



Programa de Pós Graduação em Biotecnologia

Rede Nordeste de Biotecnologia

Universidade Federal do Piauí

- Ponto Focal -

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE UM COMPLEXO DE INCLUSÃO DO
NEROLIDOL COM CICLODEXTRINA E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES
FARMACOLÓGICAS**

Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho

Teresina, Piauí

2017

Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho

Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão do nerolidol com ciclodextrina e avaliação de propriedades farmacológicas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, ponto focal da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Livio Cesar Cunha Nunes

Teresina, Piauí

2017

FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE

ALUNO: RUSBENE BRUNO FONSECA DE CARVALHO

TÍTULO DO PROJETO: "Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão do nerolidol com ciclodextrina e avaliação de propriedades farmacológicas."

PROFESSOR ORIENTADOR: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes - UFPI (Presidente)	<u>Satisfatório</u>	
Prof. Dr. Francisco das Chagas Alves Lima - UESPI (Examinador)	<u>Satisfatório</u>	
Profa. Dra. Chistiane Mendes Feitosa - UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	
Profa. Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros – UFPI (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	
Profa. Dra. Lidiane da Silva Araújo - USP (Examinadora)	<u>Satisfatório</u>	

DATA DA AVALIAÇÃO: 06 de julho de 2017.

HORÁRIO: 09h

LOCAL: Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Células-tronco - NUPCelt/UFPI

*A minha querida avó e ao grande mestre
Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas (in memoriam).*

Aos meus pais, pelo apoio incondicional.

*Aos meus irmãos, a minha noiva, e
ao meu orientador pelo incentivo.*

*E a toda minha Família
por vibrar cada vitória alcançada.*

AGRADECIMENTOS

Aos **grandes professores e mestres** que fizeram parte de toda a minha trajetória, pelos ensinamentos e contribuições durante toda a minha vida.

Aos membros do **Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo – Medicamentos e Correlatos (LITE)**, **Laboratório de Pesquisa em Genética Toxicológica (LAPGENIC)** e **Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental (LAPNEX)** pela convivência e compartilhamento de experiências, além da amizade e apoio.

Ao meu orientador **Prof. Livio Cesar Cunha Nunes** pela orientação, dedicação, paciência e, principalmente, pela amizade durante todo o processo.

À Universidade Federal do Piauí, na pessoa do Magnífico Reitor **Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes**, pelo apoio ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, do ponto focal da Universidade Federal do Piauí.

À **Coordenação do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia-RENORBIO**, do ponto focal da Universidade Federal do Piauí pelo compromisso e pela competência na gestão desse curso.

À Universidade de Coimbra - Portugal, na pessoa do diretor da Faculdade de Farmácia **Dr. Francisco José de Baptista Veiga**, **Dr. Carlos Cavaleiro**, **Dr. Rui Carvalho** e **Dra. Ana Rita Ramalhos Figueiras**, pela oportunidade de crescimento intelectual e profissional, e contribuições nesse trabalho.

Aos membros da **banca de qualificação e defesa** por se disponibilizarem gentilmente para avaliação deste trabalho.

Ao CNPq, FAPEPI e CAPES pelo incentivo financeiro dispensado durante a pesquisa.

E por fim, mas não menos importante, eu agradeço imensamente ao sempre orientador e amigo **Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas** (*in memoriam*) que conduziu a todos ao seu redor com extrema sabedoria por meio de seu dom de ensinar. Não existem palavras que expressem a minha gratidão e agradecimentos, seus grandes ensinamentos e conselhos deram uma enorme contribuição em minha vida!

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”.

(Simone de Beauvoir)

CARVALHO, R. B. F. **Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão do nerolidol com ciclodextrina e avaliação de propriedades farmacológicas**. 2017. 168p. Tese (Pós-graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina-Piauí. Orientador: Prof. Dr. Livio Cesar Cunha Nunes.

RESUMO

O nerolidol (NRL) ($C_{15}H_{26}O$) é um sesquiterpeno acíclico oxigenado que pode ser encontrado em óleos essenciais de diversas espécies de plantas e que possui diversas propriedades farmacológicas descritas na literatura, tornando-se um promissor candidato a futuro fitomedicamento. Entretanto possui características que dificultam o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica e sua aplicabilidade tecnológica, fazendo-se necessário o incremento de tecnologias para aumentar a estabilidade e melhorar a solubilidade. Nesse contexto, se propôs a inclusão deste sesquiterpeno em complexo utilizando a metil- β -ciclodextrina (M β CD), como molécula hospedeira, ao qual é reconhecida na literatura por proporcionar estabilidade a molécula hospedeira, bem como aumentar a solubilidade aquosa e biodisponibilidade. O objetivo desse trabalho foi obter e caracterizar o complexo de inclusão (CI) do NRL com M β CD e investigar a atividade anticolinesterásica, capacidade oxidante, antioxidante e de reparo do NRL e CI em *Saccharomyces cerevisiae* frente aos danos do peróxido de hidrogênio, bem como avaliar a atividade antibacteriana e a possível atividade antiepiléptica desses compostos em modelos experimentais de crises epiléticas em camundongos. Inicialmente, foi realizada uma revisão, por meio de prospecção científico-tecnológica em bancos de dados direcionados a aplicação destas substâncias em doenças neurodegenerativas. Posteriormente, os CIs foram preparados em solução recorrendo ao método de solubilidade de fases para se obter a estequiometria dos complexos de inclusão. Logo após, preparados em estado sólido pelas técnicas de malaxagem, liofilização e evaporação rotativa, e caracterizados por calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise por espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raio-x (DRX) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H). Por fim, foram avaliadas as atividades farmacológicas do CI, bem como do NRL. O efeito inibitório do NRL e CI frente à enzima acetilcolinesterase foi avaliada qualitativamente por cromatografia de camada delgada e quantitativamente por método espectrofotométrico. Na avaliação antimicrobiana foram realizados ensaios de susceptibilidade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória, utilizando-se microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. A capacidade oxidante, antioxidante e de reparo foram avaliadas em *Saccharomyces cerevisiae* frente aos danos do peróxido de hidrogênio. E por fim, a avaliação antiepiléptica foi investigada por meio de modelos experimentais de crises epiléticas induzidas por pilocarpina. A prospecção mostrou estudos com propriedades relevantes no tratamento de doenças neurodegenerativas, tais como, atividades anticolinesterásica, antioxidante, antinociceptiva, anti-inflamatória e ansiolítica. Entretanto, somente onze registros de depósito de patentes foram encontrados, sugerindo a necessidade de maiores estudos sobre esse composto, tendo em vista a versatilidade da molécula que apresenta-se promissora para o desenvolvimento de novas drogas com potencial terapêutico. Os resultados obtidos comprovam que a solubilidade do fármaco foi significativamente aumentada na presença da M β CD, indicando a formação de complexos de inclusão em solução na estequiometria 1:1. A formação do CI no estado sólido foi comprovada pelas análises de DSC, IV-TF, MEV, DRX e RMN H^1 mostrando que essas técnicas podem ser usadas para identificar as diferenças de complexos obtidos. O método de obtenção com melhores resultados foi obtido por liofilização, pois apresentou elevado rendimento e maior grau de interação do NRL com M β CD. O NRL e o CI apresentaram resultado positivo frente à inibição qualitativa e quantitativa da enzima acetilcolinesterase, porém o mesmo não foi observado para M β CD, o que indica que o NRL é o composto ativo na inibição da enzima. Na atividade antibacteriana, o NRL puro foi capaz de inibir todas as cepas *gram positivas* e algumas *gram negativas* testadas, diferentemente do CI que inibiu somente *E. faecalis* ATCC 29212. Tanto o NRL como CI apresentaram atividade antioxidante e de reparo em *Saccharomyces cerevisiae* frente aos danos do peróxido de hidrogênio. Já atividade antiepiléptica foi observada aumento significativo da latência para a instalação de crises epiléticas e estado de mal epilético, bem como na mortalidade, especialmente para a dose de 50 e 75 mg/kg do NRL e CI no modelo de crise epilética induzida por pilocarpina. Diante desses resultados foi submetido ao Núcleo de inovação e transferência de tecnologia da Universidade Federal do Piauí o pedido de patente do CI (NRL:M β CD) com aplicação como inibidores da enzima acetilcolinesterase, bem como potencial antioxidante.

Palavras-chave: Sesquiterpeno. Ciclodextrinas. Acetilcolinesterase. Antibacteriana. *Saccharomyces cerevisiae*. Epilepsia.

CARVALHO, R. B. F. **Technological development of an inclusion complex of nerolidol with cyclodextrin and evaluation of pharmacological properties.** 2017. 168p. Thesis (Pós-graduate in Biotechnology, Northeast Biotechnology Network - RENORBIO), Advisor: Prof. Dr. Livio Cesar Cunha Nunes. Federal University of Piauí (UFPI), Teresina, Piauí.

ABSTRACT

Nerolidol (NRL) ($C_{15}H_{26}O$) is an oxygenated acyclic sesquiterpene that can be found in the composition of essential oils from a variety of plants. Also it has many pharmacological properties described in the literature. This makes it a promising candidate as future phytomedicine. However, it has a characteristic that makes difficult the development of a pharmaceutical formulation and its technological applicability. Facing this, it is necessary the incrementation of technologies to enhance the stability and improve solubility. In this context, it was proposed inclusion of this sesquiterpene in a complex with a methyl- β -cyclodextrin (M β CD), as a host molecule. This complex is well recognized in the literature because promotes stability to the guest molecule, as well as increasing aqueous solubility and biodisponibility. The aim of this study was obtaining and characterizing the inclusion complex (IC) of NRL with M β CD and to investigate the anticholinesterase activity, oxidant capacity, antioxidant activity and the repair of NRL and IC in *Saccharomyces cerevisiae* in face of the damage of hydrogen peroxide, as well as to evaluate the antibacterial activity and the probable antiepileptic activity of this compounds in experimental models of epileptic crisis in mice. Initially, it was performed a review through a technological-scientific prospection on databases directed to applications of these substances on neglected diseases. After that, ICs were prepared in solution through the method of phase solubility to obtaining stoichiometry of the inclusion complexes. After that, they were prepared in the solid state from kneading, freeze-drying, and rotative evaporation techniques. They were characterized by differential scanning calorimetry (DSC) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), Scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD) and hydrogen nuclear magnetic resonance spectroscopy (1H NMR). Finally, they were evaluated as pharmacological activities of IC as well as NRL. Inhibitory effect of NRL and IC in comparison to the anticholinesterase enzyme was evaluated qualitatively by thin layer chromatography and quantitatively by spectrophotometric method. To perform an antimicrobial evaluation it was done antimicrobial susceptibility testing and determination of inhibitory minimum concentration, using gram-negative and gram-positive bacteria. The oxidative, antioxidant and repair capacity were evaluated in *Saccharomyces cerevisiae* comparing the damage do hydrogen peroxide. Finally, the antiepileptic activity was evaluated through experimental models of epileptic crisis induced by pilocarpine. It was possible to highlight many studies with relevant properties on the treatment of neurodegenerative diseases, such as, anticholinesterase, antioxidant, antinociceptive, anti-inflammatory and anxiolytic activity. However, just a little amount of patent deposit was found. This suggests the need of further studies about this compound, considering the fact that molecule is a promising compound to the development of new drugs with therapeutic potential. The results obtained prove that the drug solubility was increased significantly in the presence of M β CD. This indicates that, the formation of inclusion complexes in solution with 1:1 stoichiometry. Obtained results on, FTIR, SEM, XRD and 1H NMR proves the formation of inclusion complexes in the solid state. This shows that these techniques can be used to identify distinctions in the obtained complexes. The method of obtained with best results was obtained by freeze-drying, because it showed high yield and higher degree of interaction between NRL and M β CD. NRL and IC showed positive result considering qualitative and quantitative inhibition of acetylcholinesterase enzyme, however the same was not observed to M β CD, this indicates that NRL is the active compound on the enzyme inhibition. Considering the antibacterial activity, pure NRL was able to inhibit all tested gram positive strains and some gram negative strains. In other hand, IC inhibited only *E. faecalis* ATCC 29212. Both NRL and IC showed repair and antioxidant activity in *Saccharomyces cerevisiae* against the hydrogen damage. Considering Antiepileptic activity was observed a significantly increasing on latency to epileptic crisis installation, as well as mortality, specially when considered the dose of 50 and 75 mg/Kg of NRL and IC in the model of epileptic crisis induced by pilocarpine. Thus, these results were subjected to the Innovation Nucleus and Transfer Technology of the Federal University of Piauí in a patent application of IC (NRL:M β CD) with application as inhibitors of acetylcholinesterase enzyme as well as antioxidant potential.

Keywords: Sesquiterpenes. Cyclodextrins. Acetylcholinesterase. Antibacterial. *Saccharomyces cerevisiae*. Epilepsy.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1. Organização do trabalho de tese.....	19
---	----

FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

Figura 1. Estrutura molecular de um isopreno, monoterpene e sesquiteropene.	22
--	----

Figura 2. Estrutura molecular do nerolidol.....	23
--	----

Figura 3. Estruturas e propriedades de diferentes ciclodextrinas.....	26
--	----

Figura 4. Representação do diagrama de solubilidade de fases.....	33
--	----

Figura 5. Demonstração em corte transversal de um cérebro saudável e com Alzheimer.....	37
--	----

Figura 6. Geração e ação de radicais livres no organismo.....	44
--	----

Figura 7. Representação do cérebro humano com demonstração de crise parcial e generalizada e seus respectivos eletroencefalogramas.....	48
--	----

Figuras 8. Estrutura química do Fenobarbital, Fenitoína, Carbamazepina e Valproato.....	51
--	----

CAPITULO I

Figura 1. Estrutura química do Nerolidol (Isômeros).....	70
---	----

Figura 2. Síntese do (3R)-nerolidol.....	70
---	----

Figura 3. Representação esquemática da realização da busca de artigos e pedidos de registro de depósito de patente.....	73
--	----

Figura 4. Distribuição por ano dos artigos selecionados a partir das bases de dados Science Direct, Scopus, Pub Med e Web of Science.....	74
--	----

Figura 5. Formação do ânion amarelo do 5-tio-2-nitrobenzoato resultado da reação entre a tiocolina e o íon 5,5'- ditiobis-2-nitrobenzoato.....	75
---	----

CAPITULO II

Figura 1. Estrutura química do Nerolidol otimizada em programa ACD/3D: ChemSketch.....	92
---	----

Figura 2. Estrutura molecular da M β CD.....	94
---	----

Figura 3. Diagrama de solubilidade do nerolidol em presença de M β CD.....	100
Figura 4. Cromatograma dos isômeros do Nerolidol, Z (1), E (2), e do padrão interno (3).....	101
Figura 5. Curvas de DSC das amostras isoladas e dos complexos de inclusão.....	102
Figura 6. Espectro de IV-TF das amostras isoladas e dos complexos de inclusão.....	104
Figura 7. Microscopia eletrônica de varredura evidenciando a morfologia das partículas da M β CD e dos complexos de inclusão com ampliação de 500x, 1000x e 1500x.....	106
Figura 8. Difratogramas de raio X da M β CD e dos complexos de inclusão.....	107
Figura 9. Difratogramas obtidos para M β CD, MF e complexos de inclusão, com aproximação do difratograma da MF.....	109
Figura 10. Representação esquemática da formação do CI (NRL:M β CD).....	112
CAPITULO III	
Figura 1. Estrutura química do Nerolidol otimizada em programa ACD/3D: ChemSketch.....	122
Figura 2. Posição das linhagens de <i>S. cerevisiae</i> utilizadas no experimento.....	127
Figura 3. Placa de inibição qualitativa frente à AChE.....	130
Figura 4. Percentual da inibição da AChE versus concentração do NRL e CI....	131
Figura 5. Ensaio de susceptibilidade antimicrobiana empregando-se a cepa de <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778).....	134
Figura 6. Avaliação oxidante do NRL e CI em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pela inibição de crescimento no teste do disco central.....	136
Figura 7. Avaliação antioxidante do NRL e CI em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pela inibição de crescimento no teste do disco central.....	137
Figura 8. Atividades de reparo do NRL e CI observada frente aos danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio avaliadas pela inibição de halos em <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	140
Figura 9. Efeitos de NRL e CI sobre as convulsões induzidas por pilocarpina e letalidade em camundongos adultos.	142

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

Tabela 1. Identificação e propriedades físico-químicas do nerolidol	24
Tabela 2. Estudos de obtenção e caracterização de complexos de inclusão com óleos essenciais e compostos voláteis.....	25
Tabela 3. Principais propriedades físico-químicas das CDs naturais.....	27
Tabela 4. Características de algumas dos principais derivados da β -CD.....	28
Tabela 5. Principais vantagens e desvantagens atribuídas aos métodos mais utilizados no preparo de complexo de inclusão.....	31
Tabela 6. Alguns produtos farmacêuticos contendo CD disponíveis no mercado mundial.....	35
Tabela 7. Estrutura química e alguns efeitos colaterais de inibidores da enzima acetilcolinesterase.....	38
Tabela 8. Produtos naturais como promissores inibidores da enzima acetilcolinesterase.....	40
Tabela 9. Classificação de crises epiléticas.....	48

CAPITULO I

Tabela 1. Resumo das patentes depositadas com o nerolidol e suas aplicações farmacológicas.....	82
--	----

CAPITULO II

Tabela 1. Rendimento dos CI obtidos por diferentes metodologias.....	101
Tabela 2. Picos de difração dos complexos de inclusão com ângulos de 2θ	108
Tabela 3. Deslocamento químico (δ) RMN (600 MHz) da M β CD e do CI.....	110
Tabela 4. Descrição do RMN de ^1H (600 MHz) para o NRL.....	111
Tabela 5. Deslocamento químico (δ) RMN (600 MHz) da NRL e do CI.....	111

CAPITULO III

Tabela 1. Descrição das linhagens de <i>S. cerevisiae</i> utilizadas.....	126
Tabela 2. Esquema experimental para avaliação dos efeitos do NRL e CI em <i>S. cerevisiae</i>	128
Tabela 3. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) do NRL e CI.....	135

LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS

3-HPβCD	3-hidroxiopropil- β -ciclodextrina
AChE	Acetilcolinesterase
ATCI	Iodeto de acetiltiocolina
ATP	Trifosfato de adenosina
CAT	Catalase
CCD	Cromatografia em camada delgada
CD	Ciclodextrina
CG	Crises generalizadas
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
CGtase	ciclodextrina-glicosiltransferase
CI	Complexo de inclusão
CI₅₀	Concentração inibitória média
CMEβCD	6-O-carboximetil-O-etil- β CD (CME β CD)
CO₂	Dioxido de carbono
CP	Crises parciais
DA	Doença de Alzheimer
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido deuterado
DRX	Difração de raio-x
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
ERNS	Espécies reativas derivadas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas derivadas de oxigênio
E.P.M	Erro padrão médio
GR	Geraniol
G1βCD	6-O-glicosil- β CD
G2BCD	6-O-maltosil- β CD
HEβCD	2-hidroxietyl- β -ciclodextrina
HPβCD	2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina
IL-1β	Interleucina-1beta
IL-6	interleucina 6
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
ISACHe	Inibidores de acetilcolinesterase
IV-TF	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

LATIPAT	Banco Latinoamericano de Patentes
LIO	Liofilização
MAL	Malaxagem
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Mistura física
MHB	Mueller Hinton
CIM	Concentrações inibitórias mínimas
MβCD	Metil- β -ciclodextrina
NRL	Nerolidol
OE	Oleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTZ	Pentilenotetrazol
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMβCD	Randomilmetilada-beta-ciclodextrina
ROT	Rotaevaporação
SBEβCD	Sulfobutil-éter- β CD
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Superóxido dismutase
SβCD	β CD sulfatadas
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TG	Termogravimetria
TNF-α	Fatores de Necrose Tumoral Alfa
USPTO	United States Patent and Trademark Office
UV-Vis	Espectroscopia de fluorescência e no ultravioleta e visível
WIPO	World Intellectual Property Organization
α-CD	α -ciclodextrina
$\delta\Delta$	Deslocamento químico
UFC	Unidades formadoras de colônias
H₂O₂	Peroxido de hidrogênio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
RPM	Rotação por minuto
TAβCD	2,3,6-tri-O-acetil- β CD

TEβCD	2,3,6-tri-O-etil- β CD
TMβCD	2,3,6-tri-O-metil- β -ciclodextrina
TPβCD	2,3,6-tri-O-propanoil- β CD
TVβCD	2,3,6-tri-O-valeril- β CD
DPPH•	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
AAPH	2,2'-azobis-2-amidinopropano
DHPβCD	2,3-dihidroxiopropil- β -ciclodextrina
DTNB	Ácido 5,5'-Ditiobis(2-nitrobenzóico)
DEβCD	2,6-di-O-etil- β CD
DMβCD	2,6-di-O-metil- β -ciclodextrina

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1. Produtos naturais.....	20
2.2. Pesquisa e desenvolvimento de medicamentos.....	20
2.3. Óleos essenciais.....	21
2.4. Nerolidol: Aspectos químicos e farmacologia, aplicações e limitações.....	23
2.5. Ciclodextrinas e seus complexos de inclusão.....	24
2.5.1. Metodologias de obtenção e caracterização de complexos de inclusão.....	29
2.5.2. Utilização das ciclodextrinas em formulações farmacêuticas.....	34
2.6. A doença de Alzheimer: Aspectos históricos, fisiopatológicos e farmacológicos.....	36
2.6.1 Tratamento da DA.....	38
2.6.2 Alternativas para tratamento da DA.....	39
2.7. Óleos essenciais antioxidantes e inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE).....	42
2.7.1 Radicais livres: Como são detectados, como agem e sua relação com a doença de Alzheimer.....	43
2.8. Epilepsia: Aspectos históricos, fisiopatológicos e farmacológicos.....	46
2.8.1. Incidência da Epilepsia.....	49
2.8.2. Tratamento para Epilepsia.....	50
Referências.....	51
3. OBJETIVOS	67
3.1. Geral.....	67
3.2. Especificos.....	67
4. CAPÍTULO I: Nerolidol e suas aplicações farmacológicas para tratamento de doenças neurodegenerativas: Uma revisão	68
1. Introdução.....	70
2. Materiais e métodos.....	72
3. Resultados e discussão.....	73

4. Conclusão.....	84
Referências.....	84
5. CAPÍTULO II: Obtenção e caracterização do complexo de inclusão do nerolidol com metil-beta-ciclodextrina.....	90
1. Introdução.....	92
2. Materiais e métodos.....	94
3. Resultados e discussão.....	99
4. Conclusão.....	112
Referências.....	112
6. CAPÍTULO III: Avaliação de atividades farmacológicas do nerolidol e complexo de inclusão com metil-β-ciclodextrina.....	118
1. Introdução.....	120
2. Materiais e métodos.....	123
3. Resultados e discussão.....	130
4. Conclusão.....	144
Referências.....	144
7. CAPÍTULO IV: Obtenção de uma formulação farmacêutica a partir do complexo de inclusão do nerolidol com metil-β-ciclodextrina com atividade anticolinesterásica e antioxidante.....	153
Resumo.....	154
Reivindicações.....	155
PERSPECTIVAS.....	157
REFERENCIAS.....	158
APENDICE.....	159
ANEXOS.....	161

1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são definidas como todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, constituintes químicos que podem ser utilizados como agentes terapêuticos, bem como materiais de partida para a síntese de drogas (WHO, 1998).

Desde a antiguidade, o ser humano tem buscado cura ou alívio para suas enfermidades e dores por meio de diferentes modalidades terapêuticas (SOUZA *et al.*, 2015), entre elas destaca-se a utilização da fitoterapia e os medicamentos fitoterápicos, sendo estes fundamentados nas evidências por meio do potencial farmacológico das plantas já relatadas na literatura (BARREIRO; FRAGA, 2015). As diversas atividades biológicas e potencial medicinal de produtos naturais derivados de plantas reforçam a promessa para o desenvolvimento de novas terapias contra muitas doenças (JI *et al.*, 2009).

Inúmeros fármacos que estão em uso clínico no mercado têm sido gerados a partir de produtos naturais (metabólitos secundários), ou desenvolvidos por síntese química planejada a partir destes. Frequentemente são realizadas modificações moleculares empregadas em estruturas de produtos naturais, com o objetivo de introduzir modificações nas propriedades relacionadas às fases farmacodinâmica e farmacocinética das substâncias (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

O nerolidol (3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol) é um sesquiterpeno acíclico oxigenado de cadeia insaturada e ramificada (LAPCZYNSKI *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2014), encontrado como constituinte majoritário em vários óleos essenciais e com uma variedade de propriedades farmacológicas descritas na literatura (CHANG *et al.*, 2016), entretanto, é praticamente insolúvel em água, como muitas das drogas recentemente descobertas. Levando em consideração essas dificuldades, diversos compostos passaram a ser complexados com ciclodextrinas naturais ou modificadas com objetivo de melhorar sua solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007).

Nesta perspectiva, é crescente o interesse de grupos de pesquisa pela busca de novos compostos derivados de produtos naturais com propriedades terapêuticas comprovadas.

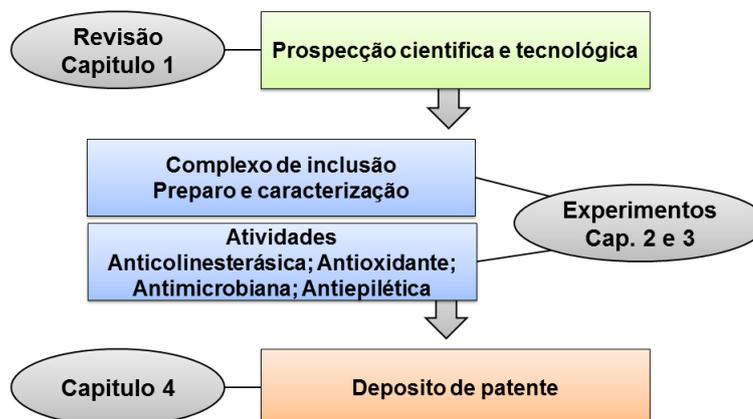
Diante do exposto, o trabalho de tese intitulado “**Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão do nerolidol com ciclodextrina e**

avaliação de propriedades farmacológicas”, foi dividido em capítulos baseados em artigos científicos submetidos em revistas de caráter internacional com o objetivo de melhor apresentar os resultados encontrados e torná-los disponíveis a outros grupos de pesquisa (Figura 1).

O primeiro capítulo apresenta uma revisão de literatura sobre o nerolidol com foco nas propriedades farmacológicas relacionadas a doenças neurodegenerativas, tais como: Alzheimer e Epilepsia, utilizando as informações disponíveis em bancos de dados científicas e tecnológicos. O segundo capítulo apresenta o estudo de obtenção, bem como a caracterização do complexo de inclusão do nerolidol com metil- β -ciclodextrina (NRL:M β CD). O capítulo três apresenta a avaliação da atividade anticolinesterásica, antibacteriana, capacidade oxidante, antioxidante e de reparo em *Saccharomyces cerevisiae* do nerolidol, bem como a atividade antiepiléptica do nerolidol e do complexo de inclusão (NRL:M β CD).

Por fim, o capítulo quatro expõe o resumo e reivindicações do depósito de pedido de patente de uma formulação farmacêutica a partir do complexo de inclusão do nerolidol com metil- β -ciclodextrina com atividade anticolinesterásica e antioxidante, submetido ao Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnológica (NINTEC) da Universidade Federal do Piauí junto ao Instituto de Propriedade Industrial com o intuito de facilitar a interação com o setor industrial por meio do estímulo do binômio Universidade-Empresa.

Figura 1. Organização do trabalho de tese.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017.