

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

AMANDA AMARAL COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FARMACOLÓGICA DE DUAS
PIRAZOLILBENZENOSULFONAMIDAS EM *Drosophila melanogaster***

**Itaqui
2016**

AMANDA AMARAL COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FARMACOLÓGICA DE DUAS
PIRAZOLILBENZENOSULFONAMIDAS EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado
Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia
da Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Ciência e Tecnologia

Orientador: Prof. Dr. Marcio Marçal Lobo

Co-orientadora: Vandrezza Cardoso
Bortolotto.

**Itaqui
2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

C837a Costa, Amanda Amaral
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FARMACOLÓGICA DE DUAS
PIRAZOLILBENZENOSULFONAMIDAS EM *Drosophila melanogaster* /
Amanda Amaral Costa.
33 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA,
2016.

"Orientação: Marcio Marçal Lobo".

1. Celecoxib. 2. Anti-inflamatórios. 3. Antioxidantes. 4.
Pirazolilbenzenosulfonamida. 5. *Drosophila melanogaster*. I.
Título.

AMANDA AMARAL COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FARMACOLÓGICA DE DUAS
PIRAZOLILBENZENOSULFONAMIDAS EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado
Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título de
Bacharel em Ciência e Tecnologia

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 30, novembro de 2016.

Banca examinadora:

Marcio Marçal Lobo

Prof. Dr. Marcio Marçal Lobo, Orientador, **UNIPAMPA – Campus Itaqui**

Vandrea Cardoso Bortolotto

Vandrea Cardoso Bortolotto, Co-orientadora, Nutricionista, Mestranda PPG
Bioquímica, **UNIPAMPA – Campus Uruguaiana**

Márcia Rósula Poetini

Márcia Rósula Poetini, Nutricionista, Mestranda PPG Bioquímica, **UNIPAMPA –
Campus Uruguaiana**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu querido orientador Prof. Dr. Marcio Marçal Lobo, por ter aceito se juntar ao desafio da elaboração deste trabalho, pelos seus valiosos ensinamentos, dedicação e contribuições para o sucesso da realização desta pesquisa. Também agradeço por sua amizade, que surgiu e ganhou força enquanto este estudo tomava forma.

Quero também agradecer as críticas prestadas ao longo do semestre, que me motivaram sempre a obter os melhores resultados.

Agradeço também a minha querida amiga e co-orientadora Vandrezza Cardoso Bortolotto, por ter aceito participar da realização do trabalho e também por suas contribuições para a execução dos experimentos em laboratório. Sou grata por ter me ensinado tudo sempre com boa vontade, além de sua disponibilidade ao prestar atendimento a todo momento.

Gostaria de manifestar minha gratidão a Marcia Rósula Poetini, que gentilmente aceitou fazer parte da banca avaliadora deste trabalho. Além disso, suas contribuições, através de correções e auxílio com os testes, foram de grande importância para que os objetivos deste estudo fossem alcançados.

Agradeço também aos meus amigos Janaíne e Dieison que sempre estiveram do meu lado, dando auxílio e suporte em todos os momentos que eu precisei, sempre estiveram pacientes me ouvindo “reclamar do tal tcc”, mas sempre me apoiaram e ajudaram, com isso cheguei até o fim.

Agradeço as grandes amizades conquistadas durante a graduação e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do analgésico e antipirético Antipirina que apresenta na sua estrutura uma pirazol. Adaptado de Santos (2010).....	11
Figura 2. Estrutura do anti-inflamatório Celecoxib. Adaptado de Pasin (2010).....	12
Figura 3. Estrutura molecular dos compostos 1a e 1b foco de estudo deste trabalho. Fonte: Lobo et al (2015)	14
Figura 4. Estabilização do radical DPPH ⁺ . Adaptado de Rufino et al (2007a)	15
Figura 5. Estabilização do radical ABTS ⁺ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio. Adaptado de SOUSA et al (2007).....	16
Figura 6. Desenho experimental deste estudo	17
Figura 7. Sobrevivência após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1a	21
Figura 8. Sobrevivência após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1b	21
Figura 9. Teste campo aberto realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1a	22
Figura 10. Teste campo aberto realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1b	23
Figura 11. Teste de geotaxia negativa realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1a	24
Figura 12. Teste de geotaxia negativa realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto 1b	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Testes ABTS ⁺ e DPPH ⁺ para o composto 1a	18
Tabela 2. Testes ABTS ⁺ e DPPH ⁺ para o composto 1b	19

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA	14
2.1. Avaliação <i>in vitro</i>	14
2.1.1. Método DPPH ⁺	14
2.1.2. Método ABTS ⁺	15
2.2. Meio de cultura e estoque de <i>Drosophila melanogaster</i>	16
2.3. Protocolo experimental.....	16
2.4. Ensaio <i>in vivo</i>	17
2.4.1. Sobrevivência.....	17
2.4.2. Teste campo aberto.....	17
2.4.3. Teste geotaxia negativa.....	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
3.1. Ensaio de atividade antioxidante.....	18
3.2. Sobrevivência.....	20
3.3. Teste campo aberto.....	22
3.4. Teste geotaxia negativa.....	23
4 CONCLUSÃO	25
5 REFERÊNCIAS	26
6 Anexos	30
6.1 Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade - Diretrizes para autores	30
Diretrizes para Autores.....	30
Condições para submissão.....	32
Política de Privacidade.....	33

Avaliação da atividade antioxidante e farmacológica de duas pirazolilbenzeno-sulfonamidas em *Drosophila melanogaster*

Amanda Amaral Costa

**Graduanda em Bacharelado Interdisciplinar em
Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do
Pampa – Itaqui, Rio Grande do Sul**

Resumo

Os medicamentos são cada vez mais eficazes e abundantes, podendo-se destacar os derivados pirazolínicos, que possuem ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética. Também se destacam os antioxidantes, inibidores de radicais livres. Os compostos 4-(5-hidróxi-3-(4-metoxifenil)-5-(trifluormetil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-il)benzenosulfona-mida (**1a**) e 4-(4-metoxifenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)benzenosulfonamida (**1b**), são análogos a pirazolilbenzenosulfonamida (Celecoxib), e foram testados neste trabalho, que objetivou a análise de resultados *in vitro* e *in vivo* dos compostos **1a** e **1b** e suas atividades antioxidante e farmacológica em *Drosophila melanogaster*. Foram realizados testes *in vivo* e *in vitro*. Os testes *in vitro* foram o *scavenging* do DPPH⁺ e ABTS⁺. Os testes *in vivo* foram: sobrevivência, campo aberto e geotaxia negativa, para moscas que receberam diferentes concentrações dos compostos **1a** e **1b**, observadas após 24 e 48 horas. O composto **1a** apresentou atividade antioxidante somente no teste ABTS⁺. Não houve atividade antioxidante para o composto **1b** nos testes *in vitro*. Foi observada maior sobrevivência para moscas que receberam 1 µM do composto **1a**. Para o composto **1b** houve maior sobrevivência na concentração de 10 µM. Para o teste de campo aberto houve melhor comportamento locomotor, após 24 horas, para moscas que tratadas com 10 µM e após 48 horas para moscas tratadas com 10 e 50 µM do composto **1a**. Para o composto **1b** se destacou a concentração de 1 µM após 24 horas e 10 µM após 48 horas. Com relação a geotaxia negativa, se sobressaíram as concentrações de 1 e 50 µM após 24 horas e 25 µM após 48 horas para o composto **1a**. Para o composto **1b** foram detectados níveis melhores que o controle em todos os casos, tanto após 24 horas quanto 48 horas. Este estudo permitiu identificar características da ação dos compostos **1a** e **1b** em moscas *Drosophila melanogaster*. Destaca-se a relevância de mais estudos sobre os compostos **1a** e **1b**.

Palavras-chave: Celecoxib. Anti-inflamatórios. Antioxidantes. Pirazolilbenzenosulfonamida. *Drosophila melanogaster*.

Evaluation of antioxidant and toxicological activity of two pyrazolylbenzenesulfonamides in *Drosophila melanogaster*

Abstract

Medicines are increasingly effective and abundant, being possible to highlight the pyrazoline derivatives, which have analgesic, anti-inflammatory and antipyretic action. Also highlighted are antioxidants, free radical inhibitors. The compounds 4- (5-hydroxy-3- (4-methoxyphenyl) -5- (trifluoromethyl) -4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) benzenesulfonamide (**1a**) and 4- (4-methoxyphenyl -5-trifluoromethyl-1H-pyrazol-1-yl) benzenesulfonamide (**1b**), are analogous to pyrazolylbenzenesulfonamide (Celecoxib), and were tested in this work, aiming the analysis of in vitro and in vivo results of compounds **1a** and **1b** and antioxidant and pharmacological activities in *Drosophila melanogaster*. In vivo and in vitro tests were performed. The in vitro tests were the scavenging of DPPH⁺ and ABTS⁺. In vivo tests were: survival, open field and negative geotaxis for flies receiving different concentrations of compounds **1a** and **1b**, observed after 24 and 48 hours. Compound **1a** showed antioxidant activity only in the ABTS⁺ test. There was no antioxidant activity for compound **1b** in the in vitro tests. Higher survival was observed for flies that received 1 µM of compound **1a**. For compound **1b** there was greater survival at the concentration of 10 µM. For the open field test there was better locomotor behavior after 24 hours for flies treated with 10 µM and after 48 hours for flies treated with 10 and 50 µM of compound **1a**. For compound **1b** the 1 µM concentration was highlighted after 24 hours and 10 µM after 48 hours. To negative geotaxis, the concentrations of 1 and 50 µM were stressed after 24 hours and 25 µM after 48 hours for compound **1a**. For compound **1b**, better levels were detected than the control in all cases, both after 24 hours and 48 hours. This study allowed to identify characteristics of the action of compounds **1a** and **1b** in *Drosophila melanogaster* flies. We highlight the relevance of further studies on compounds 1a and 1b.

Keywords: Celecoxib. Anti-inflammatory. Antioxidants. Pyrazolylbenzenesulfonamide. *Drosophila melanogaster*.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se ampliado a abrangência de medicamentos, de modo que hoje, há produtos para quase todas as enfermidades, de forma que os medicamentos estão cada vez mais seguros e eficazes, contribuindo para aumentar a expectativa e qualidade de vida, segundo Oliveira et al. (2006).

Uma das famílias de substâncias mais utilizadas para atenuação da sensação de dor, além de febre, é a dos derivados pirazolínicos. Conforme Sauzem (2004), os compostos pirazolínicos têm sua origem em 1884, descobertos por Ludwig Knorr, obtendo a antipirina. A antipirina, apresentada na figura 1, é uma pirazolona com atividade analgésica, antipirética e antirreumática, porém com elevada toxicidade (PASIN, 2010). Com isso, a busca por novos compostos, igualmente ou superiores em eficácia, e que sejam menos tóxicos, é um constante desafio para as pesquisas nesta área medicinal.

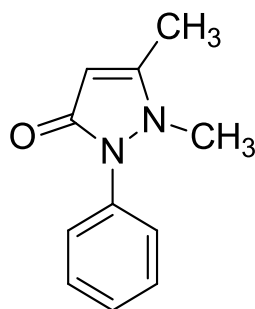


Figura 1. Fórmula estrutural do analgésico e antipirético Antipirina que apresenta na sua estrutura uma pirazol. Adaptado de Santos (2010).

A análise em cobaias como ratos, como nos trabalhos realizados por Sauzem (2004) e Pasin (2010) demonstraram a ação antinociceptiva de alguns pirazóis sem a alteração de atividades motoras, mostrando-se também como compostos com atividades antipiréticas e anti-inflamatórias promissoras.

Os derivados pirazolínicos, em sua maioria, são drogas de origem sintética e que possuem um anel heterocíclico de 5 membros da classe dos azóis, formado por 3 átomos de carbono e 2 átomos de nitrogênio, que se encontram nas posições 1 e 2, conforme Pasin (2010). Estudos têm mostrado que diversos compostos desta classe apresentam diversas aplicações biológicas, sendo as mais comuns a atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética, como o Celecoxib, apresentado

na figura 2, que é uma pirazolilbenzenosulfonamida, que possui ação farmacológica potente e seletiva, atuando como medicamento anti-inflamatório, sendo este prescrito para pacientes portadores de artrite crônica (PASIN, 2010).

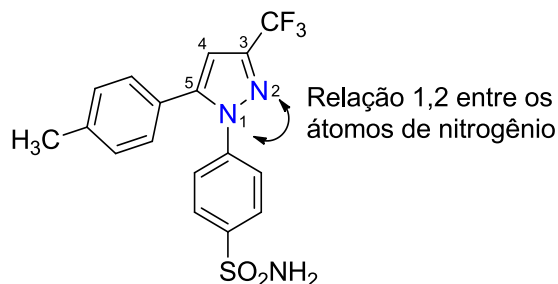


Figura 2. Estrutura do anti-inflamatório Celecoxib. Adaptado de Pasin (2010).

O Celecoxib atua como inibidor potente e seletivo da enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2) que é a enzima diretamente responsável pelo desencadeamento dos processos inflamatórios. Além da atividade anti-inflamatória, o Celecoxib vem apresentando outros tipos de interação biológica. Eufrásio et. al (2011) demonstraram a ação do Celecoxib na prevenção do surgimento e desenvolvimento de tumores em ratos Wistar, além de também identificarem uma melhoria na proteção antioxidante sérica observada nestes animais.

As substâncias antioxidantes, conforme Silva (2010), podem ser enzimas, minerais, alimentos, vitaminas, além de substâncias sintéticas, dentre elas os pirazóis, que são parte de um conjunto de substâncias, sintéticas, com propriedades antioxidantes. Além disso, um dos campos de pesquisa ligados à saúde, além dos medicamentos, é o dos compostos antioxidantes.

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por diversas moléculas naturais presentes nos alimentos, sendo que as principais são os isômeros da vitamina E (tocoferol), os carotenoides e a vitamina C (ácido ascórbico), segundo Silva (2016). Estes possuem a capacidade de atrasar ou inibir o efeito danoso dos radicais livres, ocorrendo naturalmente durante ações catalíticas de enzimas, no metabolismo celular ou pela exposição a fatores exógenos (BARREIROS et al., 2006; BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Os radicais livres têm sido considerado nos últimos anos como grandes causadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes *mellitus* tipo I (SOUSA et al., 2007).

Um dos meios de atenuar a ação dos radicais livres é através da utilização de compostos com ação antioxidante. Estes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (ATOUI et. al., 2005). Bianchi & Antunes (1999) destacaram que, muitas vezes, os próprios medicamentos aumentam a geração intracelular desses radicais. Dessa forma, o desenvolvimento de compostos menos agressivos é importante para a produção de medicamentos com menor intensidade de efeitos colaterais.

Para a determinação da atividade antioxidante podem ser adotados métodos *in vitro* e *in vivo*. Dentre os representantes do método *in vitro* pode-se destacar o método do DPPH⁺ (RUFINO et al., 2007a) e ABTS⁺ (RUFINO et al., 2007b). Também podem ser realizados testes *in vivo*, como o descrito no trabalho de Oliveira et. al. (2014), que estudou a capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico da *Copernicia prunifera*. Além dos testes *in vitro* e *in vivo*, também são importantes os testes toxicológicos, tendo em vista a preservação da integridade da saúde daqueles que utilizarão compostos diversos, assegurando que apesar da ação eficaz, novos compostos não tenham ação nociva para a saúde.

Animais invertebrados, como a mosca *Drosophila melanogaster*, conhecida como mosca da fruta, têm sido um modelo de estudo eficiente e amplamente explorados como uma poderosa ferramenta genética para a compreensão de problemas biológicos complexos, muitas propriedades de base fisiológica e neurológica são conservadas entre vertebrados e invertebrados, sendo que a *Drosophila melanogaster* é um modelo animal que apresenta quase 75% dos genes causadores de doenças humanas e possuem homólogos funcionais (ARAUJO et al., 2015; PANDEY & NICHOLS, 2011).

A 4-(5-hidróxi-3-(4-metoxifenil)-5-(trifluormetil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-il) benzenosulfonamida (**1a**) e a 4-(4-metoxifenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)benzenosulfonamida (**1b**), apresentados na figura 3, são compostos análogos ao anti-inflamatório Celecoxib, que contém o núcleo pirazolínico em sua estrutura e foram descritas por Lobo et al (2015). Ao serem testados em modelo de dor artrítico em roedores, induzidos por adjuvante de Freund Completo (CFA), apresentaram atividade anti-inflamatória e antinociceptiva *in vivo*, segundo Lobo et al (2015)

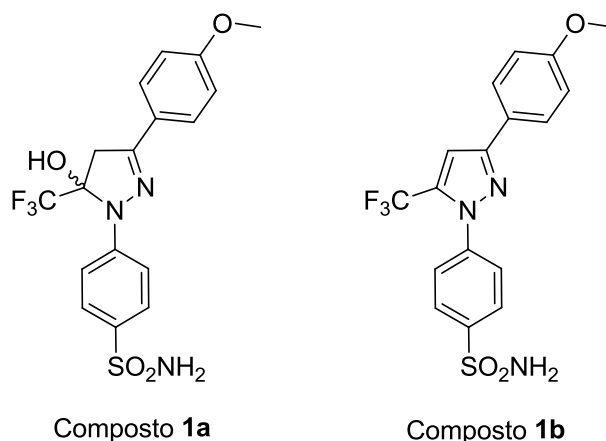


Figura 3. Estrutura molecular dos compostos **1a** e **1b** foco de estudo deste trabalho. Fonte: Lobo et al (2015)

Os compostos **1a** e **1b** foram publicados em 2015 e apresentaram atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em camundongos machos, (LOBO et al., 2015) porém outros modelos de estudos biológicos não foram localizados na etapa de pesquisa bibliográfica deste trabalho. A partir disto é necessário discernir a atividade toxicológica e antioxidante destes compostos.

Considerando as propriedades bioquímicas das substâncias pirazolínicas, este trabalho objetivou a análise de resultados *in vitro* e *in vivo* utilizando os compostos **1a** e **1b** acima apresentados, para avaliação de suas atividades antioxidante e farmacológica em *Drosophila melanogaster*.

2 METODOLOGIA

2.1. Avaliação *in vitro*

2.1.1. Método DPPH⁺

Para a verificação da capacidade antioxidante foi utilizado o método *scavenging* do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH⁺), descrito por Sharma et al. (2009), e representado na figura 4. Inicialmente foi preparada uma solução estoque de DPPH a 5,05 mM, que foi deixada durante um dia no gelo e no escuro. No dia seguinte, esta solução estoque foi diluída para 50 μM e então utilizada no mesmo momento. Posteriormente, em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL da solução DPPH⁺ preparada e 10 μL dos compostos **1a** e **1b**, que foram preparados sob

concentrações de 1 μM , 10 μM , 25 μM , 50 μM , 100 μM $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Assim, a reação de diferentes concentrações de compostos **1a** e **1b** foram testadas para uma mesma concentração de DPPH^{\cdot} .

O potencial de inibição foi medido em espectrofotômetro, utilizando decréscimo da absorvância ($\lambda = 517 \text{ nm}$) após 30 minutos de incubação, em ambiente escuro e em temperatura ambiente. Os ensaios foram realizados em triplicata e utilizando Ácido Ascórbico (Vitamina C, AA) como controle positivo e os valores foram expressos em porcentagem de controle.

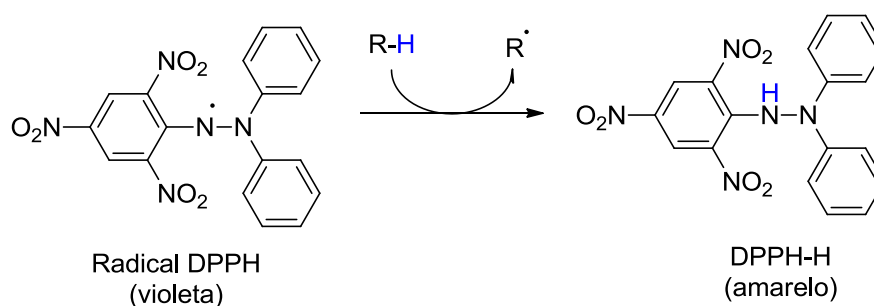


Figura 4. Estabilização do radical DPPH^{\cdot} . Adaptado de Rufino et al (2007a)

2.1.2. Método ABTS⁺

Para a verificação da capacidade antioxidante também foi utilizado o método *scavenging* do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), descrito por Rea et al. (1999), e representado na figura 5.

Inicialmente foi preparada uma solução $\text{ABTS}^{\cdot+}$ a uma concentração de 7 mM. A mesma foi deixada no escuro e em refrigerador por 24 horas. No dia seguinte, esta solução foi diluída para 42,77 μM e então utilizada no mesmo momento. Em tubos de ensaio foi adicionado 1mL da solução juntamente com 10 μL dos compostos **1a** e **1b**, que estavam sob as concentrações de 1 μM , 10 μM , 25 μM , 50 μM , 100 μM , $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos compostos, obtendo um volume final de 1010 μL em cada tubo.

O potencial de inibição foi medido espectrofotometricamente pelo decréscimo da absorvância ($\lambda = 734 \text{ nm}$) após 30 minutos de incubação, no escuro e em banho-maria a 37° C. Os ensaios foram realizados em triplicata e utilizando Ácido Ascórbico (Vitamina C, AA) como controle positivo. Os resultados foram expressos em porcentagem do controle.

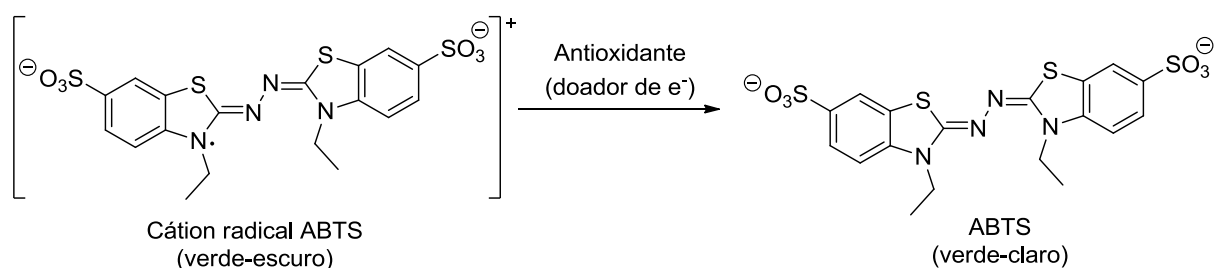


Figura 5. Estabilização do radical ABTS^+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio. Adaptado de SOUSA et al (2007).

2.2. Meio de cultura e estoque de *Drosophila melanogaster*

A espécie *Drosophila melanogaster* (estirpe Harwich) foi obtida do Centro Nacional (Bowling Green, Ohio, EUA). As moscas foram mantidas em estufa BOD com temperatura controlada a 25 °C e 60% de umidade, submetidas a 12 horas de ciclo claro/escuro e alimentadas com dieta padrão, composta por farinha de milho média, farinha de milho grossa, sal, açúcar e leite em pó.

2.3. Protocolo experimental

As *Drosophila melanogaster* (ambos os sexos) com um máximo de 3 dias de idade foram divididas em cinco grupos de 30 moscas cada um, sendo os grupos: (1) controle, sendo este o sacarose 1% + DMSO, (2) 1 μM , (3) 10 μM , (4) 25 μM e (5) 50 μM dos compostos **1a** e **1b**, estes foram diluídos primeiramente em dimetilsulfóxido (DMSO) e depois foi acrescentado solução aquosa de sacarose 1% para servir de alimentação para as moscas, exceto no controle, que foram somente utilizados 10 μL de DMSO acrescido de 990 μL de sacarose. A solução resultante foi adicionada em papel de filtro, sendo após esta etapa colocado 30 moscas em cada frasco, e estas observadas durante 48 horas de acordo com os respectivos grupos (Figura 6).

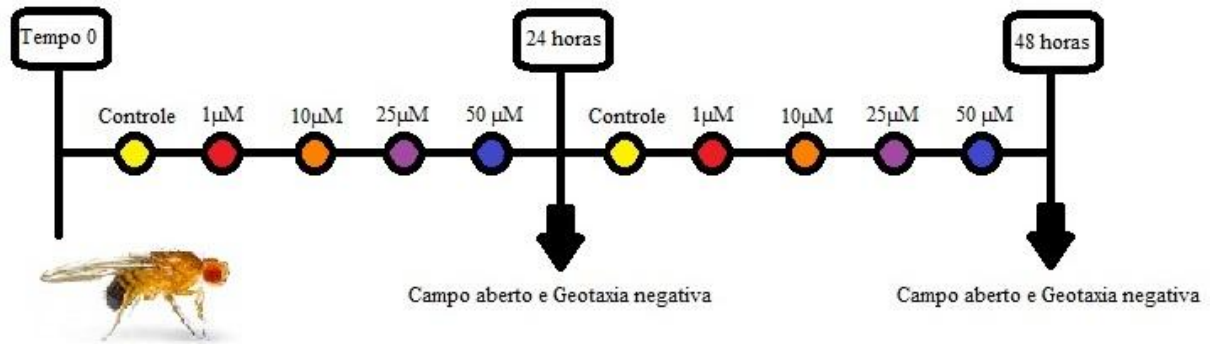


Figura 6. Desenho experimental deste estudo

2.4. Ensaios *in vivo*

2.4.1. Sobrevivência

A taxa de sobrevivência das *Drosophila melanogaster* foi avaliada por uma contagem diária da quantidade do número de moscas vivas até ao final do período experimental (48 horas). Aproximadamente 90 moscas por grupo foram incluídas nos dados de sobrevivência e o número total de moscas representou a soma dos três experimentos independentes (30 moscas por cada tratamento).

2.4.2. Teste campo aberto

Para avaliar o comportamento e atividade exploratória de cada mosca, se utilizaram dez moscas de cada grupo e estas foram mantidas em placas de Petri individuais, divididas em quadrantes de um centímetro quadrado, cobertos por outra placa de Petri, conforme descrito por Hirth (2010). Foi feito o registro e avaliação das atividades de movimento das moscas, onde a trajetória realizada por cada mosca resultante para o tempo de 60 segundos foi calculada de acordo com o número de quadrantes explorados por cada mosca analisadas e µm cada grupo. Foram realizados três experimentos independentes (30 moscas por cada grupo de tratamento).

2.4.3. Teste geotaxia negativa

O ensaio do teste de geotaxia negativa das moscas seguiu a descrição realizada no trabalho de Jimenez Del-Rio et al. (2010), registrando o tempo gasto

por cada mosca para atingir uma altura de 8 cm, medido a partir do fundo de um tubo de ensaio de vidro com um diâmetro de 1,5 cm. O teste foi repetido cinco vezes para cada mosca e dez moscas foram separadas a partir de cada grupo a ser avaliada, onde os dados foram analisados de acordo com o tempo médio de cada mosca, e a média de todas as moscas de cada grupo. Foram realizados três experimentos independentes (30 moscas por cada grupo de tratamento).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Ensaio de atividade antioxidante

A ação antioxidante pode ser desempenhada naturalmente por compostos presentes em alimentos, conforme constatados pelo trabalho de Silva (2016), que analisou a capacidade antioxidante do mirtilo, acerola, uva-roxa e uva-rosa, ou pela ação de substâncias sintéticas diversas.

Para a determinação da atividade antioxidante, os compostos **1a** e **1b** foram submetidos aos testes de *scavenging*, ou seja, captura, dos radicais DPPH⁺ e ABTS⁺. Inicialmente, testou-se o composto **1a** para os testes do DPPH⁺ e ABTS⁺. Posteriormente, os mesmos testes foram realizados para o composto **1b**. O teste da atividade antioxidante pelo método do DPPH⁺, conforme Rufino et. al. (2007a), é baseado na captura do radical DPPH⁺ por antioxidantes e demonstra o potencial antioxidante de uma substância, tendo como parâmetro de referência a atividade antioxidante do ácido ascórbico. O teste do DPPH⁺ apresentou valores nulos para os parâmetros concentração efetiva em 50% (EC₅₀) e efeito máximo. No entanto, quando realizado o teste ABTS⁺, descrito por Rufino et al. (2007b), para o composto **1a** foram observados os valores relacionados na tabela 1.

Tabela 1. Testes ABTS⁺ e DPPH⁺ para o composto **1a**

	1a		Ácido ascórbico (AA)	
	EC ₅₀ (μM)	Efeito Máximo (%)	EC ₅₀ (μM)	Efeito Máximo (%)
Atividade <i>scavenging</i> ABTS⁺	21±10,44	80,4±18,77	22,6±8,3	77,8±28,39
Atividade <i>scavenging</i> DPPH⁺	0±0*	0±0**	13,67±0,57	96±0

* Diferente da EC₅₀ do ácido ascórbico

** Diferente do Efeito Máximo do ácido ascórbico

O valor EC₅₀, descrito por Luzia (2008), refere-se à concentração de um extrato suficiente para atingir 50% da atividade antioxidante máxima, que é obtida

por regressão linear. Foi necessário a concentração de 21 μM do composto **1a** para se obter a EC_{50} , com atividade máxima de oxidação de 80,4% do substrato ABTS^+ . No entanto, não houve consumo para o método do DPPH^+ . O ácido ascórbico, conhecido por sua ação antioxidante, como destacado por Silva (2016), foi utilizado como parâmetro de referência da ação antioxidante.

Não foi detectada a captura de radicais para o composto **1a** no teste do DPPH^+ . No entanto, houve reação para o teste do ABTS^+ . Como o composto **1a** tem uma estrutura análoga ao medicamento Celecoxib, pode-se comparar com os resultados obtidos para o composto **1a**, com o trabalho de Pereira (2009), que aponta os efeitos do Celecoxib, em ensaios com o radical DPPH^+ , nos quais não foi detectada atividade antioxidante para o referido medicamento.

Os testes do DPPH^+ e ABTS^+ não apresentaram reação para o composto **1b**, como descrito na tabela 2.

Tabela 2. Testes ABTS^+ e DPPH^+ para o composto **1b**

	1b		Ácido ascórbico (AA)	
	$\text{EC}_{50}(\mu\text{M})$	Efeito Máximo (%)	$\text{EC}_{50}(\mu\text{M})$	Efeito Máximo (%)
Atividade <i>scavenging</i> ABTS^+	$0 \pm 0^*$	$0 \pm 0^{**}$	$19,33 \pm 8,08$	$97,67 \pm 1,53$
Atividade <i>scavenging</i> DPPH^+	$0 \pm 0^*$	$0 \pm 0^{**}$	$15,67 \pm 1,53$	$91 \pm 9,54$

* Diferente da EC_{50} do ácido ascórbico

** Diferente do Efeito Máximo do ácido ascórbico

Partindo dos resultados obtidos para o controle (AA) e comparando com os valores nulos obtidos em ambos os testes, DPPH^+ e ABTS^+ , foi constatado que o composto **1b** não apresentou atividade antioxidante em nenhum dos testes realizados. Os testes demonstraram a hipótese deste composto não ser antioxidante, uma vez que foram realizados dois testes (DPPH^+ e ABTS^+) para avaliar sua capacidade antioxidante e nenhum apresentou resultados diferentes de zero.

A reação do composto **1a** com o ABTS^+ pode ser justificada pelo fato de que, conforme Roginsky e Lissi (2005), este reage com qualquer composto hidroxilado, independentemente da sua capacidade antioxidante. De forma semelhante Pereira (2009), destaca a reação de compostos hidroxilados com o ABTS^+ , ainda que estes não tenham de fato capacidade antioxidante. Com isso, a não reação do composto

1b com nenhum dos testes pode ser associado a ausência de atividade antioxidante devido ausência de hidroxila na estrutura do composto **1b**.

3.2. Sobrevivência

A realização dos testes permitiu verificar uma predominância da sobrevivência das moscas em solução de (1) controle, (2) 1 μM , (3) 10 μM , (4) 25 μM e (5) 50 μM dos compostos **1a** e **1b**. Convém ressaltar que a concentração mais aproximada do composto **1a** para o controle em sua forma usual, é de 1 μM . Na figura 7, é possível observar que não houve diferença significativa entre as doses utilizadas, porém houve uma tendência de maior longevidade para as moscas que receberam a concentração de 1 μM , após 24 horas, sendo esta prevalência mantida após 48 horas de experimento. Comparando-se as demais concentrações, todas demonstraram praticamente o mesmo índice de sobrevivência, se sobressaindo então apenas a concentração de 1 μM em ambos os dias.

Considerando a sobrevida detectada em níveis maiores que o controle apenas para a concentração de 1 μM , é possível inferir esta concentração como a mais adequada para sua utilização em medicamentos, considerando-se sua maior eficácia. A sobrevivência mais acentuada para a concentração de 1 μM apresenta similaridade com os resultados encontrados por Prado (2014) e também por Pereira (2009), ambos trabalhos constatando que a dose mais adequada foi de 1 mg/Kg para os tratamentos com Celecoxib, análogo aos compostos **1a** e **1b**. Convém destacar que a utilização de maiores concentrações não implicou em maior sobrevivência.

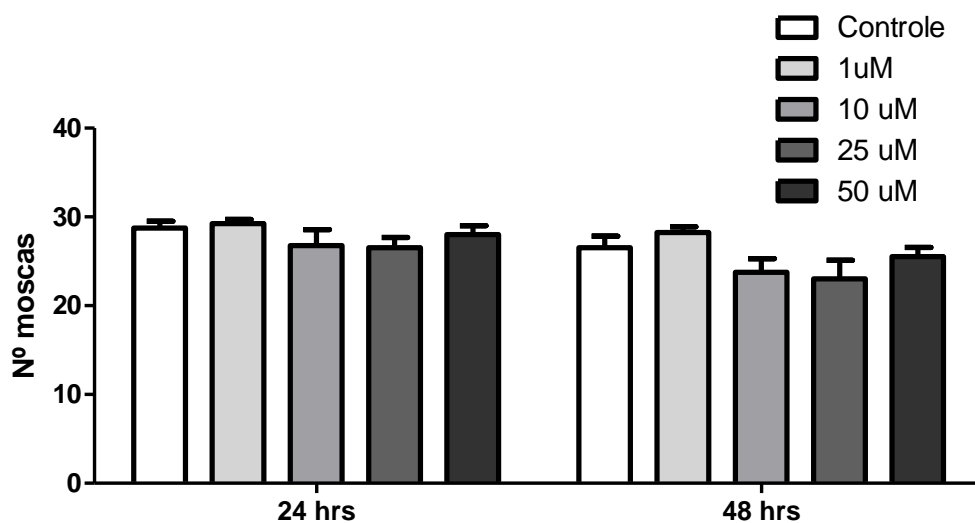


Figura 7. Sobrevivência após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1a**.

Com relação ao composto um **1b** (figura 8), para o mesmo teste realizado, também não se obteve diferença significativa nas doses utilizadas. O grupo de moscas expostos ao composto **1b** com o controle e concentrações de 1 μ M, 10 μ M, 25 μ M e 50 μ M, apresentou uma tendência a maior sobrevivência para as concentrações de 10 μ M, para os períodos de 24 e 48 horas.

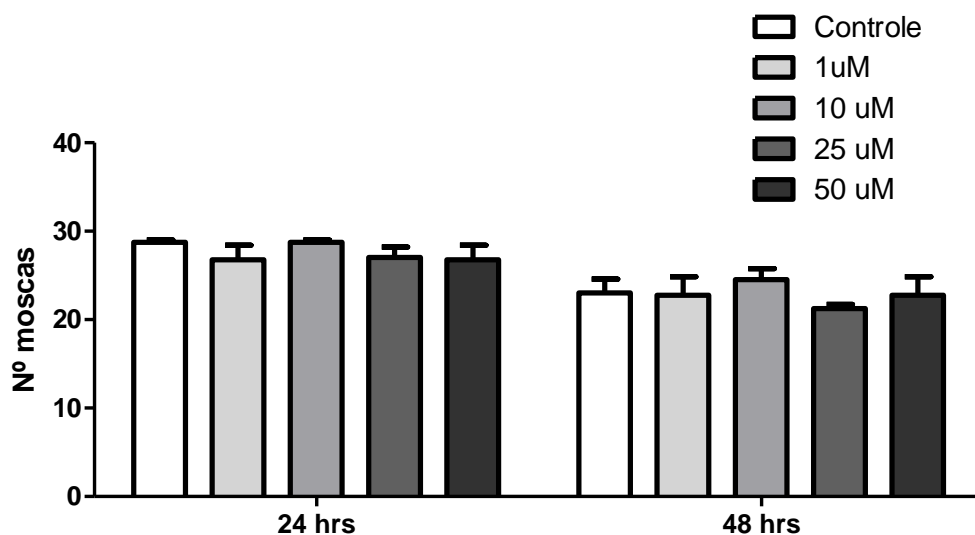


Figura 8. Sobrevivência após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1b**.

Com relação a efeitos nocivos, não foram observados indícios de redução na sobrevida, uma vez que os valores foram bastante próximos em todos os casos. Estas considerações corroboram com o trabalho realizado por Prado (2014), que

constatou que no tratamento com Celecoxib em ratos com infecção pulmonar induzida não alterou a sobrevivência dos animais infectados.

3.3. Teste campo aberto

Para o experimento campo aberto, realizado com o intuito de verificar os efeitos dos compostos **1a** e **1b** na integridade física das moscas, presumidas a partir de seu comportamento locomotor, Prut e Belzung (2003) ressaltam que o teste campo aberto não apenas mensura os padrões de ansiedade como também de sedação ou atividade causados por drogas em cobaias. Desta forma, a atividade das moscas no teste campo aberto permitiu inferir a ação dos compostos testados.

Com relação ao teste campo aberto (figura 9) para o composto **1a**, após 24 horas, o grupo de moscas que apresentou comportamento locomotor mais próximo das condições ideais, pressupostas para o grupo controle, foi o que recebeu 10 μM . Após 48 horas, as moscas tratadas com o composto **1a** apresentaram comportamento locomotor superior ao controle para as concentrações de 10 μM e 50 μM , esta última, de forma mais expressiva, porém sem diferença significativa.

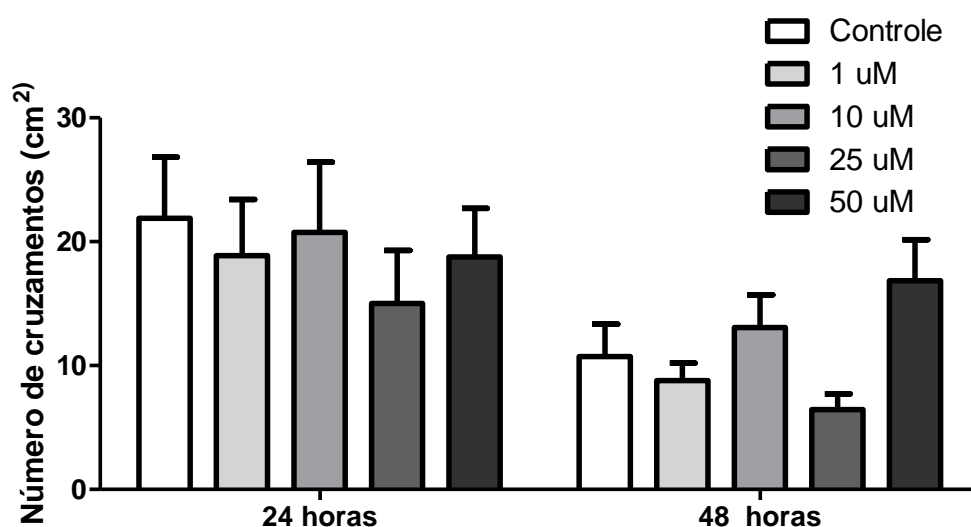


Figura 9. Teste campo aberto realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1a**.

Com o mesmo teste, realizado para o composto **1b** (figura 10), houve considerável mudança no padrão de reações, porém não houve diferença significativa. As moscas expostas ao composto de concentração 1 μM apresentaram

uma tendência de maior atividade no teste das 24 horas. Entretanto, após as 48 horas se sobressaiu o grupo de moscas tratadas com o composto na concentração de 10 μM .

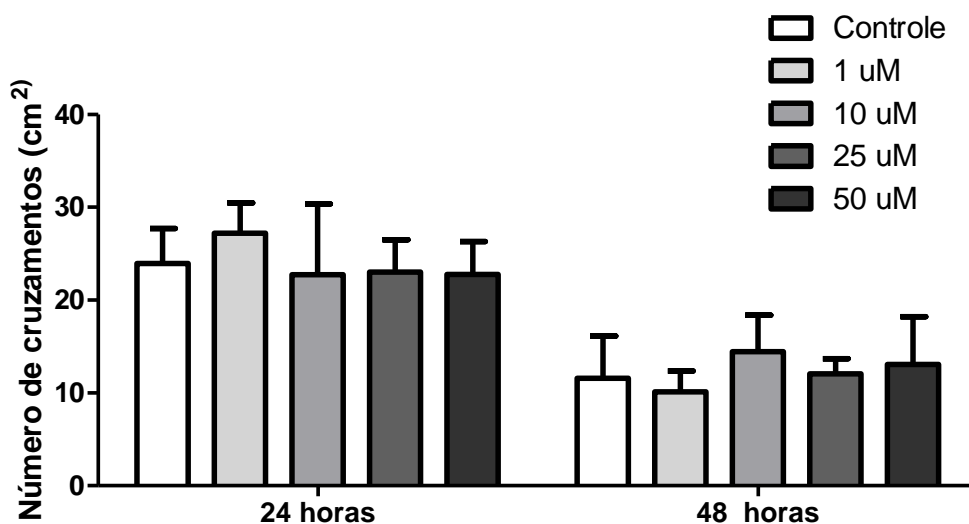


Figura 10. Teste campo aberto realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1b**.

3.4. Teste geotaxia negativa

A geotaxia negativa, segundo Gargano et al. (2005), é uma habilidade inata, em condições físicas normais, em que as moscas voam em direção à parte superior de uma parede, orientando-se pela ação da gravidade, ocorrendo este fenômeno principalmente após o estímulo mecânico, como a agitação dos tubos Falcon utilizados nos experimentos.

Para o teste da geotaxia negativa para o composto **1a** (figura 11), não houve diferença significativa entre os grupos, ambos apresentando tendências semelhantes. Ainda assim, foram observados valores que se sobressaíram no teste de 24 horas, a concentração de 1 μM e 50 μM . No teste de 48 horas, o melhor resultado observado foi para as moscas expostas ao tratamento com o composto **1a** de 25 μM . Os resultados indicam uma ação benéfica do composto.

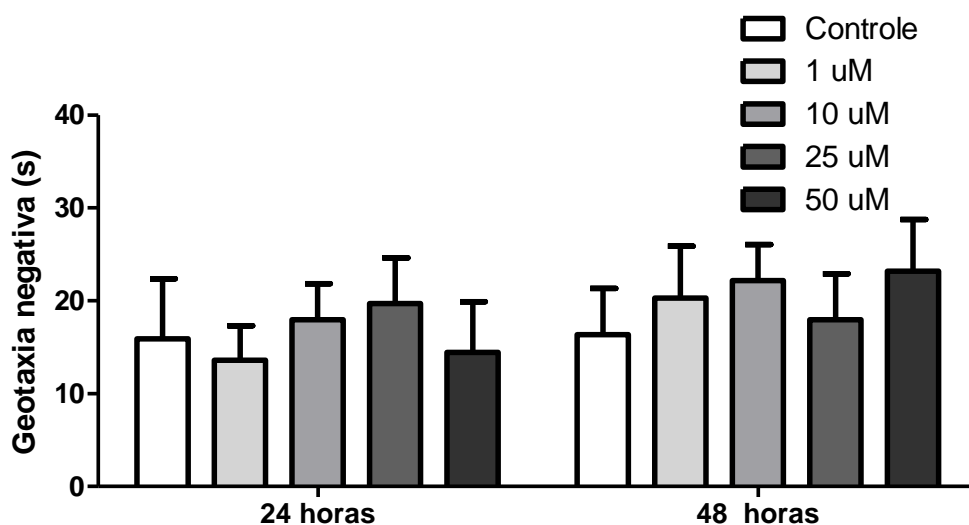


Figura 11. Teste de geotaxia negativa realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1a**.

O teste da geotaxia negativa quando realizado para o composto **1b** (figura 12) também não obteve diferença significativa entre os grupos, apresentando resultados melhores que os obtidos para o grupo controle em todas as concentrações, devido o tempo de subida no tubo Falcon ser menor que o do grupo controle, tanto para a observação realizada após 24 horas quanto para 48 horas, diferindo assim dos comportamentos identificados para o composto **1a**, possivelmente devido a ausência da hidroxila no composto **1b**.

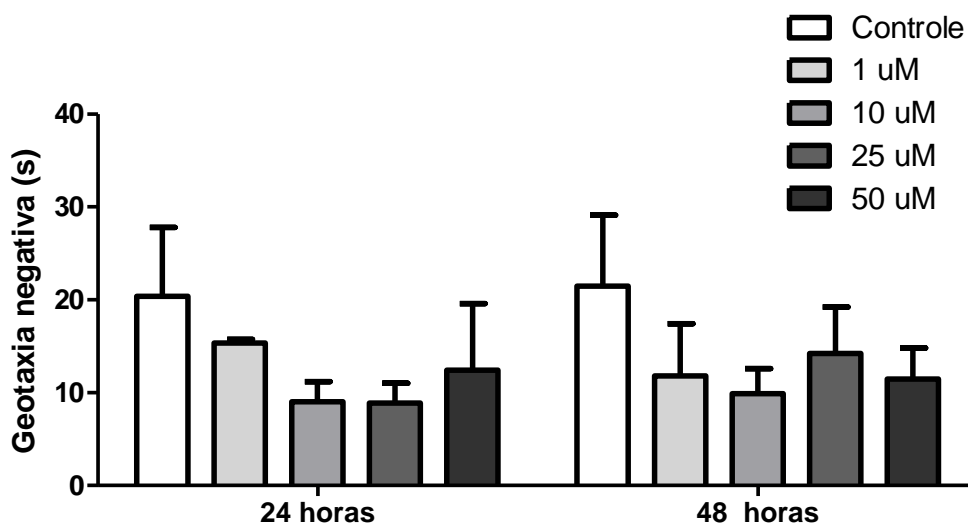


Figura 12. Teste de geotaxia negativa realizado após 24 e 48 horas para moscas tratadas com o composto **1b**.

4 CONCLUSÃO

Com o estudo pode-se concluir que o composto **1a** possui atividade antioxidante pelo teste *in vitro* ABTS+ e também apresentou resultados positivos em todos os testes *in vivo* em *Drosophila melanogaster* para 48h de tratamento. Já o composto **1b** não apresentou atividade antioxidante em nenhum dos testes *in vitro* e obteve resultados inferiores nos testes *in vivo* em comparação com o composto **1a**. Ressalta-se a importância da realização de novos estudos, mais detalhados e a longo prazo a fim de aprimorar os resultados obtidos neste trabalho.

5 REFERÊNCIAS

ARAUJO, S. M.; PAULA, M. T.; POETINI, M. R.; MEICHTRY, L.; BORTOLOTTO V. C.; ZARZECKI, M. S.; JESSE, C.R.; PRIGOL. M. Effectiveness of γ -oryzanol in reducing neuromotor deficits, dopamine depletion and oxidative stress in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease induced by rotenone. **Neurotoxicology**, v. 51, p. 96-105, 2015.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chem.**, v. 89, p. 27-36, 2005.

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p.113-123, ago. 2006.

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

EUFRÁSIO, P.; PARADA, B.; NUNES, P.; REIS, F.; CAMPOS, L.; CUNHA, F. X.; FIGUEIREDO, A.; MOTA, A. Efeito preventivo do Celecoxib na carcinogênese vesical num modelo experimental de rato. **Apurologia.pt**, Lisboa, ago. 2011. Disponível em: < <http://apurologia.pt/acta/3-2011/celecoxib.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2016.

GARGANO, J. W.; MARTIN, I.; BHANDARI, P.; GROTEWIEL, M. S. Rapid iterative negative geotaxis (RING): a new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*. **Experimental Gerontology**, v. 40, p. 386-395, 2005.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS Neurol. Disord. Drug Targets** v.9, n. 4, p. 504–523. Ago. 2010

JIMENEZ DEL-RIO, M.; MARTINEZ, C.; PARDO, C.V. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. **Neurochem. Res.** v35, p; 227–238. Ago. 2010.

LOBO, M. M.; OLIVEIRA, S. M.; BRUSCO, I.; MACHADO, P. TRIMMERS, L. F. S. M.; SOUZA, O. N.; MARTINS, M. A. P.; BONACORSO, H. G.; SANTOS, J. M.; CANOVA, B.; SILVA, T. V. F; ZANATTA, N. Regioselectively controlled synthesis of 3(5)-(trifluoromethyl) pyrazolylbenzene sulfonamide s and their effects on a pathological pain model in mice. **European Journal of Medicinal Chemistry** v.102, p. 143-152, 2015.

Luzia, D. M. M. **Estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de extrato de sementes de limão (*Citrus limon*)**. São José do Rio Preto, SP: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2008. Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2008.

OLIVEIRA, E. A.; LABRA, M. E.; BERMUDEZ, J. A produção pública de medicamentos no Brasil: uma visão geral. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2379-2389, nov. 2006.

OLIVEIRA, G. L. S. et al. Avaliação da capacidade antioxidante in vitro e in vivo do extrato etanólico de *Copernicia prunifera* (Mill.) H. E. Moore. *Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 35, n. 2, p. 291-298, 2014.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological reviews**, v. 63, n. 2, p. 411-436, 2011.

PASIN, J. S. M. **Atividade antipirética e antiinflamatória de derivados de 5-trifluormetil-4,5-diidro-1H-1-carboxiamida pirazol em ratos**. Porto Alegre, RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em ciências biológicas: bioquímica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

PEREIRA, P. A. T. **Papel das prostaglandinas na infecção experimental por *Histoplasma capsulatum***. Ribeirão Preto, SP: Universidade de São Paulo, 2009. Dissertação de mestrado apresentada para a obtenção do título de mestre na Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada. Universidade de São Paulo. 2009.

PRADO, M. K. B. Avaliação das prostaglandinas e leucotrienos na infecção pulmonar induzida por *Achromobacter xylosoxidans*. 2014. **Dissertação** (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v. 463, p. 03-33, 2003.

REA, R.; PELLEGRINI.; N. PROTEGGENTE, A.; PANNALAA, A.; YANGA, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, **Free Radic. Biol. Med.** v. 26, p. 1231 – 1237, mai. 1999.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A.; “Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food”. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254. 2005.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-GIMENES, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico 127**. Embrapa. Fortaleza, CE, p. 127. 2007a.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-GIMENES, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +. . **Comunicado Técnico 127**. Embrapa. Fortaleza, CE, p. 127. 2007b.

SANTOS, P. M. C. C. P. **Mecanismos de degradação de compostos de relevância biológica por radicais oxidantes**. Lisboa: Universidade Nova de

Lisboa, 2010. Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Química. Universidade Nova de Lisboa, 2010.

SAUZEM, P. D. **Derivados pirazolínicos inéditos causam antinocepção em camundongos no teste da formalina**. Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 2004. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica Toxicológica. Universidade Federal de Santa Maria, 2004.

SHARMA, O. P.; BHAT, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry** v.113, p. 1202-1205, abr. 2009.

SILVA, F. A. N.. **Avaliação antioxidante do 3,5-dimetil isoxazol, pirazóis, e tiazóis utilizando o método ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio)**. São Paulo, SP: Universidade Federal de São Paulo, 2010. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas. Universidade de São Paulo, 2010.

SILVA, J. F. **Avaliação da capacidade antioxidante do *Vaccinium myrtillus* L, (mirtilo) e comparação com as espécies *Malpighia emarginata* (acerola) e *Vitis vinifera* L (uva)**. Itaquí, RS: Universidade Federal do Pampa, 2016. Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para a obtenção de grau de Bacharel em Nutrição. Universidade Federal do Pampa, 2016.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M C. C.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. V. 30, p. 351-355. 2007.

6 Anexos

6.1 Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade - Diretrizes para autores

Diretrizes para Autores

Instrução aos Autores

1. Tipologia das Submissões

Os tipos de documentos que podem ser submetidos a Revinter são: Artigos Originais, Artigos de Revisão, Ensaios, Resenhas, Discussão, Relato de Caso e Comentário de Artigos.

a) Os idiomas aceitos nas submissões são português, inglês e espanhol. Sendo necessário que o título dos artigos e o resumo contem com uma versão em língua estrangeira.

b) A temática das sessões aceitas nas submissões são: Farmacologia, Toxicologia, Agronomia, Medicina, Saúde Coletiva e Biodiversidade (Ecologia, oceanografia, botânica e zoologia).

Também podem ser aceitos artigos interdisciplinares (Sociais e humanidades, engenharia, tecnologia da informação) desde que possuam ligação com alguma das temáticas das sessões.

2. Normas de Publicação

A Revinter exige que os artigos submetidos para avaliação estejam de acordo com as normas adotadas, sendo que:

Artigos Biomédicos

Adoção do **Estilo Vancouver**, para maiores orientações a respeito sugere-se a leitura do manual de elaboração de referências Estilo Vancouver pela UFSC (<http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html>).

Demais Artigos

Para artigos que abrangem as outras áreas aceitas pela Revinter, devem ser consultadas as seguintes normas:

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS

NBR 6021: Informação e documentação: publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, maio 2003.

NBR 6022: informação e documentação: artigo em publicação periódica científica impressa: apresentação. Rio de Janeiro, maio 2003.

NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, ago. 2002.

NBR 6024: numeração progressiva das seções de um documento escrito. Rio de Janeiro, maio 2003.

NBR 6027: sumário: procedimento. Rio de Janeiro, maio 2003.

NBR 6028: informação e documentação: resumos: apresentação. Rio de Janeiro, nov. 2003.

NBR 10520: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, ago.

2002.

NBR 14724: informação e documentação – trabalhos acadêmicos - apresentação. Rio de Janeiro: ABNT, 2011.

NBR 15287: informação e documentação – projeto de pesquisa - apresentação. Rio de Janeiro: ABNT, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE

Normas de apresentação tabular. 3. ed. Rio de Janeiro, 1993.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO

SI: Sistema Internacional de Unidades. 8. ed. Brasília, 2003.

Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia. 2. ed. Brasília, 2000.

3. Estrutura e envio das submissões

As submissões devem ser estruturadas conforme as normas selecionadas, caso não haja norma para o tipo de submissão escolhido o autor fica livre para sua construção desde que constem os itens:

- a) Título;
- b) Autor(es);
- c) Referências Bibliográficas (se houver).

O envio ocorre somente pela plataforma Open Journal System (OJS) diretamente no endereço da Revinter (<http://revistarevinter.com.br/index.php/toxicologia/index>).

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. **Forma de Apresentação dos Originais**

Os trabalhos deverão ser apresentados em formato compatível ao MS Word for Windows, digitados para papel tamanho A4, com letra tipo Times New Roman ou Arial, tamanho 12, com espaçamento 1,5 cm entre linhas em todo o texto, margens 2,5 cm (superior, inferior, esquerda e direita), parágrafos alinhados em 1,0 cm.

Título - deve ser apresentado com alinhamento justificado, em negrito, com a primeira letra em maiúscula, nos idiomas português e inglês ou espanhol. A seqüência de apresentação dos mesmos deve ser iniciada pelo idioma em que o artigo estiver escrito.

Autores - nome(s) completo(s) do(s) autor(es) alinhados à esquerda. Enumerar em nota no final do documento as seguintes informações: formação universitária, titulação, atuação profissional, local de trabalho ou estudo (cidade e estado, província, etc), endereço para correspondência e e-mail do autor principal.

Resumo e descritores - devem ser apresentados na primeira página do trabalho em português e inglês ou espanhol, digitados em espaço simples, com até 300 palavras. Ao final do resumo devem ser apontados de 3 a 5 descritores ou palavras chave que servirão para indexação dos trabalhos. A seqüência dos resumos deve ser a mesma dos títulos dos artigos.

Estrutura do texto - a estrutura do texto deverá obedecer às orientações de cada categoria de trabalho já descrita anteriormente, acrescida das referências bibliográficas, de modo a garantir uma uniformidade e padronização dos textos apresentados pela revista. Os anexos (quando houver) devem ser apresentados ao final do texto.

Ilustrações - tabelas, figuras e fotografias devem estar inseridas no corpo do texto contendo informações mínimas pertinentes àquela ilustração (Por ex. Tabela 1; Figura 2; etc.), inseridas logo após serem mencionadas pela primeira vez no texto, com letra tipo Times New Roman, tamanho 10. As Ilustrações e seus títulos devem estar alinhados à margem esquerda e sem recuo. O tamanho máximo permitido é de um papel A4 (21 x 29,7 cm).

Notas de rodapé - devem ser apresentadas quando forem absolutamente indispensáveis, indicadas por números e constar na mesma página a que se refere.

Citações - para citações “ipsis literis” de referências bibliográficas deve-se usar aspas na seqüência do texto. As citações de falas/depoimentos dos sujeitos da pesquisa deverão ser apresentadas em itálico, em letra tamanho 10, na seqüência do texto.

Referências bibliográficas - as referências devem ser organizadas em ordem alfabética ao final do texto, no formato ABNT (segundo a norma ABNT NBR 6023 - Informação e documentação - Referências – Elaboração). Suas citações no corpo do texto devem ser feitas pelo sobrenome do(s) autor(es), seguidas de vírgula e ano. No caso de mais de dois autores, usar o sobrenome do primeiro seguido da expressão et al. e de vírgula e ano.

Exemplificando, (NUNES; LACERDA, 2008), (KUNO et al., 2008). Essa orientação também se aplica para tabelas e figuras.

3. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na página Sobre a Revista.
4. Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em [Assegurando a avaliação pelos pares cega](#) foram seguidas.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.