores têm ganhado importância na patogênese da doença periodontal, como o desequilíbrio no metabolismo oxidativo desencadeado pelo estado inflamatório crônico, que ao promover a oxidação de células e tecidos, pode agravar a doença e levar a aceleração na destruição do periodonto (CHAPPLE, MATTHEUS, 2000).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais livres (STIEVEN et al., 2009).

Os radicais livres, por sua vez, são responsáveis por mediar a oxidação, sendo esta um importante processo biológico para os organismos. Entretanto quando este processo se torna sobrecarregado, pode ocasionar o surgimento de várias desordens patológicas, como por exemplo: o câncer, as doenças cardiovasculares e as doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (NADKARMI, 1988; ANTHONY et al., 2012).

Dentre os radicais livres mais comuns, encontram-se as espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), que induzem danos oxidativos a várias biomoléculas presentes nas células humanas, tais como, os lipídios, as proteínas e os ácidos nucleicos, resultando assim no chamado estresse oxidativo (FREITAS et al., 2014).

Nesse contexto surgem os agentes antioxidantes, que por sua vez têm a capacidade de proteger as moléculas dos danos causados por estes radicais e servem ainda como agentes quimioprotetores, inibindo a geração de radicais livres e tendo um importante papel na neutralização de danos oxidativos causados por esses radicais (ANTHONY et al., 2012).

Os antioxidantes sintéticos são adquiridos pela suplementação alimentar e em adição a alimentos, prática comum na indústria alimentícia (PITARO et al., 2009). Já os antioxidantes naturais, adquiridos na dieta, têm como principal fonte as vitaminas (A, C e E), compostos fenólicos e carotenóides, contidos principalmente nas frutas e vegetais (RATMAN et al., 2006; PEREIRA et al., 2009).

Recentemente, os óleos essenciais de plantas, bem como os compostos derivados destes óleos, como por exemplo os terpenos, têm atraído cada vez mais interesse por causa das suas propriedades antioxidantes, e conseqüentemente têm sido extensivamente estudados principalmente em sistemas *in vitro* (HORVATHOVA et al., 2014).

Os compostos terpenoides têm sua origem biossintética das unidades do isopreno, que por sua vez é originado a partir do ácido mevalônico (SPITZER, 2004). Estes compostos são divididos, de acordo com o número de carbono (C) em suas moléculas, em: isoprenos ou hemiterpenos (5 C), monoterpenos (10 C), sesquiterpenos (15 C); diterpenos (20 C); sesterpenos (25 C); triterpenos (30 C); tetraterpenos (40 C) e polisoprenoides (n C) (SPITZER, 2004; BAKKALI et al., 2008).

Os monoterpenos são constituintes que fazem parte da composição dos óleos essenciais, que por sua vez são empregados na indústria na produção de perfumes e cosméticos (EDRIS, 2007), além de apresentarem diversos efeitos farmacológicos, entre eles: anti-hipertensivo, anti-inflamatório, antimicrobiano (ZORE et al., 2011) e antioxidante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011).

Dentre os vários monoterpenos existentes na natureza, destaca-se o 7-hidroxicitronelal, um composto pouco relatado na literatura com relação aos seus efeitos farmacológicos e tóxicos. Este monoterpeno é um derivado do citronelal, metabólito de origem vegetal que já possui várias atividades farmacológicas comprovadas na literatura, como atividades analgésica (ALMEIDA et al., 2001), antioxidante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011), ansiolítica (ALMEIDA et al., 2004), antimicrobiana (ZORE et al., 2011) e anticonvulsivante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2008).

Embora sejam considerados de menor risco em comparação às drogas sintéticas, os produtos naturais, como os monoterpenos, não são completamente livres da possibilidade de toxicidade ou outros efeitos adversos (VEIGA JÚNIOR et al., 2005).

Desta forma, diferentes testes têm sido utilizados para avaliar a toxicidade das substâncias. Neste contexto, destacam-se os testes que utilizam os modelos *in silico* (expressão usada com o significado de “executado em computador”), que são rápidos, reprodutíveis e normalmente baseados em biorreguladores humanos, garantindo assim a segurança para a utilização do produto natural como um futuro fármaco (ANGELO et al., 2006; SRINIVAS et al., 2014).

Com base nestas informações sobre as várias atividades terapêuticas já demonstradas pelos monoterpenos e a importância de estudos toxicológicos dos produtos naturais, esse trabalho procurou avaliar, por meio de testes *in silico*, as possíveis atividades farmacológicas do monoterpeno 7-hidroxicitronelal, juntamente com seu perfil de biodisponibilidade oral, e ainda determinar a toxicidade teórica deste composto.

2 METODOLOGIA

2.1 CLASSIFICAÇÃO DA PESQUISA

O presente estudo pode ser classificado como aplicado, uma vez que resultados podem vir a ser úteis na prática clínica, quantitativo, na medida em que numera a partir de 'scores' uma determinada atividade da substância e por fim experimental, pois os resultados são encontrados através de diversos testes.

Todos os testes neste trabalho foram realizados sem a utilização de animais, ou mesmo seres humanos, dispensando assim a aprovação no comitê de ética e pesquisa, bem como a utilização de um termo de consentimento livre e esclarecido.

2.2 OBTENÇÃO DAS INFORMAÇÕES QUÍMICAS DOS MONOTERPENOS

Para a realização dos estudos *in silico*, todas as informações químicas (estrutura química da molécula, massa molecular, polaridade, CAS-number) do monoterpeno 7-hidroxicitronelal foram obtidas no site <http://www.chemspider.com/>.

2.3 ANÁLISE TEÓRICA DAS ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

A previsão do espectro de atividade para substâncias - PASS online® é um software que objetiva avaliar o potencial biológico de uma molécula orgânica quando em contato com o organismo humano. Por meio deste, é possível ter previsões simultâneas de múltiplos tipos de atividades biológicas com base na estrutura dos compostos orgânicos, além de permitir estimar o potencial de atividade de uma substância, podendo esta ser classificada como índices Pa (probabilidade "de ser ativo") e Pi (probabilidade "de ser inativo"), podendo ser acessado pelo endereço: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/> (SRINIVAS et al., 2014.).

2.4 ANÁLISE TEÓRICA DA TOXICIDADE

Para a análise da toxicidade teórica foram avaliados o potencial *druglikeness* e *drug-score* e os diversos parâmetros farmacocinéticos da estrutura do monoterpeno 7-hidroxicitronelal que foi submetida ao estudo *in silico* dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) usando o programa Osiris Property Explorer através do endereço: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html> (SRINIVAS et al., 2014.).

2.5 ANÁLISE TEÓRICA DO PERFIL DE BIODISPOIBILIDADE ORAL

Também foi feita a possível análise da biodisponibilidade oral teórica, com auxílio do software Molinspiration® acessado através do endereço: <http://www.molinspiration.com/>, de forma a contemplar se esta atendia aos requisitos da "Regra dos cinco de Lipinski", uma vez que segundo tal regra, para que uma substância apresente bom perfil de biodisponibilidade oral teórico, deve atender a pelo menos três dos cinco requisitos da regra de Lipinski. Assim foi avaliado se o composto se encaixava em critérios como: peso molecular de até 500 daltons (Da), coeficiente de partição octanol/água calculado (cLogP) 5 ou inferior, número de aceptores de ligação hidrogênio (nALH) 10 ou inferior e número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) 5 ou inferior (LIPINSKI et al., 2001).

2.6 ANÁLISE DOS DADOS

Para a análise dos dados obtidos na pesquisa e construção das tabelas e gráficos utilizou-se o software Microsoft excel® 2010. Os resultados para os valores de toxicidade foram classificados a partir de uma escala de 1 a 3, onde 1 significava toxicidade ausente, 2 toxicidade moderada e 3 toxicidade severa. Para os valores das atividades farmacológicas teóricas numa escala de 0,001 a 1 (100%).

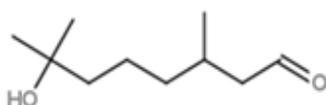
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ENSAIOS DE ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

Radicais livres correspondem a átomos ou moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados, sendo formados em processos metabólicos e podendo ser removidos através de defesas antioxidantes (GUTTERIDGE, HALLIWELL, 2010).

Diversos estudos na literatura mostram que muitos monoterpenos apresentam atividade antioxidante, sendo alguns deles: α -tujona (MOTHANA et al., 2011), α -pineno (WANNERS et al., 2010), timol (KULISIC-BILUSIC et al., 2012) e ciano-carvona (COSTA et al., 2012).

Figura 1 - Estrutura química do monoterpeno 7-hidroxicitronelal, derivado do citronelal, com fórmula molecular $C_{10}H_{20}O_2$.



Fonte: Silva, 2016.

Com relação ao espectro de atividades do 7-hidroxicitronelal (figura 1), por meio da utilização do programa *PASS Online*[®], puderam ser observados diversos efeitos com potencial aplicação farmacológica, onde os de maior potencial ou correlação com atividade antioxidante foram agrupados em tabela com seus respectivos “Pa” – probabilidade de ser ativo, e “Pi” – probabilidade de ser inativo resumidos na figura 2.

Figura 2 - Atividades farmacológicas teóricas do monoterpeno 7-hidroxicitronelal de interesse, de acordo com o programa *PASS Online*[®].

Pa	Pi	ATIVIDADE
0,473	0,124	Antiisquêmico cerebral
0,465	0,052	Vasodilatador periférico
0,280	0,188	Vasoprotetor
0,259	0,109	Antiinflamatório intestinal
0,250	0,083	Anticarcinogênico
0,239	0,040	Antioxidante
0,232	0,146	Cardioprotetor
0,221	0,035	Capturador de óxido nítrico
0,218	0,147	Tratamento da aterosclerose

Fonte: Silva, 2016.

O monoterpeno também demonstrou ser portador de atividade antioxidante (Pa: 0,239), além de apresentar diversas outras atividades que podem estar correlacionadas com este efeito, entre elas, efeito anti-inflamatório (Pa: 0,259), vasodilatador (Pa: 0,465), cardioprotetor (Pa: 0,232), anticarcinogênico (Pa: 0,250) e no tratamento da aterosclerose (Pa: 0,218).

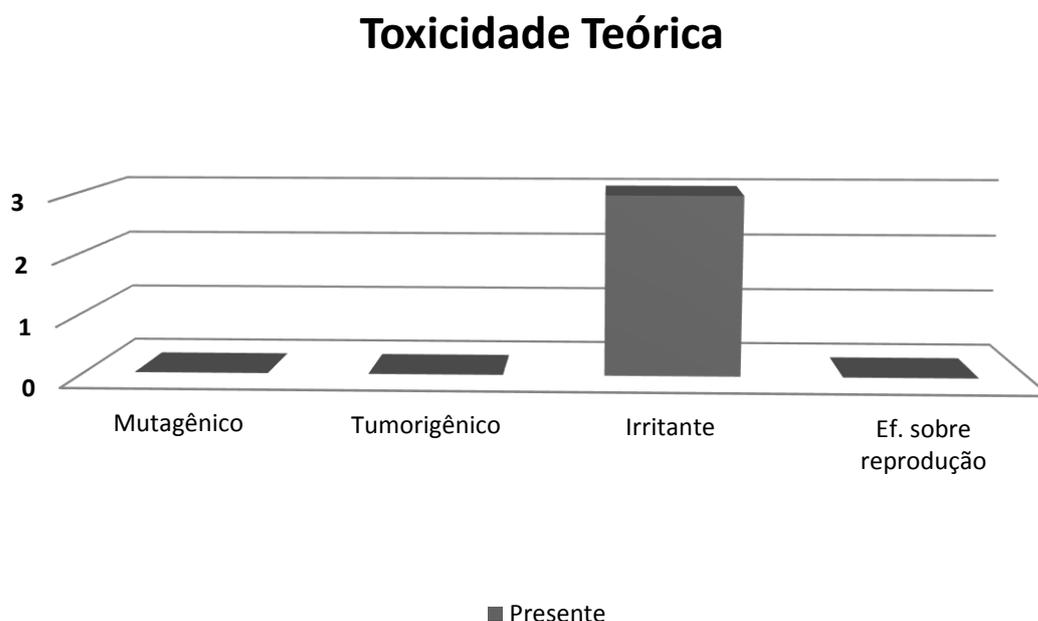
Os resultados apresentados vão ao encontro de muitos estudos na literatura, os quais demonstram que diversos monoterpenos apresentam atividade anti-inflamatória (KAWATA et al., 2008), vasodilatadora (GUEDES et al., 2004; JOHNSON et al., 2009; PINTO et al., 2009), cardioprotetora (TOUVAY et al., 1995; MAGYAR et al., 2004), anticarcinogênica (BHALLA et al., 2013), entre outras.

3.2 ENSAIOS DE TOXICIDADE TEÓRICA

Por meio da utilização do programa *Osiris Property Explorer*[®], foi feita a análise da toxicidade teórica do monoterpeneo 7-hidroxicitronelal, onde foram avaliados os efeitos mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução, além de também terem sido encontrados os potenciais *druglikeness* e *drugscore* da substância.

Pela interpretação dos resultados foi observado que o composto apresentou considerável efeito irritante, tendo sido sinalizado como de alto risco, contudo os demais parâmetros (mutagenicidade, toxicidade e efeito sobre a reprodução) não apresentaram valores significativos (figura 3).

Figura 3: Perfil de toxicidade teórica do 7-hidroxicitronelal, após a análise no *Osiris*[®].



Fonte: Silva, 2016.

O potencial *druglikeness* foi negativo (-6,31), dessa forma o composto em estudo apresenta poucas novidades estruturais em relação aos fármacos já existentes no mercado; contudo o *drugscore* positivo (0,28) que ao analisar todos os parâmetros juntos, inclusive a toxicidade, sugere o potencial de a substância vir a se tornar um futuro fármaco.

3.3 PERFIL DE BIODISPONIBILIDADE ORAL

Com auxílio do software *Molinspiration*[®], foram obtidas as propriedades moleculares inerentes ao mesmo (figura 4), tomando como base alguns parâmetros da regra dos cinco de Lipinski, sendo eles: número de grupos doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5; número de grupos aceptores de ligação de hidrogênio (nALH) menor ou igual a 10; massa molecular (MM) menor ou igual a 500 g/mol e coeficiente de partição octanol-água (cLog P) menor ou igual a 5. Segundo essa regra, para que uma substância apresente boa biodisponibilidade oral teórica, esta precisa atender a pelo menos três dos quatro critérios estabelecidos na regra, como foi citado acima (LIPINSKI et al., 2001).

Após interpretação dos dados observou-se que todos os valores estão de acordo com o estabelecido pela regra, desta forma pode-se afirmar que a substância apresenta claramente boa biodisponibilidade oral teórica, fator importante a ser considerado no desenvolvimento de novos medicamentos.

Figura 4 – Perfil de biodisponibilidade oral teórico de 7-HCT.

SUBSTÂNCIA	nDLH	nALH	Da	cLogP
7-HCT	1	2	172.27	2,37
Parâmetros da “Regra dos cinco de Lipinski”	≤ 5	≤ 10	≤ 500	≤ 5

Fonte: Silva, 2016.

Diante do encontrado, a substância demonstrou bom perfil antioxidante, permitindo assim procurar novas alternativas para o tratamento ou mesmo a redução da gravidade da doença periodontal, uma vez que ao demonstrar capacidade antioxidante, permitiria reduzir a formação de EROs e assim minimizar os danos aos tecidos periodontais por esses agentes.

5 CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos, pôde-se observar que o monoterpene apresentou variado espectro de atividades farmacológicas *in silico*, em especial, o efeito antioxidante. O monoterpene também demonstrou bom perfil de biodisponibilidade oral teórico. A análise toxicológica revelou que o mesmo pode apresentar efeito irritante. Contudo, mais estudos devem ser realizados para melhor analisar o comportamento da substância perante outros testes *in vitro*, bem como em tecidos e sistemas vivos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela manutenção das bolsas, a UFCG por possibilitar um campo adequado de trabalho e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R. N. et al. Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus maze test in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. v.77, p. 361-364, 2004.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine*. v.8, p.310-322, 2001.
- ANGELO, V.; MAX, D.; MARKUS, A. L. The Challenge of Predicting Drug Toxicity *in silico*. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. v.99, p.195-208, 2006.
- ANTHONY, K. P.; DEOLU-SOBOGUN, S. A.; SALEH, M. A. Comprehensive Assessment of Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Food Science*, v.77, n.8, 2012.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, v.46, p.446-475, 2008.
- BASU, S.; HAZRA, B. Evaluation of nitric oxide scavenging activity, *in vitro* and *ex vivo*, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases. *Phytotherapy Research*. v.20, n.10, p.896-900, 2006.

- BHALLA, Y.; GUPTA, V. K.; JAITAK, V. Anticancer activity of essential oils: a review. *Journal of Science and Food Agriculture*. v.93, p.3643-3653, 2013.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*. v.28, n.25-30, 1995.
- CHAPPLE, I. L. C.; MATTHEWS, J. B. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology*. v.43, p.160-232, 2000.
- EDRIS, A. E. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytoterapy Research*, v.21, p.308-323, 2007.
- FREITAS, R. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). *Revista Ciência e Farmacologia Básica Aplicada*. v.35, n.1, p.113-118, 2014.
- GUEDES, D. N. et al. Calcium antagonism and the vasorelaxation of the rat aorta induced by rotundifolone. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v.37, p.1881-1887, 2004.
- GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Antioxidants: molecules, medicines and myths. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v.393, n.4, p.561-564, 2010.
- HORVATHOVA, E. et al. Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-Protective effects of selected essential oil components (Eugenol, Carvacrol, Thymol, Borneol, Eucalyptol) of plants and intact *rosmarinus officinalis* oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.62, n.28, p.6632-6639, 2014.
- JOHNSON, C. D. et al. Transient receptor potential melastatin 8 channel involvement in the regulation of vascular tone. *American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology*. v.296, p.1868-1877, 2009.
- KAWATA, J.; KAMEDA, M.; MIYAZAWA, M. Cyclooxygenase-2 inhibitory effects of monoterpenoids with a p-methane skeleton. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*. v.2, p.145-148, 2008.
- KULISC-BILUSC, T et al. The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). *Food Chemistry*. v.132, p.261-267, 2012.
- LIPINSKI C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. v.46, n.1-3, p.3-26, 2001.
- MAGYAR, J. et al. Effects of terpenoid derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. *European Journal of Pharmacology*. v.487, p.29-36, 2004.
- MOTHANA, R. A. A. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of three endemic South African *Boswellia* species. *Food Chemistry*. v.126, n.3, p.1149-54, 2011.
- NADKARNI G. D.; D'SOUZA N. B. Antioxidant and free radical scavenging enzymes in chronically ethanol-consuming rats: controversy over hepatic lipid peroxidation. *Drug and Alcohol Dependence*. v.22, n.1-2, p.161-164, 1988.
- PEREIRA A. L. F.; VIDAL T. F.; CONSTANT P. B. L. Dietary antioxidants: chemical and biological importance. *Journal of the Brazilian Society for Food and Nutrition*. v.34, n.3, p.231-247, 2009.
- PINTO, N. V. et al. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia zerumbet* and its main constituent 1,8-cineone in rats. *Phytomedicine*. v.16, p.1151-1155, 2009.
- PITARO S. P.; JORGE N.; FIORANI L. V. Efeito antioxidante do extrato de manjeriço em óleo de soja sob condições de oxidação. *UNESP*. v.8, n.1, p.33-36, 2009.

- QUINTANS-JUNIOR L. et al. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. *Phytomedicine*. v.15, p.619-624, 2008.
- RATMAN D. V. et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. v.113, n.2, p.189-207, 2006.
- SILVA, O. A. et al. Potencial antioxidante in vitro do (-)- α -terpineol. *Revista de Biologia e Farmácia*, v.08, n.03, 2012.
- SPITZER, C. M. O. S. V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O et al. *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 5a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC. p.467-495, 2004.
- SRINIVAS, N. et al. In Vitro Cytotoxic Evaluation and Detoxification of Monocrotaline (Mct) Alkaloid: An In Silico Approach. *International Invention Journal of Biochemistry Bioinformatics*. v.2, n.3, p.20-29, 2014.
- STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; FERRAZ, C. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. *Eclética Química*. v.34, n.3, p.7-16, 2009.
- TOUVAY, C. et al. Effect of limonene and sobrerol on monocrotaline-induced lung alterations and pulmonary hypertension. *International Archives of Allergy and Immunology*. v.107, p.272-274, 2001.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. *Química Nova*. v.28, p.519-528, 2005.
- WANNERS, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food Chem Toxicol*. v.48, n.5, p.1362-70, 2010.
- ZHANG, Y. et al. Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC-DPPH assay. *Food Research International*. v.53, n.2, p.847-856, 2013.
- ZORE, G. B. et al. Phytochemistry Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. *European Journal of Integrative Medicine*. v.18, n.13, p.1181-1190, 2011.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em vista dos resultados obtidos, pôde-se observar que o monoterpene apresentou variado espectro de atividades farmacológicas *in silico*, em especial, o efeito antioxidante. Assim, o 7-hidroxicitronelal demonstrou ser portador de atividade antioxidante *in silico*. O monoterpene também demonstrou bom perfil de biodisponibilidade oral teórico. A análise toxicológica revelou que o mesmo pode apresentar efeito irritante. Contudo, mais estudos devem ser realizados para melhor analisar o comportamento da substância perante outros testes *in vitro*, bem como em tecidos e sistemas vivos.

ANEXO A

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE



Diretrizes para Autores

ROTEIRO PARA A ELABORAÇÃO DO ARTIGO

Línguas e áreas de estudo

Os artigos, revisões e Relatos de experiências submetidos à Revista Brasileira de Educação e Saúde podem ser elaborados em Português, Inglês ou Espanhol e devem ser produto de pesquisa nas grandes áreas de Educação e Saúde.

Composição sequencial do artigo

a) Título: no máximo com 18 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula; entretanto, quando o título tiver um subtítulo, ou seja, com dois pontos (:), a primeira letra da primeira palavra do subtítulo (ao lado direito dos dois pontos) deve ser maiúscula.

b) Nome(s) do(s) autor(es):

- Deverá(ao) ser separado(s) por vírgulas, escrito sem abreviações, nos quais somente a primeira letra deve ser maiúscula e o último nome sendo permitido o máximo 6 autores
- Colocar referência de nota no final do último sobrenome de cada autor para fornecer, logo abaixo, endereço institucional, incluindo telefone, fax e E-mail:
- Em relação ao que consta na primeira versão do artigo submetida à Revista, não serão permitidas alterações posteriores na sequência nem nos nomes dos autores.

c) Resumo: no máximo com 300 palavras.

d) Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título, separadas por pontos e com a primeira letra da primeira palavra maiúscula e o restante minúscula.

e) Título em inglês: terá a mesma normatização do título em Português ou em Espanhol, sendo itálico.

f) Abstract: no máximo com 300 palavras, devendo ser tradução fiel do Resumo.

g) Key words: terá a mesma normatização das palavras-chave.

h) Introdução: destacar a relevância da pesquisa, inclusive através de revisão de literatura, em no máximo 2 páginas. Não devem existir, na Introdução, equações, tabelas, figuras nem texto teórico básico sobre determinado assunto, mas, sim, sobre resultados de pesquisa. Deve constar elementos necessários que justifique a importância trabalho e no último parágrafo apresentar o(s) objetivo(s) da pesquisa.

i) Material e Métodos: deve conter informações imprescindíveis que possibilitem a repetição da pesquisa, por outros pesquisadores.

j) Resultados e Discussão: os resultados obtidos devem ser discutidos e interpretados à luz da literatura.

k) Conclusões: devem ser numeradas e escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se apenas nos resultados apresentados.

l) Agradecimentos (facultativo)

m) Literatura Citada: O artigo submetido deve ter obrigatoriamente 70% de referências de periódicos, sendo 40% dos últimos oito anos. Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

Para os artigos escritos em Inglês, título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português e, para os artigos em Espanhol, em Inglês; vindo em ambos os casos primeiro no idioma principal. Outros tipos de contribuição (Nota Técnica) para a revista poderão ter a sequência adaptada ao assunto.

Edição do texto

a) Processador: Word for Windows

b) Texto: fonte Times New Roman, tamanho 10. Não deverão existir no texto palavras em negrito nem em itálico, exceto para o título em inglês, itens e subitens, que deverão ser em negrito, e os nomes científicos de espécies vegetais e animais, que deverão ser em itálico. Em equações, tabelas e figuras não deverão existir itálico e negrito. Evitar parágrafos muito longos.

c) Espaçamento: simples entre o título, nome(s) do(s) autor(es), resumo e abstract; simples entre item e subitem.

d) Parágrafo: 0,75 cm.

e) Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2 cm e esquerda e direita de 2 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas.

f) Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito, alinhados à esquerda. Os subitens deverão ser em negrito e somente a primeira letra maiúscula.

g) As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão.

h) Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- As tabelas e figuras com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9-10, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas a primeira vez. Exemplos de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma única tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura em uma figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), posicionada ao lado esquerdo superior da figura. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto, da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima da tabela: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas. Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá haver um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, podendo ser coloridas, mas sempre possuindo marcadores de legenda diversos. Exemplo do título, o qual deve ficar acima da figura: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada. Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Em figuras agrupadas, se o título e a numeração dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado e a numeração em apenas um eixo. Gráficos, diagramas (curvas em geral) devem vir em imagem vetorial. Quando se tratar de figuras bitmap (mapa de bit), a resolução mínima deve ser de 300 bpi. Os autores deverão primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista, boa compreensão sobre elas. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis.

Exemplos de citações no texto

As citações devem conter o sobrenome do autor, que podem vir no início ou no final. Se colocadas no início do texto, o sobrenome aparece, apenas com a primeira letra em maiúsculo.

Ex.: Segundo Chaves (2015), os baixos índices de precipitação [...]

Quando citado no final da citação, o sobrenome do autor aparece com todas as letras em maiúsculo e entre parênteses.

Ex.: Os baixos índices de precipitação (CHAVES, 2015)

Citação direta

É a transcrição textual de parte da obra do autor consultado.

a) Até três linhas

As citações de até três linhas devem ser incorporadas ao parágrafo, entre aspas duplas.

Ex.:

De acordo com Alves (2015 p. 170) "as regiões semiáridas têm, como característica principal, as chuvas irregulares, variando espacialmente e de um ano para outro, variando consideravelmente, até mesmo dentro de alguns quilômetros de distância e em escalas de tempo diferentes, tornando as colheitas das culturas imprevisíveis".

b) Com mais de três linhas

As citações com mais de três linhas devem figurar abaixo do texto, com recuo de 4 cm da margem esquerda, com letra tamanho 10, espaço simples, sem itálico, sem aspas, estilo "bloco".

Ex.:

Os baixos índices de precipitação e a irregularidade do seu regime na região Nordeste, aliados ao contexto hidrogeológico, notadamente no semiárido brasileiro, contribuem para os reduzidos valores de disponibilidade hídrica na região. A região semiárida, além dos baixos índices pluviométricos (inferiores a 900 mm), caracteriza-se por apresentar temperaturas elevadas durante todo ano, baixas amplitudes térmicas em termos de médias mensais (entre 2 °C e 3 °C), forte insolação e altas taxas de evapotranspiração (CHAVES, 2015, p. 161).

Citação Indireta

Texto criado pelo autor do TCC com base no texto do autor consultado (transcrição livre).

Citação com mais de três autores

Indica-se apenas o primeiro autor, seguido da expressão et al.

Ex.:

A escassez de água potável é uma realidade em diversas regiões do mundo e no Brasil e, em muitos casos, resultante da utilização predatória dos recursos hídricos e da intensificação das atividades de caráter poluidor (CRISPIM et al., 2015).

SISTEMA DE CHAMADA

Quando ocorrer a similaridade de sobrenomes de autores, acrescentam-se as iniciais de seus prenomes; se mesmo assim existir coincidência, colocam-se os prenomes por extenso.

Ex.:

(ALMEIDA, R., 2015)

(ALMEIDA, P., 2015)

(ALMEIDA, RICARDO, 2015)

(ALMEIDA, RUI, 2015)

As citações de diversos documentos do mesmo autor, publicados num mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaçamento, conforme a lista de referências.

Ex.:

Segundo Crispim (2014a), o processo de ocupação do Brasil caracterizou-se pela falta de planejamento e consequente destruição dos recursos naturais.

A vegetação ciliar desempenha função considerável na ecologia e hidrologia de uma bacia hidrográfica (CRISPIM, 2014b).

As citações indiretas de diversos documentos de vários autores, mencionados simultaneamente, devem ser separadas por vírgula, em ordem alfabética.

Vários pesquisadores enfatizam que a pegada hídrica é um indicador do uso da água que considera não apenas o seu uso direto por um consumidor ou produtor, mas, também, seu uso indireto (ALMEIDA, 2013; CRISPIM, 2014; SILVA, 2015).

a) Quando a citação possuir apenas um autor: Folegatti (2013) ou (FOLEGATTI, 2013).

b) Quando a citação possuir dois autores: Frizzone e Saad (2013) ou (FRIZZONE; SAAD, 2013).

c) Quando a citação possuir mais de dois autores: Botrel et al. (2013) ou (BOTREL et al., 2013).

Quando a autoria do trabalho for uma instituição/empresa, a citação deverá ser de sua sigla em letras maiúsculas. Exemplo: EMBRAPA (2013).

Literatura citada (Bibliografia)

As bibliografias citadas no texto deverão ser dispostas na lista em ordem alfabética pelo último sobrenome do primeiro autor e em ordem cronológica crescente, e conter os nomes de todos os autores. Citações de bibliografias no prelo ou de comunicação pessoal não são aceitas na elaboração dos artigos.

A seguir, são apresentados exemplos de formatação:

a) Livros

NÃÃS, I. de A . Princípios de conforto térmico na produção animal. 1.ed. São Paulo: Ícone Editora Ltda, 2010. 183p.

b) Capítulo de livros

ALMEIDA, F. de A. C.; MATOS, V. P.; CASTRO, J. R. de; DUTRA, A. S. Avaliação da qualidade e conservação de sementes a nível de produtor. In: Hara, T.; ALMEIDA, F. de A. C.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. (eds.). Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande: UFPB/SBEA, 2015. cap.3, p.133-188.

c) Revistas

PEREIRA, G. M.; SOARES, A. A.; ALVES, A. R.; RAMOS, M. M.; MARTINEZ, M. A. Modelo computacional para simulação das perdas de água por evaporação na irrigação por aspersão. Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v.16, n.3, p.11-26, 2015.

d) Dissertações e teses

DANTAS NETO, J. Modelos de decisão para otimização do padrão de cultivo em áreas irrigadas, baseados nas funções de resposta da cultura à água. Botucatu: UNESP, 2009. 125p.

e) Trabalhos apresentados em congressos (Anais, Resumos, Proceedings, Disquetes, CD Roms)

WEISS, A.; SANTOS, S.; BACK, N.; FORCELLINI, F. Diagnóstico da mecanização agrícola existente nas microbacias da região do Tijucas da Madre. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 25, e Congresso Latino-Americano de Engenharia Agrícola, 2, 1996, Bauru. Anais ... Bauru: SBEA, 2010. p.130.

No caso de CD Rom, o título da publicação continuará sendo Anais, Resumos ou Proceedings mas o número de páginas será substituído pelas palavras CD Rom.

Outras informações sobre normatização de artigos

a) Na descrição dos parâmetros e variáveis de uma equação deverá haver um traço separando o símbolo de sua descrição. A numeração de uma equação deverá estar entre parêntesis e alinhada à direita: exemplo: (1). As equações deverão ser citadas no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eqs. 3 e 4.

b) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada palavra.

c) Nos exemplos seguintes de citações no texto de valores numéricos, o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade:

10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; l/s = L s⁻¹; 27°C = 27 oC; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³ min⁻¹ m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto).

A % é a única unidade que deve estar junto ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, que possuem a mesma unidade, colocar a unidade somente no último valor (Exemplos: 20 m e 40 m = 20 e 40 m; 56,1%, 82,5% e 90,2% = 56,1, 82,5 e 90,2%).

d) Quando for pertinente, deixar os valores numéricos no texto, tabelas e figuras com no máximo três casas decimais.

f) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a 1ª letra de cada palavra maiúscula.

RECOMENDAÇÃO IMPORTANTE: Recomenda-se aos autores a consulta na página da Revista (<http://revista.gvaa.com.br/>) de artigos publicados, para suprimir outras dúvidas relacionadas à normatização de artigos, por exemplo, formas de como agrupar figuras e tabelas.

DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA

Declaramos que concordamos com a submissão e eventual publicação na Revista Brasileira de Educação e Saúde (REBES), do artigo intitulado: _____, dos autores abaixo relacionados, tendo como Autor Correspondente o Sr. _____, que ficará responsável por sua tramitação e correção.

Declaramos, ainda, que o referido artigo se insere na área de conhecimento: _____, tratando-se de um trabalho original, em que seu conteúdo não foi ou não está sendo considerado para publicação em outra Revista, quer seja no formato impresso e/ou eletrônico.

Local e data

ORDEM DOS AUTORES NO ARTIGO

NOME COMPLETO DOS AUTORES

ASSINATURA

1
2
3
4
5

Obs.: O presente formulário deverá ser preenchido, assinado e enviado para o e-mail: rvadsgvaa@gmail.com.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)
3. URLs para as referências foram informadas quando necessário.
4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto, não no final do documento, como anexos.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).

Declaração de Direito Autoral

Termo de cessão de direitos autorais

Esta é uma revista de acesso livre, onde, utiliza o termo de cessão seguindo a lei nº 9.610/1998, que altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais no Brasil. Os Autores que publicam na Revista Brasileira de Educação e Saúde (REBES) concordam com os seguintes termos: O(s) autor(es) doravante designado(s) CEDENTE, por meio desta, cede e transfere, de forma gratuita, a propriedade dos direitos autorais relativos à OBRA à Revista Brasileira de Educação e Saúde (REBES), representada pelo Grupo Verde de Agricultura Alternativa (GVAA), estabelecida no edifício #20do GVAA no Km 47 da BR 110, no Bairro Costa e Silva, s/n no CEP 59600300 em Mossoró - RN - BRASIL, ou Av. Rio Mossoró, 83 1 A n 4. 59625120 Mossoró - RN ou R. João Albuquerque Santiago, 111, Bairro do Catolé - 58105085 - Campina Grande - PB doravante designada CESSIONÁRIA, nas condições descritas a seguir: #0D#0A1. O CEDENTE declara que é (são) autor(es) e titular(es) da propriedade dos direitos autorais da OBRA submetida. #0D#0A2. O CEDENTE declara que a OBRA não infringe direitos autorais e/ou outros direitos de propriedade de terceiros, que a divulgação de imagens (caso as mesmas existam) foi autorizada e que assume integral responsabilidade moral e/ou patrimonial, pelo seu conteúdo, perante terceiros. O CEDENTE cede e transfere todos os direitos autorais relativos à OBRA à CESSIONÁRIA, especialmente os direitos de edição, de publicação, de tradução para outro idioma e de reprodução por qualquer processo ou técnica através da assinatura deste termo impresso que deverá ser submetido via correios ao endereço informado no início deste documento. A CESSIONÁRIA passa a ser proprietária exclusiva dos direitos referentes à OBRA, sendo vedada qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outro meio de divulgação, impresso ou eletrônico, sem que haja prévia autorização escrita por parte da CESSIONÁRIA.

ANEXO B

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

REBES

REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE



USUÁRIO
Logado como:
marcus27

- [Meus periódicos](#)
- [Perfil](#)
- [Sair do sistema](#)

AUTOR
Submissões:

- [Ativo \(1\)](#)
- [Arquivo \(0\)](#)
- [Nova submissão](#)

IDIOMA
Selecione o idioma

Português (Brasil)

CONTEÚDO DA REVISTA

Pesquisa

Escopo da Busca

CAPA SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO PESQUISA ATUAL ANTERIORES NOTÍCIAS TAXAS E POLÍTICA EDITORIAL

MODELO ARTIGO (VERSÃO FINAL)

Capa > Usuário > Autor > Submissões > #4774 > **Resumo**

#4774 Sinopse

RESUMO AVALIAÇÃO EDIÇÃO

Submissão

Autores	Marcus Antônio Bezerra da Silva, Marthana de Maria Araújo Miranda, Denildo de Araújo Carvalho, Heloísa Mara Batista Fernandes, Abraão Alves de Oliveira Filho
Título	Bioprospecção dos potenciais farmacológicos e toxicológicos do monoterpeno 7-hidroxicitronelal: Ensaios in silico
Documento original	4774-16657-1-SM.DOCX 2017-02-15
Docs. sup.	4774-16658-1-SP.PDF 2017-02-15 4774-16659-1-SP.PDF 2017-02-15 4774-16660-1-SP.PDF 2017-02-16 INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR
Submetido por	Sr. Marcus Antônio Bezerra da Silva
Data de submissão	fevereiro 15, 2017 - 07:16
Seção	Odontologia
Editor	Nenhum(a) designado(a)