



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Inês Araújo Dinis

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Alexandra Matos e da Dra. Catarina Cardoso e Monografia intitulada “Atividades Farmacológicas do Isoeugenol” sob a orientação da Professora Doutora Maria Teresa Cruz Rosete, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



# UNIVERSIDADE D COIMBRA

**Inês Araújo Dinis**

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Alexandra Matos e da Dra. Catarina Cardoso e Monografia intitulada “Atividades Farmacológicas do Isoeugenol” sob a orientação da Professora Doutora Maria Teresa Cruz Rosete, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

**Setembro de 2023**

Eu, Inês Araújo Dinis, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018288666 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Atividades Farmacológicas do Isoeugenol” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2023.

Inês Dinis

(Inês Araújo Dinis)

## **AGRADECIMENTOS**

Face ao caminho percorrido ao longo destes 5 anos na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, é com uma enorme satisfação que reflito acerca da minha evolução e amadurecimento a nível académico, profissional e pessoal. Pela presença que marcaram nesta caminhada, não podia deixar de manifestar o meu sincero e profundo agradecimento:

- ♥ Aos meus pais e ao meu irmão, pela dedicação e amor, pelo permanente incentivo com que sempre me impulsionaram. Agradeço, ainda, os melhores valores que me transmitiram e por se desdobrarem como nunca, a fim de me proporcionarem o melhor;
- ♥ À minha tia Zinha e aos meus primos, por festejarem orgulhosamente todas as minhas vitórias e serem um porto de abrigo nos momentos mais difíceis e exigentes;
- ♥ À minha Madrinha e aos meus primos, Tiago e Serginho, pelo apoio, carinho e generosidade com que me acolheram em sua casa, tendo-me proporcionado três meses de pura felicidade;
- ♥ À minha prima Catarina, que para além de ser família é, também, uma das minhas melhores amigas. Uma confidente, afilhada, colega de casa e companheira de todas as horas;
- ♥ Às minhas avós, Dores e Celeste, pelas orações e velinhas, pelo apoio incondicional e por acreditarem sempre em mim;
- ♥ À minha restante família, por estarem sempre lá para mim;
- ♥ Aos amigos que considero família, Mafalda, Carol e Bertão, por estarem presentes em todos os momentos, por serem o meu pilar, pela forma amiga e generosa com que me encorajaram e pelo incentivo sentido em cada partilha. Por serem “de sempre e para sempre”;
- ♥ Ao “Gang B” agradeço a amizade e o companheirismo presente em todos os momentos;
- ♥ À Professora Doutora Maria Teresa Cruz Rosete, pela constante disponibilidade, pela partilha de conhecimentos e pelo incansável auxílio nesta etapa final do meu percurso;
- ♥ À equipa da Farmácia Sanches, pelo acolhimento, amizade, paciência e pelos ensinamentos proporcionados;
- ♥ À equipa da Basinnov, pelo excelente acolhimento, pela constante boa disposição e por tornarem esta experiência tão enriquecedora;
- ♥ À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e seus docentes, pela excelente formação concedida;
- ♥ A Coimbra, pelas tradições e pelas amizades que trouxe para a minha vida;

A todos os que sabem bem o quanto eu estou grata!

**“Uma vez Coimbra, para sempre Saudade”**

## ÍNDICE

### PARTE I - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>8</b>
<b>2. Análise SWOT</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Pontos Fortes</b> .....	<b>9</b>
2.1.1 Localização e utentes.....	9
2.1.2 Integração na equipa técnica .....	10
2.1.3 Plano de estágio .....	10
<b>2.2 Pontos Fracos</b> .....	<b>12</b>
2.2.1 Lacunas científicas.....	12
2.2.2 Nomes comerciais dos medicamentos .....	12
2.2.3 Inseguranças no atendimento ao público e no aconselhamento farmacoterapêutico .....	13
<b>2.3 Oportunidades</b> .....	<b>14</b>
2.3.1 Mudança no paradigma de saúde.....	14
2.3.2 Formações.....	14
<b>2.4 Ameaças</b> .....	<b>15</b>
2.4.1 Medicamentos esgotados.....	15
2.4.2 MNSRM fora das farmácias.....	15
<b>3. Considerações Finais</b> .....	<b>16</b>
<b>4. Casos Práticos</b> .....	<b>17</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>21</b>

### PARTE II - RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>24</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>25</b>
<b>2. Basinnov - Life Sciences</b> .....	<b>25</b>
<b>3. Análise SWOT</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1 Pontos Fortes</b> .....	<b>27</b>
3.1.1 Integração na empresa e ações formativas .....	27
3.1.2 Equipa Basinnov.....	27
3.1.3 Variedade de tarefas realizadas.....	28
<b>3.2 Pontos Fracos</b> .....	<b>29</b>
3.2.1 Inseguranças iniciais.....	29
3.2.2 Conhecimento limitado de ferramentas de Microsoft Excel .....	29
<b>3.3 Oportunidades</b> .....	<b>30</b>
3.3.1 Estágio Diferenciador.....	30
3.3.2 Competências Adquiridas e Desenvolvidas .....	30
<b>3.4 Ameaça</b> .....	<b>30</b>
3.4.1 Empresa recente .....	30
<b>4. Considerações Finais</b> .....	<b>31</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>32</b>

## **PARTE III - MONOGRAFIA "ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DO ISOEUGENOL**

<b>Lista de Abreviaturas .....</b>	<b>34</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>37</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>38</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>39</b>
<b>2. Isoeugenol .....</b>	<b>39</b>
2.1 Caracterização .....	39
2.2 Alergénio cutâneo.....	40
<b>3. Via NRF2 e sua relevância em biomedicina.....</b>	<b>42</b>
3.1 Via do NRF2.....	42
3.2 Relevância em Biomedicina.....	46
3.3 Doença de <i>Alzheimer</i> .....	46
3.3.1 Teoria da Cascata Amilóide .....	47
3.3.2 Teoria da Hiperfosforilação da TAU.....	48
3.3.3 Teoria Neuroquímica.....	48
3.3.4 Teoria inflamatória crónica e do stresse oxidativo.....	49
<b>4. Isoeugenol e Nrf2.....</b>	<b>49</b>
<b>5. Atividades Farmacológicas .....</b>	<b>52</b>
5.1 Antibacteriana.....	52
5.2 Antifúngico.....	54
5.3 Anti-inflamatória.....	56
5.4 Antioxidante.....	59
5.5 Antidiabético .....	60
5.6 Antitumoral .....	62
<b>6. Formulação.....</b>	<b>63</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>64</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>65</b>

# **PARTE I**

## **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

### **Farmácia Sanches**

Orientadora: Dra. Alexandra Matos

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** - Denominação Internacional Comum

**FS** - Farmácia Sanches

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - medicamentos não sujeitos a receita médica

**OTCs** - *Over-the-Counters*

**SNS** - Serviço Nacional de Saúde

**SWOT** - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*



## I. Introdução

A farmácia comunitária contribui de forma ativa para garantir a continuidade dos cuidados, a otimização dos tratamentos, a maximização da eficácia das terapêuticas, melhorando, deste modo, a saúde dos utentes e cooperando para um sistema de saúde mais forte, mais resiliente e mais ajustado às necessidades dos cidadãos, tal como preconizado no Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, Artigo 8º, “1- As farmácias promovem o uso racional do medicamento”.<sup>1</sup>

Julgo ser por demais evidente o contributo crucial do farmacêutico, para um Serviço Nacional de Saúde (SNS) capaz de cumprir com sucesso a sua missão.

De facto, no desempenho das suas funções, o farmacêutico encontra-se numa posição privilegiada para dinamizar a educação e promoção da saúde, pois detém conhecimento científico e, com ele, pode contribuir em diversas áreas, tais como: gestão da terapêutica, administração de medicamentos, prevenção e deteção precoce de doenças e promoção de estilos de vida mais saudáveis.

Considero que a realização de um estágio curricular em Farmácia Comunitária, é, por isso, de grande relevância, uma vez que, nesta área, a experiência é fundamental para um excelente exercício da profissão.

No âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), o Estágio Curricular surge, como parte integrante do plano de estudos, permitindo aplicar na prática os meus conhecimentos e, ainda, de contactar com o mundo profissional, dando a oportunidade para a aquisição de ferramentas essenciais para um crescimento pessoal e científico.

O presente relatório é relativo ao estágio efetuado na Farmácia Sanches (FS), localizada na Avenida Marquês de Pombal em Leiria, sob orientação da Dra. Alexandra Matos, no período de 9 de janeiro a 28 de abril de 2023.

Assim, sob a forma de uma análise SWOT (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*), pretendo analisar e refletir, tanto da perspetiva interna (*Strenghts, Weaknesses*) como da perspetiva externa (*Opportunities, Threats*), a minha experiência no decurso do mesmo.

## 2. Análise SWOT

Figura I representa o esquema-resumo da análise SWOT no que diz respeito ao Estágio Curricular realizado na Farmácia Sanches.

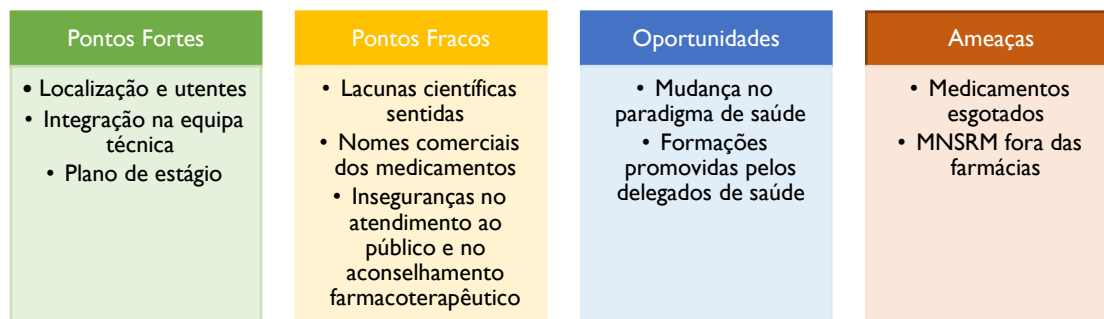


Figura I – Esquema-resumo da análise SWOT do Estágio na Farmácia Sanches.

### 2.1 Pontos Fortes

#### 2.1.1 Localização e utentes

A Farmácia Sanches, fundada em 1895, é uma das mais antigas de Leiria. Inicialmente, localizada na Praça Rodrigues Lobo e, posteriormente, em 2000, transferida para a Avenida Marquês de Pombal, sempre se encontrou no centro de Leiria numa zona com grande densidade populacional e de Serviços Públicos (tribunal, segurança social, etc.), assim como, de várias entidades de Saúde Públicas e Privadas.

A localização privilegiada permite à farmácia ter uma ampla diversidade de utentes, com características díspares relativamente à faixa etária, fatores socioeconómicos e, inclusive, nacionalidades diversas.

Perante a heterogeneidade de utentes supramencionada, a FS dispõe de um considerável *stock*, possuindo uma multiplicidade de produtos, laboratórios e marcas. Assim sendo, o contacto com inúmeros utentes, patologias e referências contribuiu para uma aquisição profícua de conhecimento e tornou-me mais capaz.

Para além disso, a sua história exímia de profissionalismo, proximidade à população e confiança aliada à vasta oferta que a FS proporciona, permite à farmácia contar com um grande número de utentes fidelizados. Por conseguinte, conferiu-me a oportunidade de criar laços e desenvolver a componente mais empática e pessoal, que também faz parte da conduta de um profissional de saúde exemplar.

É, portanto, de salientar o papel crucial da referida variedade e heterogeneidade na minha evolução e, conseqüentemente, formação.

### 2.1.2 Integração na equipa técnica

A equipa da Farmácia Sanches é constituída por seis farmacêuticas, quatro técnicas de farmácia, um técnico de encomendas, dois funcionários administrativos e duas auxiliares de limpeza.

A equipa técnica mostrou-se sempre disponível para me ajudar, ensinar, esclarecer dúvidas e dar *feedback* para oportunidades de melhoria relativamente ao meu desempenho.

O profissionalismo, experiência, dinamismo e espírito de equipa que imperam na FS contribuíram para a partilha e aprofundamento contínuo de conhecimentos e para colmatar lacunas científicas sentidas.

É, ainda, de salientar o privilégio que tive por ser a única estagiária. Esta circunstância permitiu-me usufruir de uma atenção, por parte da equipa, mais focada na minha formação.

A minha ânsia por aprender aliada ao distinto sentido pedagógico da equipa, permitiu a rentabilização do estágio. Sempre fui estimulada a desenvolver e aperfeiçoar as minhas competências e a ultrapassar os obstáculos, a fim de, reunir as condições necessárias para a construção de um percurso de sucesso.

Considero que, toda a equipa teve um papel fulcral no meu crescimento pessoal e técnico.

### 2.1.3 Plano de estágio

O meu plano de estágio regeu-se por uma aprendizagem gradual, escalonando sequencialmente nas tarefas a pôr em prática.

Inicialmente, o estágio consistiu em trabalho de *backoffice*, onde me dediquei à receção e confirmação de encomendas, reposição de medicamentos no robô, etiquetagem de produtos, armazenamento dos produtos segundo o método *first in-first out*, organização de reservas e a reposição produtos nos lineares. Deste modo, consegui familiarizar-me com alguns nomes comerciais e com o método organizacional adotado pela farmácia. A maioria das tarefas supramencionadas foram uma constante transversal a todo o estágio.

Posteriormente, contactei com os procedimentos de controlo de prazos de validade, gestão de *stock* e devoluções, sempre com supervisão.

O primeiro contacto com o balcão deu-se com a preparação de medicação para instituições, sendo, portanto, outro aspeto a realçar, uma vez que, permitiu-me a familiarização com o Sifarma mesmo antes de iniciar o atendimento ao público.

Por essa altura, comecei também a observar atendimentos, observar o processamento do receituário e faturação.

Por último, surgiu o atendimento ao público, de forma gradual. Numa fase inicial com supervisão e depois autonomamente. Paralelamente, tive, também, a oportunidade de realizar a determinação de parâmetros antropométricos e bioquímicos, como a avaliação do perfil lipídico completo, medição da pressão arterial e frequência cardíaca, medição da glicémia e da HbA1c e, ainda, observar a colocação e interpretação de mapas da pressão arterial (48h).

Por conseguinte, coloquei em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico e fiz uma consolidação gradual dos mesmos.

É, ainda, de referir a grande abrangência de serviços que a FS presta à população, desde consultas de podologia, consultas de nutrição e dietética, administração de vacinas, testes rápidos de deteção de antigénio do SARS-CoV-2, testes de gravidez e preparação individualizada da medicação, conferindo-me uma visão realista e alargada do papel do farmacêutico como agente de saúde pública.

O estágio permitiu-me, também, adquirir noções mais aprofundadas de gestão da Farmácia desafiando-me a estimular o meu espírito crítico em questões mais logísticas e elementares, com vista ao bom funcionamento e manutenção da sustentabilidade deste sector farmacêutico.

Um dos pontos mais positivos a destacar no meu plano de estágio e que, realmente, contribuiu muito para a aquisição de conhecimentos assenta num dos valores da FS, o conhecimento (formação contínua). Neste sentido, tive a oportunidade de ter formações semanais/quinzenais sobre os diversos produtos existentes no mercado com o propósito de os conhecer na íntegra e, ainda, dois dias inteiros de formação organizados pela FS.

A experiência é um alicerce fundamental para a construção de uma carreira de sucesso. Assim, julgo que, o confronto com as mais variadas situações, durante todo o período de estágio, culminaram numa evolução exponencial das minhas competências técnicas e comportamentais.

## **2.2 Pontos Fracos**

### **2.2.1 Lacunas científicas**

O plano de estudos do MICF é extremamente abrangente, bem estruturado e permite a aquisição de conhecimentos fulcrais para o bom desempenho das mais variadas áreas que o sector farmacêutico contempla. O seu propósito prende-se com conceder-nos as bases necessárias para o exercício da profissão.

Contudo, dada a imensidade de situações que chegam diariamente à farmácia, senti alguma dificuldade em realizar um aconselhamento farmacoterapêutico adequado relativo às áreas específicas da pele, oftalmologia e auricular, e, ainda, no âmbito da veterinária, dermofarmácia e cosmética.

No que concerne às afeções da pele, considero que esta lacuna científica se deve à falta da prática clínica. Julgo que, detenho um vasto conhecimento científico desta índole, mas que carece de experiência na observação.

Relativamente aos produtos veterinários, apesar do MICF englobar uma Unidade Curricular de Preparações de Uso Veterinário, esta centra-se muito na componente farmacocinética, não nos capacitando na sua plenitude para a realidade da Farmácia Comunitária.

Outra lacuna supramencionada, no âmbito da dermofarmácia e cosmética, julgo que a Unidade Curricular de “Dermofarmácia e Cosmética” me capacitou para um aconselhamento neste campo. No entanto, a diversidade de marcas existentes no mercado, introdução exponencial de novos produtos e formulações, torna o aconselhamento mais complexo e difícil, uma vez que exige uma atualização constante e um devido acompanhamento de todas as inovações.

As lacunas científicas sentidas, foram encaradas como uma oportunidade de aprendizagem. As minhas dificuldades, foram pacientemente colmatadas, através de um acompanhamento acrescido por parte da equipa técnica da farmácia aliado a um investimento autodidata nessas áreas do saber.

### **2.2.2 Nomes comerciais dos medicamentos**

Ao longo de todo o percurso académico somos familiarizados com os nomes dos princípios ativos dos medicamentos, ou seja, a Denominação Internacional Comum (DCI). Em

contrapartida, a maioria dos utentes conhece os medicamentos pela sua denominação comercial.

Desta forma, um dos maiores obstáculos no meu desempenho foi a dificuldade em associar o nome comercial ao princípio ativo, o que levava a um atendimento mais demorado e, por conseguinte, reduzia a minha confiança e segurança.

O contacto incessante com os nomes de marca, através da receção dos medicamentos no *backoffice* e da dispensa dos mesmos no balcão, contribuíram para que esta dificuldade fosse ultrapassada.

### 2.2.3 Inseguranças no atendimento ao público e no aconselhamento farmacoterapêutico

A farmácia assume um papel preponderante na resolução de questões de saúde e prima por um serviço de excelência, eficaz e com qualidade. A perceção que o utente tem do atendimento e do serviço prestado é determinante para a imagem que este cria da farmácia.

Neste sentido, estando ciente da importância do meu papel, no início do meu estágio deparei-me com uma natural falta de confiança devida à inexperiência no contacto com o público e, conseqüentemente, atendimentos demorados, abordagens pouco esclarecedoras e claras.

O apoio incansável da equipa e a experiência adquirida dia após dia, permitiram-me desenvolver competências para fazer um aconselhamento de qualidade e a melhorar a minha *performance*.

Na Farmácia, a dispensa de medicamentos pode ser feita através das tradicionais receitas médicas manuais ou das receitas sem papel, um novo modelo eletrónico, que tem tido uma enorme adesão por parte de utentes, médicos e farmácias.<sup>2</sup>

Contudo, as receitas médicas manuais requer uma série de exigências como a identificação e interpretação do nome do medicamento, dosagem e número de embalagens prescritas, conferência da vinheta do prescritor, assinatura, identificação de exceções, data de prescrição e validade da receita. Assim sendo, as receitas deste registo contribuíram em grande parte para a minha insegurança inicial.

De acordo com o INFARMED, os regimes excecionais de comparticipação carecem do cumprimento de condições específicas relativas à prescrição, como a patologia ou grupo de doentes, a especialidade clínica do médico prescritor, a forma como é feita a prescrição,

entre outros.<sup>3</sup> Neste sentido, senti algumas dificuldades e inseguranças na validação de receitas manuais com regimes de excecionais.

Para além disso, inicialmente, desconhecia a existência de medicamentos com regimes específicos de comparticipação conferidos pelo laboratório e de talões de controlo, como é o caso do Saxenda, o que gerou alguns constrangimentos iniciais.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Mudança no paradigma de saúde**

Vivemos numa era em constante mudança, nomeadamente, na perceção que a população tem e na importância e preocupação crescente da sociedade com a saúde.

Os avanços tecnológicos tiveram um papel fulcral na formação de utentes cada vez mais informados. Contudo, o farmacêutico comunitário continua a ter um papel fundamental no aumento e disseminação da literacia em saúde na população, uma vez que, infelizmente, também surge muita desinformação relativa à saúde.

O consumo de *Over-the-Counters* (OTCs) disponíveis está a aumentar exponencialmente.<sup>4</sup> Esta realidade é transversal a toda a sociedade ocidental, sendo, portanto, uma oportunidade para a realização de um aconselhamento personalizado de forma a zelar pela sustentabilidade da farmácia.

### **2.3.2 Formações**

Tal como abordado anteriormente, uma das missões da FS é primar pela formação contínua, de modo a manter a equipa em constante atualização.

Durante o estágio, participei em inúmeras formações promovidas pelos diversos laboratórios farmacêuticos. Esta oportunidade de formação continua contribui significativamente para a aquisição e consolidação de conhecimentos da equipa e, consequentemente, para o seu desempenho exímio.

Considero que a FS faz uma ótima gestão das mais valias que as entidades externas podem trazer para a equipa. Assim sendo, deve manter-se neste registo, continuando a fomentar o conhecimento.

## 2.4 Ameaças

### 2.4.1 Medicamentos esgotados

A problemática dos medicamentos esgotados é uma realidade avassaladora com que as farmácias e os utentes se têm deparado. Ao longo do meu estágio, as situações de descontentamento e frustração dos utentes perante esta adversidade foram uma constante.

Apesar de alguns casos serem relativamente fáceis de solucionar, através da troca por um medicamento do mesmo grupo homogéneo, que fosse equivalente, mas de outro laboratório. Outros casos mais críticos, onde não existia qualquer alternativa terapêutica, acarretavam uma série de riscos e preocupações, principalmente, se a medicação fizesse parte da terapêutica crónica.

A inimizabilidade da farmácia face a esta condicionante, nem sempre era devidamente compreendida pelos utentes e culminava em atendimentos consideravelmente mais demorados, na tentativa de explicar a situação e tentar encontrar uma alternativa viável, e, ainda, mais distantes, sendo que, a impossibilidade de satisfazer as necessidades dos utentes gerava um certo desagrado.

No geral, os utentes não eram muito recetivos às trocas de laboratório, uma vez que receavam que a segurança e eficácia não fossem integralmente iguais ao medicamento habitual. Portanto, é, por demais evidente que, esta realidade se assumiu como uma ameaça ao meu estágio, principalmente, no ato de cedência de medicamentos.

Neste âmbito, saliento o esforço acrescido que a FS fez para tentar adquirir os medicamentos esgotados, tendo vários fornecedores, *stocks* mínimos elevados e fazendo uma verificação diária da sua disponibilidade, a fim de colmatar o problema.

### 2.4.2 MNSRM fora das farmácias

De acordo com o estipulado no Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto, os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) podem ser comercializados fora das farmácias, em estabelecimentos que cumpram os requisitos legais e regulamentares.<sup>5</sup> Estes locais têm um regime de preços livre, permitindo-lhes praticar preços extremamente competitivos e apelativos para o consumidor, potenciando a automedicação e o uso irracional do medicamento.



A FS apresenta um Pingo Doce, onde se vende MNSRM, nas suas imediações, confrontando-se, portanto, com uma dificuldade acrescida para contornar esta problemática. Neste sentido, é imprescindível diferenciá-los através de um aconselhamento personalizado.

Durante o estágio, tentei ao máximo primar por esse fator diferenciador e, implicitamente, provar ao utente o valor do farmacêutico.

De facto, o atendimento nos pontos de venda supramencionados, carecem de um escrutínio às características do utente, história clínica e medicamentosa do mesmo, assim como, de trabalhadores qualificados, com os conhecimentos científicos cruciais para assegurar o correto uso dos medicamentos e a obtenção de *outcomes* positivos.

A referida ameaça prejudica economicamente a farmácia e, ainda, o utente do ponto de vista de saúde pública.

### **3. Considerações Finais**

O Estágio Curricular em Farmácia Comunitária foi imprescindível para a aplicação e consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico e, ainda, para a aquisição de novas competências técnicas e científicas relevantes para o meu futuro.

De facto, o Farmacêutico prima incessantemente pela saúde e bem-estar da população. É, indubitável a relevância do Farmacêutico na sociedade, sendo o primeiro elo de ligação entre os utentes e o sistema de saúde.

Estou muito grata a toda a equipa da Farmácia Sanches pela partilha contínua e construtiva de conhecimentos, pelo apoio incansável, a confiança e por me proporcionarem, não só um enriquecimento a nível técnico-científico, como, também, a nível pessoal.

Por último, realço o balanço positivo que faço relativamente ao estágio na FS e a sua importância na minha evolução com o propósito de alcançar com sucesso todos os objetivos pretendidos.

## 4. Casos Práticos

### Caso Prático 1

Uma utente do sexo feminino, com 70 anos, dirige-se à farmácia com manchas amareladas no cabelo e refere ainda bastante prurido e comichão no couro cabeludo e orelhas. A senhora solicitou uma embalagem de Betadine® solução cutânea para resolver o seu problema. Pedi à utente para ver como se encontrava o seu couro cabeludo e verifiquei que se tratava de uma crise de dermatite seborreica oleosa, sendo que apresentava descamação com placas espessas e amareladas e vermelhidão no couro cabeludo e orelhas. Sugeri a utilização 3 vezes por semana, durante 2 semanas, seguida de uma vez por semana em fase de manutenção, do Champô KELUAL DS. O champô é formulado com Ácido Glicirretínico, responsável por acalmar o couro cabeludo irritado, e Ciclopirox Olamine combinado com Piroctone Olamine, que removem a caspa e regulam as causas da descamação excessiva.

Ainda, aconselhei a utilização diária de uma loção anticaspa com zinco, SQUANORM® da Ducray, para usar como complemento ou em alternância com champôs de tratamento.<sup>6</sup> A sua fórmula contém Keluamida, um ingrediente ativo redutor de queratina que regula a descamação, em combinação com Sulfato de Zinco para aliviar o prurido. A utente agradeceu o aconselhamento e levou os produtos mencionados.

### Caso Prático 2

Utente do sexo feminino, de 26 anos, dirige-se à farmácia e pede Fosfomicina Monuril® saquetas pois costuma ter infeções urinárias recorrentes e sentia que estava a iniciar uma.<sup>7</sup> A utente queixou-se de vontade constante e algum ardor ao urinar, prurido e sensação de peso na bexiga, e referiu que a sintomatologia dura há cerca de um dia. Pela descrição dos sintomas constatei que se tratava de uma infeção urinária em estado inicial e que não existiam sintomas de maior gravidade como hematuria ou a febre. Perante esta situação, expliquei que a Fosfomicina Monuril® só podia ser dispensada com receita médica e que a sua utilização deve ser limitada devido à resistência aos antibióticos. A utente manifestou preferência por uma forma farmacêutica sólida. Assim, optei por aconselhar a toma do suplemento alimentar Cistisil®. Recomendiei à utente que tomasse 1 comprimido de 12 em 12 horas nos primeiros dez dias e, depois, 1 comprimido por dia por mais 10 dias.

Cistisil® é composto por arando vermelho (*Vaccinium macrocarpon*) que, por ação da frutose e proantocianidinas, impede a adesão de bactérias ao trato urinário, fruto-oligossacarídeos (FOS), pré-bióticos que contribuem para a manutenção do equilíbrio da microbiota e, ainda, uva-ursina (*Arctostaphylos uva-ursi*) e cavalinha (*Equisetum arvense*), que têm propriedades

diuréticas e antibacterianas, tendo em conta que aumentam o volume da urina e a eliminação dos agentes patogénicos.<sup>8</sup>

Para além disso, também referi as medidas não farmacológicas que deveria ter em conta como beber bastante água ao longo do dia (no mínimo 2 litros), manter uma higiene íntima adequada, evitar o uso de roupa muito justa e optar por usar roupa íntima de algodão, para evitar muita humidade e calor na zona íntima, uma vez que assim é mais provável o reaparecimento da infeção. Mesmo assim, se o incómodo não passasse era melhor ir ao médico.

### **Caso Prático 3**

Homem, 40 anos, dirige-se à farmácia solicitando um produto que melhorasse os seus sintomas de comichão, lacrimejo constante e sensação de areia nos olhos. Excluí, logo à partida, a hipótese de conjuntivite bacteriana, tendo em conta que o utente referiu que não tinha dor nem secreções espessas e amareladas no olho. Além disso, referiu que, geralmente, todos os anos na altura da Primavera, principalmente em dias mais ventosos, a sensação de desconforto ocular manifesta-se intensamente. Conclui, então, que se tratava de uma conjuntivite alérgica sazonal. Após perceber que tinha medicação para situações agudas, a Desloratadina, um anti-histamínico oral, mas que, mesmo assim, o problema permanecia, indiquei a utilização de Lidina<sup>®</sup> colírio.<sup>9</sup> Aconselhando a colocação de uma gota em cada olho duas vezes ao dia, de manhã e à noite. Este produto contém Cetotifeno, um anti-histamínico tópico com propriedades estabilizadoras de mastócitos, que diminui a sintomatologia da conjuntivite alérgica sazonal.<sup>10</sup>

Como medidas não farmacológicas, recomendei que tentasse evitar a exposição a alérgenos, através do uso de óculos de sol, evitar esfregar os olhos, lavar as mãos cuidadosamente e com regularidade, limpar os olhos com soluções de lavagem ocular suaves (exemplo: soro fisiológico estéril) ou aplicar compressas frias e não usar lentes de contacto.

### **Caso Prático 4**

Um utente do sexo masculino, de 30 anos, dirigiu-se à farmácia com congestão nasal, dor de cabeça, tosse com expectoração e irritação na garganta. Logo de início referiu que não tinha problemas de saúde conhecidos e que já tinha realizado teste de COVID e o resultado tinha sido negativo. Recomendei a toma de Antigrippine<sup>®</sup> Trieffect Tosse Cápsulas que contém paracetamol, com ação analgésica e antipirética, cloridrato de fenilefrina, um descongestionante nasal, e guaifenesina, um expectorante que facilita a produção e remoção

das secreções brônquicas. Aconselhei a toma de 2 cápsulas a cada 4 a 6 horas conforme necessário, até um máximo de 3 doses por dia.<sup>11</sup>

Para a irritação na garganta, recomendei colocar uma pastilha na boca a cada 4 horas (não ultrapassando as 6 unidades por dia) de Thymotabs® fresh, formulado com tomilho (*Thymus vulgaris*), que desempenha ação anti-inflamatória e antisséptica, Vitamina C, que tem efeito antioxidante e imunoestimulante, e Xilitol, com ação antisséptica.<sup>12</sup>

Referi, ainda, que se os sintomas persistissem por mais de 3 dias, deveria procurar aconselhamento médico.

No decorrer do aconselhamento farmacêutico, o utente manifestou que na época de Inverno fica recorrentemente com sintomas de constipações e gripes, pelo que recomendei a toma de um suplemento no início destes períodos mais críticos e propensos a constipações, a fim de reforçar o sistema imunitário e prevenir as afeções do trato respiratório. Neste sentido, aconselhei 1 comprimido por dia de Vitacê®, constituído por Vitamina C, Zinco, Equinácea e Inulina.<sup>13</sup>

Relativamente às medidas não farmacológicas, recomendei uma alimentação equilibrada e variada com bastante hidratação (6 a 8 copos de água por dia), gargarejar com uma solução salina quente, humidificar o ambiente e/ou fazer inalações de vapor de água.

## **Caso Prático 5**

Utente do sexo masculino, na casa dos 40 anos, dirige-se à farmácia a pedir ajuda para parar a diarreia. Questionei se tinha algum sintoma associado, nomeadamente febre, diarreia com sangue ou muco, vómitos ou náuseas, se tinha história clínica aparente, como viagens, e, ainda, se tomava medicação que justificasse a sintomatologia. Perante as respostas, concluí que se tratava de uma situação aguda, sem sintomatologia associada, doenças ou medicação comprometedoras e despistei o possível cenário de gastroenterite. Assim sendo, sugeri o Imodium Rapid®, que são comprimidos orodispersíveis formulados com loperamida, cuja ação é diminuir o peristaltismo e aumentar o tempo de trânsito intestinal. Como posologia, indiquei que devia iniciar com 2 comprimidos e tomar 1 comprimido após cada dejeção, no máximo de 6 por dia.<sup>14</sup>

Aconselhei, também, um suplemento alimentar, o Atyflor®, que consiste numa mistura solúvel de probióticos e FOS, portanto trata-se de um simbiótico que restabelece a flora intestinal. Deve ser tomada uma saqueta por dia diluída em água, durante ou após as refeições.<sup>15</sup>

Geralmente, a diarreia é uma situação autolimitada, sendo que o tratamento mais importante passa pela adequada reposição de fluidos e eletrólitos, de modo a evitar uma situação de

desidratação. Deste modo, aconselhei ainda outro suplemento alimentar, o Bi-Oral Suero® Solução Oral Laranja, para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico. Para além disso, ajuda, ainda, a equilibrar a flora bacteriana do trato gastrointestinal, uma vez que contém probióticos, a estirpe de *Lactobacillus Reuteri Protectis*.<sup>16</sup>

Relativamente às medidas não farmacológicas, recomendei uma alimentação saudável e leve, com poucas fibras e leite ou produtos lácteos até 24 horas após a cura da diarreia, e, ainda, a reposição de fluídos e eletrólitos (água), de forma a prevenir a desidratação. Alertei ainda para a necessidade de consulta médica caso a diarreia não resolva espontaneamente no prazo 2 dias.

## Referências Bibliográficas

1. MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A\\_DL\\_307\\_2007\\_6ALT.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A_DL_307_2007_6ALT.pdf)
2. SNS. *Receitas sem papel*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pem.spms.min-saude.pt/receita-sem-papel/>
3. INFARMED. *Regimes excecionais de participação*. [Acedido a 21 de abril de 2023] Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/regimes-excecionais-de-comparticipacao>
4. Sánchez-Sánchez, E., Fernández-Cerezo, F. L., Díaz-Jimenez, J., Rosety-Rodriguez, M., Díaz, A. J., Ordonez, F. J., Rosety, M. Á., & Rosety, I. (2021). Consumption of over-the-counter drugs: Prevalence and type of drugs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/ijerph18115530>
5. MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068384/035-B\\_DL\\_134\\_2005\\_3Alt.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068384/035-B_DL_134_2005_3Alt.pdf)
6. DUCRAY. *A minha rotina anticaspa para caspa oleosa*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.ducray.com/pt-pt/caspa-condicoes/rotinas-de-cuidados-da-pele/rotina-anticaspa-para-caspa-oleosa>
7. INFARMED. *Resumo das Características do Medicamento: Fosfomicina Monuril* [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
8. SILFARMA<sup>+</sup>. *Cistisil*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://silfarmaplus.pt/produto/cistisil/Cistil>
9. INFARMED. *Resumo das Características do Medicamento: Lidina*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
10. Bielory, B. P., O'Brien, T. P., & Bielory, L. (2012). Management of seasonal allergic conjunctivitis: Guide to therapy. *Em Acta Ophthalmologica* (Vol. 90, Número 5, pp. 399–407). <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2011.02272.x>

11. INFARMED. *Resumo das Características do Medicamento: Antigrippine Trieffect Tosse Cápsulas*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
12. TILMAN. *Thymotabs*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://tilmanportugal.com.pt/thymotabs/>
13. VITACÊ®. *Vitacê® comprimidos*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.vitace.pt/vitace-comprimidos/>
14. INFARMED. *Resumo das Características do Medicamento: Imodium Rapid*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
15. GRUPO ITALFARMACO. *Atyflor®*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.italfarmaco.pt/p/atyflor>
16. JABA RECORDATI. *Bi-Oral Suero® Solução Oral Laranja*. [Acedido a 21 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.jaba-recordati.pt/pt/produtos-farmaceuticos/suplementos-alimentares/bi-oral-suero-laranja>

## **PARTE II**

### **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**

Basinnov – Grupo FHC

Orientadora: Dra. Catarina Cardoso



## **Lista de Abreviaturas**

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## **I. Introdução**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) capacita-nos para um vasto leque de saídas profissionais, contudo, por vezes, o conhecimento prático do ato farmacêutico em determinadas áreas relacionada com o ciclo de vida do medicamento é limitado, criando-nos inseguranças que nos limitam no momento de tomada de decisão sobre qual o rumo a seguir.

É, neste contexto, que a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) se destaca, sendo que, para além do Estágio Curricular obrigatório em farmácia comunitária, permite aos estudantes realizar outro estágio curricular numa área relacionada com o circuito do medicamento. Assim, contempla um plano de estágios de elevada abrangência que aborda extensivamente todas as vertentes profissionais relacionadas com o ato farmacêutico.

Esta etapa tão distinta da formação de um estudante de MICF caracteriza-se por um período de aprendizagem, de consolidação e aplicação de conhecimentos e competências.

Ciente desta oportunidade, optei por estagiar na Basinnov - Life Sciences, sob orientação da Dra. Catarina Cardoso, durante o período de três meses (2 de maio de 2023 a 28 de julho de 2023).

O presente relatório visa analisar e explanar a minha experiência no Estágio Curricular desenvolvido na Basinnov - Life Sciences, por meio de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*).

## **2. Basinnov - Life Sciences**

A empresa Basinnov, fundada em 2019, iniciou a sua atividade em Lisboa e os seus valores baseiam-se na inovação, flexibilidade, competitividade e eficiência.

A Basinnov pertence ao grupo FHC (Future of Health Care)<sup>1</sup>, que é um dos grupos empresariais mais relevantes da área farmacêutica em Portugal, que acompanha todos os setores do ciclo de vida do medicamento.

O grupo FHC, engloba os Laboratórios Basi, a FHC Farmacêutica, responsável pela disponibilização e gestão logística de medicamentos, dispositivos médicos e outros produtos de saúde, a Phagecon, consultora farmacêutica, a Empifarma, empresa de distribuição farmacêutica, a Overpharma, empresa focada no fornecimento de produtos médicos e farmacêuticos a instituições prestadoras de cuidados de saúde, a Zeone Consulting, consultora

na área da informática, a Laphysan, empresa dedicada à distribuição e comercialização de produtos farmacêuticos com sede em Espanha, e mais recentemente, a Basinnov.

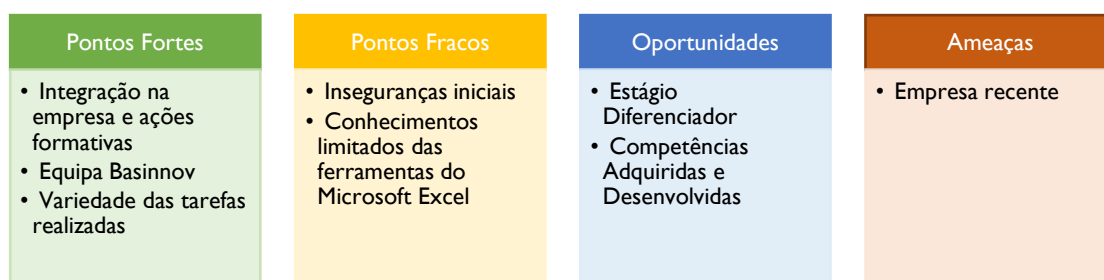
A Basinnov tem como objetivo primordial gerir as atividades de propostas de Inovação, desde a procura e gestão de iniciativas e oportunidades, até à sua aprovação para o desenvolvimento de produtos ou gestão de projetos inovadores. Assim, face ao escrutínio do máximo de informação relevante e pertinente das bases de dados, a empresa elabora análises precisas e íntegras, tanto a nível científico, como económico, a fim de garantir a existência da informação necessária para o futuro desenvolvimento de projetos inovadores.

Deste modo, a missão da Basinnov assenta no estabelecimento de parcerias com universidades, centros de investigação e *start-ups* que, apostem, principalmente, na área da oncologia e imunologia.

A Basinnov prima pela inovação e distinção, potenciando um crescimento e evolução da Indústria Farmacêutica e do mercado onde atua.

### 3. Análise SWOT

O relatório de estágio é redigido sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), tendo por objetivo apresentar os pontos fortes e fracos, bem como as oportunidades e ameaças sentidas no decorrer do Estágio Curricular na Basinnov, entre 2 de maio e 28 de julho de 2023. Assim, a Figura 2 sintetiza a análise SWOT relativa ao Estágio Curricular realizado na Basinnov.



**Figura 1** – Esquema-resumo do Estágio na Basinnov.

### **3.1 Pontos Fortes**

#### **3.1.1 Integração na empresa e ações formativas**

A integração geral no grupo FHC, assim como, mais especificamente, na empresa Basinnov, foi, indubitavelmente, um dos pontos fortes do estágio. É de primar toda a simpatia e acolhimento por parte da equipa Basinnov e dos Recursos Humanos do grupo, que nos apoiaram incondicionalmente do início ao fim.

O grupo FHC rege-se por um grande sentido pedagógico e valorização das áreas do saber, promovendo formações contínuas e de excelência para todos os colaboradores.

Neste sentido, inicialmente, tivemos formações de carácter geral incidindo no modo de funcionamento da empresa e nas ferramentas complementares, nomeadamente, sessões de formação de “Integração, Enquadramento, evolução histórica e Política de Recursos Humanos do grupo FHC”, “Integração no Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ)”, “Farmacovigilância”, “Q- Pulse: Módulo documental e Gestão de Documentos”, “Integração à Gestão Ambiental e de Segurança no Trabalho”, “Formação GMP & GDP” (do Inglês, Good manufacturing practice e Good distribution practice), visita às instalações, “SOP.31: Vestuário” e formação de IT (do inglês, Information Technology).

Após estas formações transversais a todos os colaboradores do grupo, fui direcionada para a Basinnov, onde foram ministradas formações mais específicas que visavam capacitar-me para a realização das atividades desenvolvidas pela equipa.

Previamente à realização de uma nova tarefa, recebia formação para uma adaptação e entendimento mais rápido, pleno e profícuo da tarefa a realizar e das suas especificidades inerentes, sendo, portanto, um aspeto bastante positivo do plano de estágio.

#### **3.1.2 Equipa Basinnov**

A equipa Basinnov é altamente qualificada, jovem e dinâmica, com valores humanos e morais que fazem dela uma equipa ainda mais especial.

Permitiram-me a aquisição de conhecimentos e competências técnico-científicas e, para além disso, denoto que, contribuíram para o meu crescimento enquanto pessoa. Considero que, proporcionaram um ambiente profícuo a uma aprendizagem de excelência, fazendo os possíveis por promover uma partilha incessante e adequada de conhecimentos.

A equipa estimulou-me a desenvolver e aperfeiçoar as minhas competências, a ultrapassar os obstáculos e a ser uma profissional muito dedicada, sendo dos pontos mais positivos do meu estágio. Incontestavelmente, fui uma privilegiada, pela confiança e autonomia depositadas, e, pelo acompanhamento incansável e inigualável, que tive ao longo de todo o percurso.

É, ainda, de notar que, tal como referido, a equipa é altamente qualificada, portanto lidava maioritariamente com Doutorados, que acabavam por partilhar a sua experiência, mostrando-me um pouco melhor a realidade desse possível rumo, o que para mim foi uma mais valia, porque era uma vertente que me interessava e desconhecia.

Assim, realço, o papel fulcral que a equipa teve no meu crescimento pessoal e científico, transmitindo-me ensinamentos que serão extremamente úteis na orientação e prática das minhas prioridades futuras.

### 3.1.3 Variedade de tarefas realizadas

A equipa Basinnov procurou sempre proporcionar-me uma experiência abrangente e diversificada, para que pudesse contactar e compreender, na prática, como se processam as diferentes fases no processo de análise e gestão de iniciativas.

Assim sendo, realizei vários relatórios de análise de iniciativas, ou seja, análises de viabilidade económica e científica de propostas, projetos e ideias internas ou externas, para direcionar recursos da melhor forma. Ainda, elaborei apresentações relativas aos relatórios de análise de iniciativas finais (após o parecer técnico do Departamento de Pharmaceutical Product Development - PPD), efetuei o ROI (do inglês, Return of Investment), realizei análises globais de mercado relativas a antiácidos e produtos tópicos e auxiliei na prospeção de possíveis parceiros de projetos.

Todas estas tarefas contribuíram fortemente para enriquecer o meu conhecimento e entendimento acerca de noções de farmacoeconomia, de ferramentas de Excel e de interpretação de bases de dados, como o IQVIA<sup>2</sup> e agências regulamentares europeias<sup>3</sup>.

Concluídas as tarefas, estas eram revistas e corrigidas pela equipa, evidenciando eventuais aspetos a melhorar, deste modo, fomentando o meu espírito crítico e a minha evolução no decorrer do estágio.

## 3.2 Pontos Fracos

### 3.2.1 Inseguranças iniciais

O plano de estudo de MICF é extremamente abrangente e pertinente, contudo, inicialmente, senti alguma insegurança perante as tarefas desenvolvidas na empresa, tendo em conta que os meus conhecimentos relativos a conceitos de farmacoeconomia, ferramentas do Microsoft Excel e as noções básicas de operacionalização de pesquisa em sites de agências regulamentares europeias, nomeadamente, de Espanha, Alemanha, Reino Unido e Polónia, assim como, de bases de dados, como o IQVIA, eram escassos e insuficientes.

Por ser algo novo com o qual nunca tinha contactado, gerou alguma inquietação e preocupação em mim, no entanto, esse problema rapidamente foi colmatado, através das formações e o apoio incondicional da equipa, que foram fulcrais para a execução das tarefas com êxito.

Para além disso, o facto de se tratar de uma empresa extremamente recente, que nunca tinha recebido estagiários, contribuiu para a minha insegurança inicial.

Assim, tive o privilégio de ser a primeira estagiária da Basinnov, o que numa fase inicial via como uma circunstância de vulnerabilidade, celeremente se assumiu como um ponto mais positivo do estágio, uma vez que toda a equipa centrou a sua atenção e esforços na minha evolução com o propósito de alcançarmos os objetivos com sucesso.

### 3.2.2 Conhecimento limitado de ferramentas de Microsoft Excel

Um dos pontos menos positivos da minha prestação, tendo em conta que, por vezes, condicionava o tempo que demorava a executar as tarefas, foram os escassos conhecimentos das ferramentas de Microsoft Excel.

Neste sentido, é imprescindível colmatar esta lacuna, assim, ambiciono investir em formação para me familiarizar e aumentar o meu *know-how* neste campo.

### **3.3 Oportunidades**

#### **3.3.1 Estágio Diferenciador**

Tal como mencionado, a FFUC permite aos estudantes de MICF ter a oportunidade de estagiar em Indústria Farmacêutica, adquirindo conhecimentos e competências essenciais direcionadas para este sector, previamente à entrada no mercado de trabalho, o que, na minha opinião, é um fator diferenciador para um futuro acesso nesta vertente.

Ao longo do estágio, a execução das tarefas propostas, proporcionou-me o contacto prático com uma ampla variedade de indústrias farmacêuticas nacionais e internacionais, grupos farmacoterapêuticos e diferentes apresentações de medicamentos, o que culminou no desenvolvimento e aquisição de novas perceções. Este contacto com a realidade do sector elucidou-me acerca da abrangência do mercado farmacêutico.

Por último, evidencio as competências adquiridas e desenvolvida que também contribuíram para que considerasse este estágio um pouco distinto.

#### **3.3.2 Competências Adquiridas e Desenvolvidas**

Destaco as competências adquiridas e desenvolvidas no âmbito da farmacoeconomia, onde verifiquei a importância do farmacêutico no sector da Indústria Farmacêutica, assim como, a relevância das noções de farmacoeconomia para o bom funcionamento do sector.

Para além disso, o estágio permitiu-me desenvolver aptidões informáticas, sendo que o uso do Microsoft Excel fazia parte das atividades do quotidiano.

Outra tarefa do dia-a-dia, consistia na pesquisa e recolha de informação de bases de dados, como o IQVIA e sites de agências regulamentares europeias, tal como já referido. É, neste contexto, que evidencio as competências de pesquisa que conquistei e otimizei, através de conhecimentos mais precisos e pertinentes no âmbito da operacionalização das práticas de pesquisa e a sua aplicação.

### **3.4 Ameaça**

#### **3.4.1 Empresa recente**

Tal como supramencionado, a Basinnov é uma empresa extremamente recente, criada em 2019, o que, naturalmente, pode gerar alguma insegurança e levar a que os estudantes de MICF optem por outros estágios em detrimento deste.

Para além disso, a empresa consiste numa área um pouco distinta, profundamente dependente da constante evolução do mercado, a nível económico e científico, e de uma pesquisa e atualização constante e assertiva.

#### **4. Considerações Finais**

Durante o estágio, tive oportunidade entender a realidade do sector da Indústria Farmacêutica, assim como, adquirir competências técnico-científicas que conduziram ao meu crescimento científico e pessoal.

A Basinnov ensinou-me e incentivou-me a utilizar dados, tecnologia e conhecimento científico para desenvolver um sistema de cuidados de saúde mais resiliente, eficiente e inovador e, assim, alcançar resultados consideravelmente positivos e atrativos para o negócio e para a saúde dos pacientes.

Findo o estágio, tenho a agradecer à FFUC, pela oportunidade de estágio, e à Basinnov, pela integração proporcionada e, pelo acompanhamento incansável e partilha contínua e construtiva de conhecimentos, que fizeram deste estágio uma experiência enriquecedora e instrutiva. A constante boa-disposição e o espírito de cooperação foram aspetos basilares para o balanço positivo que faço deste estágio.

Um muito obrigado à Basinnov.



## Referências Bibliográficas

1. FHC. *Grupo FHC*. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.fhcthefutureofhealthcare.pt/pt/grupo-fhc>
2. IQVIA. *IQVIA Portugal*. [Acedido a 12 agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.iqvia.com/pt-pt/locations/portugal>
3. INFARMED. *Base de dados de medicamentos*. [Acedido a 12 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/links/bases-dados-medicamentos>

## **PARTE III**

### **MONOGRAFIA “ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DO ISOEUGENOL”**

Orientadora: Professora Doutora Maria Teresa Rosete

## Lista de Abreviaturas

**ACh** - acetilcolina

**AChE** - acetilcolinesterase

**AHL** - acil-homoserina lactonas

**AMPK** - proteína cinase ativada por AMP

**APP** - proteína precursora do peptídeo amilóide

**ARE** - elemento de resposta antioxidante

**ASI60** - via do substrato Akt I60

**A $\beta$**  - peptídeo  $\beta$ -amilóide

**A $\beta$ I-40** - Peptídeo  $\beta$ -amilóide de 40 aminoácidos

**A $\beta$ I-42** - Peptídeo  $\beta$ -amilóide de 42 aminoácidos

**BACE 1** - *beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1*

**C83** - fragmento C-terminal de 83 aminoácidos

**C99** - fragmento C-terminal com 99 aminoácidos

**CIM** - Concentração Inibitória Mínima

**COX-2** - Cicloxigenase-2

**DA** - Doença de Alzheimer

**DAC** - Dermatite de Contato Alérgica

**DM** - Diabetes Mellitus

**ECM** - Matriz extracelular

**EG** - Eugenol

**EpRE** - elemento de resposta eletrofílica

**ERK1/2** - cinases reguladoras de sinal 1 e 2

**FM I** - Mistura de Fragrâncias I

**GAPDH** - Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

**GCL** - glutamato-cisteína ligase

**GLUT4** - transportador de glicose tipo 4

**GSH** - Glutathiona

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - peróxido de hidrogénio

**HAR** - aldose redutase humana

**HIF1A** - gene do fator 1-alfa induzível por hipoxia

**HO $\cdot$**  - radical hidroxilo

**HO-I** - heme oxigenase-I

**HSA** - albumina sérica humana

**HSC** - hidrofobicidade da superfície celular  
**IC<sub>50</sub>** - concentração inibitória média  
**IEG** - Isoeugenol  
**IL-1** - Interleucina 1  
**IL-6** - Interleucina 6  
**IL-8** - Interleucina 8  
**INF- $\alpha$**  - Interferão  $\alpha$   
**iNOS** - isoforma indutível da sintase do óxido nítrico  
**Keap1** - *Kelch-like ECH-associated protein 1*  
**K<sub>i</sub>** - constante de inibição  
**LOX-5** - Lipoxigenase-5  
**LPS** - lipopolissacarídeo  
**MAPK** - proteína cinase ativada por agentes mitogénicos  
**MMP-1** - Metaloproteinase 1 da matriz  
**MMP-2** - Metaloproteinase-2 da matriz  
**MMP-9** - Metaloproteinase 9 da matriz  
**NaAsO<sub>2</sub>** - arsenito  
**NADPH** - Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina  
**NFTs** - *Neurofibrillary Tangles*  
**NF- $\kappa$ B** - *nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells*  
**NMDA** - N-Metil-D-Aspartato  
**NO** - Óxido Nítrico  
**NOS** - Sintase do Óxido Nítrico  
**NQ-1** - NADPH:quinona oxidoreductase I  
**NQO1** - NAD(P)H:quinona desidrogenase-I  
**Nrf2** - *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*  
**O<sub>2</sub><sup>-•</sup>** - radical superóxido  
**OLG** - Oligodendrócitos  
**PGE2** - Prostaglandina E2  
**PKC $\alpha$**  - proteína quinase C- $\alpha$   
**PS1** - presenilina-1  
**PS2** - presenilina-2  
**QM** - metilideno quinona  
**QS** - *Quorum Sensing*  
**rod** - proteínas hidrofobinas

**ROS** - Espécies Reativas de Oxigênio

**RXR  $\alpha$**  - recetor  $\alpha$  do retinóide X

**TNF- $\alpha$**  - Fator de Necrose tumoral  $\alpha$

**VEGFA** - gene do *fator de crescimento endotelial vascular*

## Resumo

O Isoeugenol é um composto fenólico proveniente de várias plantas, extensamente utilizado na indústria alimentar e cosmética. Dada as suas características, é considerado um alergénio cutâneo, contudo as evidências científicas têm revelado que esta particularidade não é única nem limitante, constatando que apresenta atividades farmacológicas significativas como antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, antidiabético e antitumoral.

Esta monografia foca-se nas atividades farmacológicas do Isoeugenol e no seu potencial terapêutico e aplicabilidade em diversas patologias associadas ao stresse oxidativo e inflamação. Neste sentido, é evidenciado um mecanismo extremamente relevante neste âmbito, a via do Fator Nuclear Eritroide Tipo 2 (do inglês, *nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 - Nrf2*).

De salientar, a Doença de *Alzheimer*, uma doença neurodegenerativa, onde resultados científicos sugerem que o Isoeugenol pode ter um papel distinto e considerável, através da via do Keap1-Nrf2, prevenindo ou alterando o decurso da patologia.

**Palavras-chave:** Isoeugenol; Nrf2; Keap1; stresse oxidativo; antioxidante; inflamação; Doença de *Alzheimer*.

## **Abstract**

Isoeugenol is a phenolic compound from various plants, widely used in the food and cosmetic industry. Given its characteristics, it is considered a skin allergen, however scientific evidence has revealed that this feature is neither unique nor limiting, noting that it has significant pharmacological activities such as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, antidiabetic and antitumor.

This monograph focuses on the pharmacological activities of Isoeugenol and its therapeutic potential and applicability in several pathologies associated with oxidative stress and inflammation. In this sense, an extremely relevant mechanism in this context is evidenced, the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) pathway.

Of particular note is Alzheimer's disease, a neurodegenerative disease, where scientific results suggest that Isoeugenol may have a distinct and considerable role, through the Keap1-Nrf2 pathway, preventing or altering the course of the pathology.

**Keywords:** Isoeugenol; Nrf2; Keap1; oxidative stress; antioxidant; inflammation; Alzheimer's disease.

## 1. Introdução

A comunidade científica, desde muito cedo que se debruçou no “*drug discovery*”, a investigação de novos e promissores compostos ativos presentes em extratos de plantas, a fim de identificar farmacóforos essenciais para a criação racional de novos fármacos,

Assim, a enorme biodiversidade que existe no nosso planeta, aliada à crescente e contínua investigação minuciosa, através de vários métodos analíticos, tem culminado na descoberta de novos medicamentos.

Os extratos provenientes das plantas são dotados de compostos com características específicas, como a estrutura química, que lhes conferem atividades farmacológica. Portanto, apresentam um vasto leque de aplicabilidades na indústria, desde a alimentar à farmacêutica.

De entre os compostos obtidos de material vegetal, destacam-se os óleos essenciais, obtidos por extração ou destilação de moléculas voláteis, que são, maioritariamente, constituídos por compostos terpenos e aromáticos.

É neste contexto que surge este trabalho, onde se pretende explorar e aprofundar a relevância de um composto específico, o Isoeugenol (IEG).

O Isoeugenol é um alergénio cutâneo, como tal apresenta alguma toxicidade, contudo quando administrado por via oral tem revelado atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antidiabética, antitumoral e, mais recentemente, tem-se investigado o seu potencial farmacológico em doenças neurodegenerativas, particularmente, na Doença de Alzheimer (DA).

Um dos mecanismos cruciais para o desempenho das atividades farmacológicas centra-se na via *Kelch-like ECH-associated protein 1- nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Keap1-Nrf2), que se tem revelado extremamente relevante nesta temática.

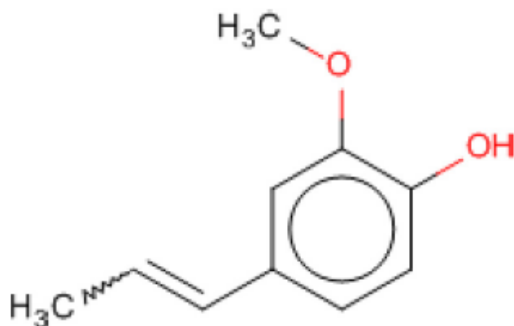
## 2. Isoeugenol

### 2.1 Caracterização

O Isoeugenol (*2-methoxy-4-(1-propenyl)phenol*), é um isómero do eugenol (EG), e está presente em diversos alimentos, como aromatizante, e em extratos de plantas, nomeadamente, nos óleos essenciais derivados do Cravo-da-Índia (da planta *Eugenia caryophyllata*), noz-moscada (*Myristica fragrans*) e canela (*Cinnamomum verum*).<sup>1</sup>



Os óleos essenciais de plantas, ervas ou especiarias constituem uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis, ou seja, de baixo peso molecular, extraído de plantas aromáticas através de métodos de extração que preservam os compostos aromáticos das plantas, nomeadamente a destilação a vapor e a extração por solventes. Os óleos essenciais podem ser categorizados em quatro grupos com base na sua estrutura química: terpenos, terpenóides, fenilpropanóides e um grupo contendo outros produtos de degradação metabólica de plantas. <sup>2</sup>



**Figura 1.** Estrutura química do Isoeugenol. Adaptado de <sup>1</sup>

O IEG é um fenilpropanóide, tal como representado na figura 1, uma vez que apresenta um grupo fenol ligado a uma cadeia lateral de três carbonos (propeno). A sua estrutura confere especificidades que permitem o desempenho de ações antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e, ainda, outras em investigação, como antidiabética e antitumoral, que serão abordadas de seguida.

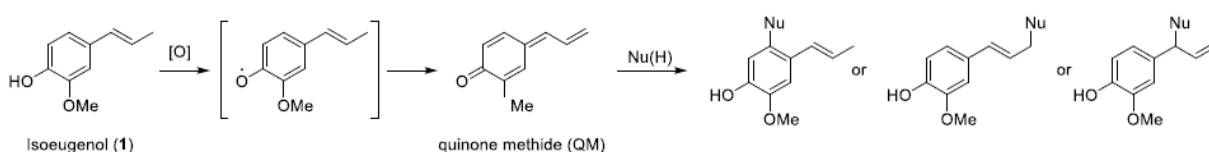
Para além da indústria alimentar, também é amplamente utilizado na indústria cosmética e de fragâncias, contudo está comprovado que se trata de um alergénio cutâneo, estando incluído entre os oito constituintes de mistura de fragâncias I (FM I) usado em testes de contacto de rotina e entre os 26 ingredientes de fragâncias cosméticas que devem ser declarados na lista de ingredientes em produtos comerciais regulamentados pela Diretiva de Cosméticos da União Europeia. <sup>3</sup>

## 2.2 Alergénio cutâneo

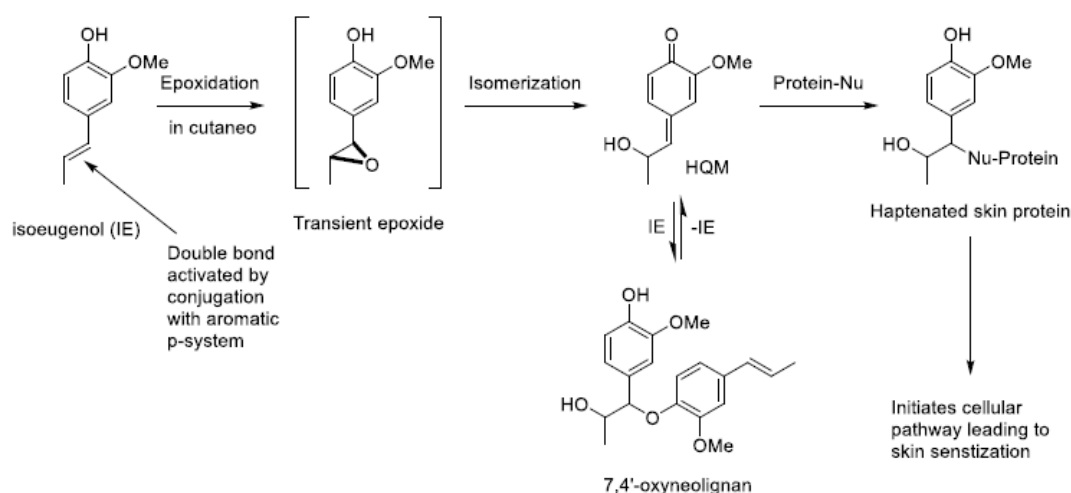
O IEG é um alergénio cutâneo e, tal como a maioria, é um composto eletrofílico, tem a capacidade de aceitar eletrões e, portanto, reagir com grupos doadores de eletrões, os nucleófilos das moléculas. Neste sentido, o IEG é considerado um aceitador de *Michael* que, reage com os nucleófilos presentes na pele, desencadeando dermatite de contato alérgica (DAC). <sup>3,4</sup>

A sensibilização cutânea resulta de uma ligação covalente dos haptenos aos aminoácidos nucleofílicos presentes em proteínas da pele, mecanismo conhecido como Evento de Iniciação Molecular que pode ocorrer diretamente ou através de uma ativação biótica por enzimas da pele ou por meio de uma ativação química (oxidação).<sup>3</sup>

O IEG pode ser considerado um pré-hapteno devido às suas propriedades pró-oxidantes, tendo em conta que, pode sofrer oxidação pela remoção de um átomo de hidrogénio do grupo  $-C_3H_5$ , formando a metilideno quinona (QM) (Figura 2), ou pode, diretamente ou através de um dímero oxidativo, originar um intermediário epóxido transitório que se isomeriza rapidamente formando a metilideno hidroxiquinona (Figura 3).<sup>5</sup>



**Figura 2.** Via de formação do intermediário eletrofílico: metilideno quinona. Adaptado de<sup>5</sup>



**Figura 3.** Via de formação do intermediário eletrofílico: metilideno hidroxiquinona. Adaptado de<sup>5</sup>

Estes compostos eletrofílicos intermediários, a metilideno quinona (QM) e metilideno hidroxiquinona,<sup>5</sup> quando em contacto com os grupos amino e tiol das proteínas da pele, podem desencadear reações covalentes, ativando vias imunológicas que culminam no desenvolvimento da DAC.

Um estudo<sup>6</sup> realizado com o intuito de comparar a atividade antioxidante e pró-oxidante do IEG e do eugenol (EG), investigou a citotoxicidade, a produção de espécies reativas de oxigénio (do inglês, *Reactive Oxygen Species* - ROS) e os níveis celulares de glutationa (GSH) induzidos por ambos os compostos numa linha celular submandibular humana. Face aos resultados, concluíram que o IEG atua como antioxidante e anti-inflamatório

em baixas concentrações, enquanto em concentrações mais elevadas, atua como pró-oxidante e alergénio cutâneo, uma vez que revelou um aumento da produção de ROS e uma redução significativa dos níveis de GSH, essencial para colmatar o stresse oxidativo induzido por ROS.<sup>6</sup>

A produção de ROS contribui para a degradação de proteínas, processos de ubiquitinação e interfere com a progressão do ciclo celular, podendo em concentrações elevadas levar à apoptose celular. Esta atividade pró-oxidante corrobora o mencionado na literatura, especificamente de, que o IEG é um alergénio cutâneo moderado.<sup>6</sup>

### **3. Via NRF2 e sua relevância em biomedicina**

#### **3.1 Via do NRF2**

O stresse oxidativo desempenha um papel fundamental na iniciação e progressão de várias doenças crónicas, nomeadamente, diabetes, cancro e doenças neurodegenerativas.

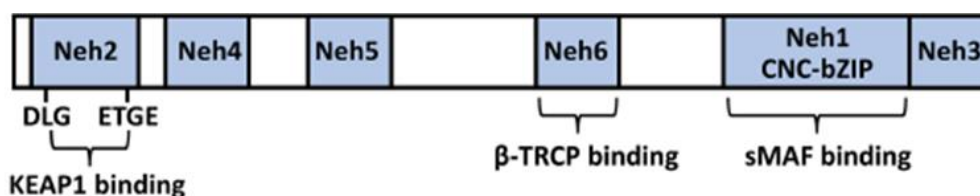
As células estão constantemente expostas a oxidantes e eletrófilos, resultantes de processos enzimáticos e fatores endógenos e exógenos. Num contexto fisiológico, consegue-se manter a homeostasia, através do equilíbrio entre a produção de ROS, como o radical superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ )<sup>7</sup>, e os níveis de antioxidantes, como a glutamato-cisteína ligase (GCL), NADPH:quinona oxidorreductase I (NQ-1), heme oxigenase-I (HO-1), entre outros<sup>8</sup>.

O stresse oxidativo ocorre quando o equilíbrio oxidante/antioxidante é interrompido, em resultado de sistemas de defesa comprometidos e produção exacerbada de radicais livres. Geralmente, este distúrbio desencadeia efeitos prejudiciais nos ácidos nucleicos, proteínas, lípidos e suas membranas, e, portanto, danos tecidulares e morte celular.<sup>8</sup>

Neste âmbito, o mecanismo mais relevante, que funciona como resposta protetora ao stresse oxidativo e eletrofilico, envolve a via Keap1-Nrf2, por meio da regulação da expressão génica.

O Nrf2 é um fator de transcrição (fator 2 relacionado ao NF-E2) que foi identificado devido à capacidade de se ligar ao local NF-E2 no conjunto de genes  $\beta$ -globina.<sup>7</sup>

Estruturalmente, o fator de transcrição está dividido em sete domínios de homologia Nrf2-ECH (Neh) diferentes com funções distintas, tal como representado na Figura 4.<sup>7,9,10</sup>



**Figura 4.** Estrutura da proteína Nrf2. Adaptado de <sup>11</sup>

O domínio Neh1 em Nrf2 (Figura 4) compreende a região CNC-bZIP conservada e é essencial para a sua atividade como fator de transcrição e heterodimerização com outras proteínas bZIP. Destaca-se o domínio Neh2 (Figura 4), que contém uma porção N-terminal que controla negativamente a atividade de Nrf2 e é crucial para a repressão do fator de transcrição mediada pela proteína Keap1 (do inglês, *Kelch like ECH associated protein 1*). A porção C-terminal do domínio Neh3 está envolvida na ativação transcricional de Nrf2. Os domínios Neh4 e Neh5 que assumem a transativação do Nrf2, atuam cooperativamente na ligação da proteína de ligação CREB co-ativadora, aumentando assim sinergicamente os níveis de transcrição do gene. O domínio Neh6 controla negativamente o Nrf2 e é responsável pela regulação independente de Keap1. Por fim, Neh7 inclui uma região envolvida na interação direta entre a porção proteica de Nrf2 e o domínio de ligação ao DNA do recetor  $\alpha$  do retinóide X (RXR  $\alpha$ ), culminando na supressão da atividade do Nrf2 ao impedir o recrutamento de co-ativadores para os domínios Neh4 e Neh5. <sup>7,9,10</sup>

O Nrf2 regula diretamente a expressão basal mediante condições homeostáticas, e a expressão induzida de um vasto leque de genes envolvidos na resposta ao stresse oxidativo. <sup>7,9,10</sup>

Assim sendo, controla a expressão de 250 genes envolvidos numa multiplicidade de funções celulares que englobam a proteção contra fatores endógenos e exógenos, o metabolismo de lípidos, hidratos de carbono e xenobióticos e que codificam antioxidantes e enzimas essenciais nas vias antioxidantes, como glutational S-transferases e NAD(P)H:quinona desidrogenase-I (NQO1), enzimas da via das pentoses fosfato que contribuem para a formação de NADPH, entre outras. <sup>11</sup>

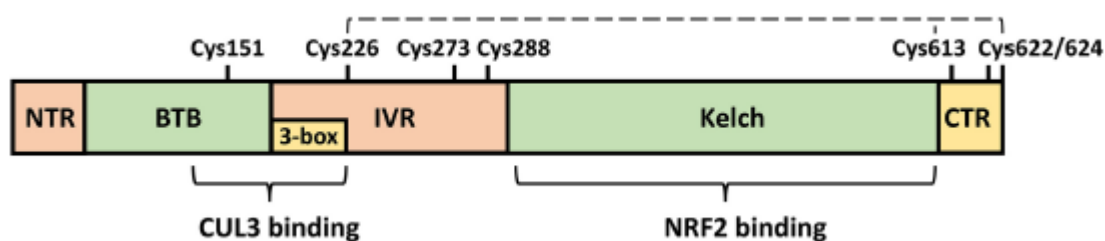
Segundo Baird & Yamamoto, a sequência 5'-TGACNNNGC-3' do *NFE2L2* revelou ser responsável pelo aumento da expressão génica em resposta a indutores eletrofílicos e stresse oxidativo, sendo conhecida como elemento de resposta antioxidante (ARE) ou elemento de resposta eletrofílica (EpRE). <sup>11</sup>

A ativação e atividade da via Keap1-Nrf2 engloba os indutores químicos da atividade de Nrf2, o sensor proteico Keap1, o fator de transcrição que modula a resposta transcricional

e o stresse oxidativo e, ainda, os genes alvo responsáveis pela atividade protetora da via do Nrf2.<sup>10,11</sup>

Os compostos químicos que desencadeiam a via do Nrf2 têm propriedades eletrofílicas, sendo considerados ácidos de Lewis (aceitador de elétrons), uma vez que têm capacidade para reagir com nucleófilos (dadores de elétrons) das moléculas. Estes eletrófilos são extremamente reativos e atacam os resíduos de cisteína da Keap1.

Estruturalmente (Figura 5), a Keap1 compreende cinco domínios, uma região N-terminal (NTR), proteína-proteína bric-à-brac (BTB) no domínio de interação, uma região intermediária (IVR), um domínio de repetição dupla de glicina C-terminal (DGR), o denominado *kelch* que liga ao Nrf2, e uma região C-terminal (CTR).<sup>7,11</sup>



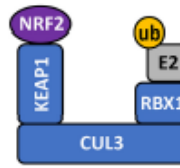
**Figura 5.** Estrutura da proteína Keap1. Adaptado de <sup>11</sup>

Keap1 é uma proteína dimérica <sup>7</sup> que integra uma ubiquitina ligase E3, encontra-se no citoplasma e regula negativamente a atividade de transcrição do Nrf2, encaminhando-o para a ubiquitinação e degradação dependente do proteossoma.<sup>7,9-11</sup>

Contudo, a interação dos eletrófilos com os resíduos de cisteína reativos de Keap1, levam à sua inativação. Assim, ocorre a estabilização de Nrf2 e a via de degradação é inibida, levando à dissociação do Nrf2 e translocação para o núcleo, culminando com a modulação da atividade de Nrf2, através da transcrição de genes antioxidantes e anti-inflamatórios.<sup>7,9-11</sup>

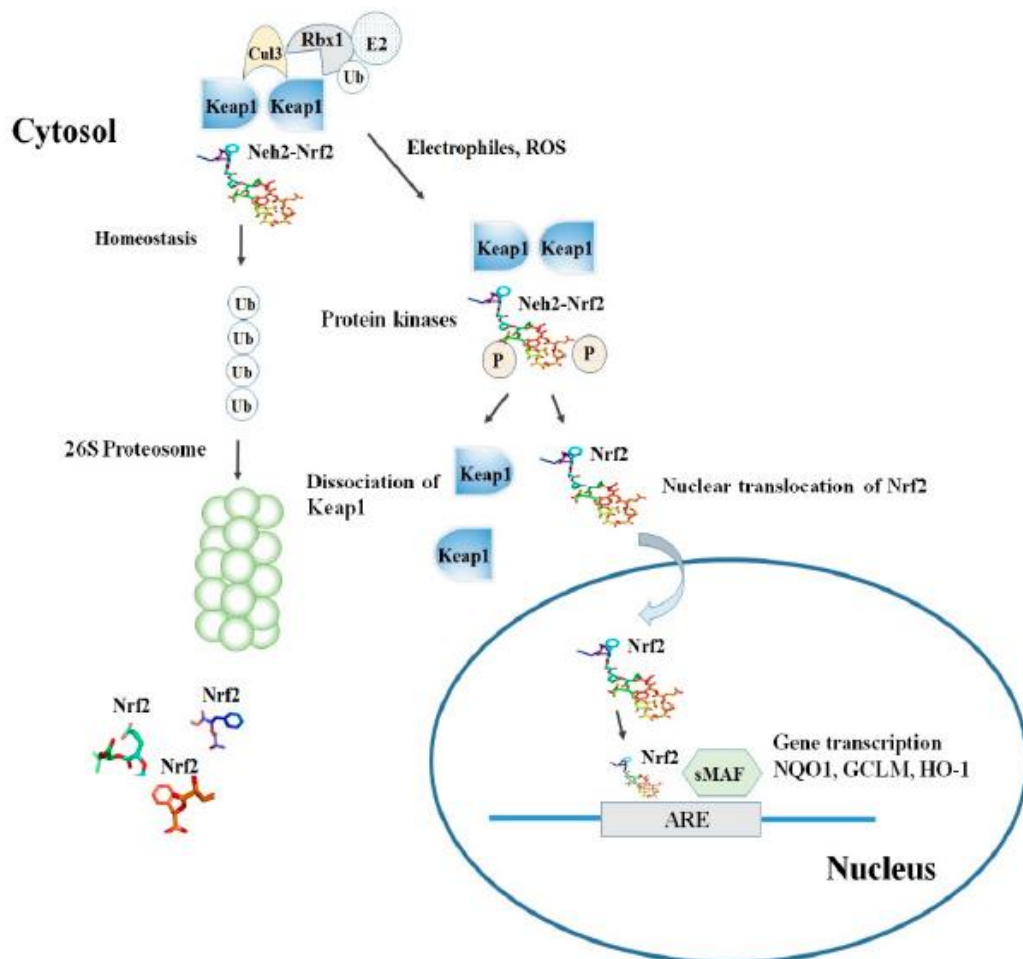
Detalhadamente, sabe-se que a Keap1 está acoplada a um complexo Keap1-CUL3-RBX1 E3 ubiquitina ligase (Figura 6), sendo que a Keap1 funciona como o adaptador de substrato, ou seja, a RBX1 liga-se à enzima conjugadora de E2-ubiquitina carregada com ubiquitina e CUL3 permite a ligação do Keap1 e RBX1. O complexo funciona para orientar corretamente o Keap1, ligado ao Nrf2, e o RBX1, ligado ao E2, para facilitar a ubiquitinação do Nrf2.<sup>9-11</sup>

Perante a inativação por parte de um eletrófilo, ocorre uma alteração conformacional no complexo E3 ligase, o Nrf2 deixa de estar corretamente orientado com a enzima conjugadora E2-ubiquitina ligada a RBX1 e, portanto, não ocorre degradação de Nrf2.<sup>9-11</sup>



**Figura 6.** Complexo Keap1-CUL3-RBX1 E3 ubiquitina ligase. Adaptado de <sup>11</sup>

Em suma, na figura 7 está representada a via do Nrf2, em que em condições homeostáticas, ocorre a sua degradação via proteossoma, e em condições de stresse ou mediante a presença de eletrófilos, ocorre a dissociação do Keap1-Nrf2 e, conseqüentemente, a transcrição de genes com papel preponderante na inflamação, stresse oxidativo e, portanto, com interesse terapêutico em várias doenças.<sup>10</sup>



**Figura 7.** Complexo Keap1-CUL3-RBX1 E3 ubiquitina ligase. Adaptado de <sup>10</sup>

### 3.2 Relevância em Biomedicina

Com o envelhecimento ocorre um declínio da resposta adaptativa das vias antioxidantes, aumento da produção de oxidantes, atividade menos eficiente do proteossoma, imunossenescência e redução significativa da eficiência da via de sinalização Nrf2, pelo que a homeostasia é comprometida. Assim sendo, ocorre um aumento do stresse oxidativo acompanhado por aumento proporcional de danos celulares, contribuindo para a fisiopatologia e a progressão de várias doenças, incluindo doenças cardiovasculares, inflamatórias (Artrite Reumatóide), neurodegenerativas (Doença de *Alzheimer*), oncológicas, diabetes (cataratas, nefropatia diabética) e síndrome metabólica. <sup>8,11</sup>

Face ao conhecimento e relevância da via Nrf2 em diversas vias metabólicas e na sinalização celular, julga-se que a indução/ativação da via de Nrf2 poderá ser interessante como um potencial alvo para a terapêutica de uma ampla gama de doenças, dado que contribui para a redução do impacto do stresse oxidativo e inflamação. <sup>8</sup>

Perante o exposto, atualmente, assiste-se a uma investigação exponencial desta via associada a distúrbios neurodegenerativos, como Doença de Parkinson, Esclerose Múltipla, Doença de Huntington, Doença de *Alzheimer* e Esclerose Lateral Amiotrófica. <sup>7</sup>

### 3.3 Doença de *Alzheimer*

O aumento da esperança média de vida impacta significativamente o número de casos de doenças neurodegenerativas. É expectável que aumentem exponencialmente, visto que a incidência de tais patologias está diretamente relacionada com envelhecimento. <sup>12,13</sup>

Neste sentido, destaca-se a DA caracterizada pela perda progressiva de memória e de outras funções cognitivas e comportamentais, sendo a principal causa de demência a nível mundial. <sup>12</sup>

A DA pode manifestar-se de duas formas, a hereditária ou esporádica. A forma hereditária (ou início precoce), que aparece em indivíduos com idade inferior a 65 anos e corresponde a cerca de 1-5% dos casos, envolve uma componente genética e pode estar relacionada com mutações nos genes que codificam a proteína precursora amilóide (APP, do inglês, *Amyloid-beta precursor protein*), presenilina-1 (PS1) e presenilina-2 (PS2). Em contrapartida, a forma esporádica (ou de início tardio), aparece em indivíduos com idade superior a 65 anos, corresponde a cerca de 95 % dos casos, apresentando maior suscetibilidade a fatores ambientais. <sup>13</sup>

As estratégias terapêuticas atualmente disponíveis centram-se apenas nos sintomas, não na causa, portanto não modificam a progressão da doença. Tal facto, prende-se com a etiologia da DA não ser completamente conhecida, existindo diversas teorias e mecanismos fisiopatológicos ainda por clarificar.<sup>12,14</sup>

Neuropatologicamente, a DA é caracterizada pela acumulação e precipitação extracelular do peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $A\beta$ ) e, conseqüente formação de placas amilóides/senis, por depósitos intraneuronais de emaranhados neurofibrilares (NFTs, do inglês, *Neurofibrillary Tangles*), neuroinflamação e pela perda progressiva de sinapses.<sup>13-15</sup>

Tal como supramencionado, a etiologia da DA ainda não é completamente conhecida, portanto são diversas as teorias que a comunidade científica considera para explicar a fisiopatologia da doença, nomeadamente a teoria da cascata amilóide, da hiperfosforilação da TAU, neuroquímica (colinérgica, glutamatérgica/excitotoxicidade), stresse oxidativo e inflamação e a hipótese da apoE4.<sup>13-15</sup>

### **3.3.1 Teoria da Cascata Amilóide**

As placas de  $\beta$ -amilóide consistem em aglomerados extracelulares de péptido  $A\beta$  insolúveis que resultam da clivagem anormal do precursor da proteína amilóide (APP).<sup>16</sup>

A APP é uma proteína transmembranar que se encontra em diferentes tipos de células, como neurónios, astrócitos, oligodendrócitos (OLG) e células da glia, e pode ser metabolizada pela via amiloidogénica ou não amiloidogénica, através de sucessivas clivagens por ação das enzimas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  secretases.<sup>16</sup>

Em condições fisiológicas a APP segue a via não amiloidogénica, é clivada pela enzima transmembranar  $\alpha$ -secretase formando o fragmento extracelular solúvel  $\alpha$ -APPs, que não apresenta neurotoxicidade, e um fragmento C-terminal de 83 aminoácidos (C83), que permanece ligado à membrana plasmática, sendo posteriormente clivado pela  $\gamma$ -secretase, originando o fragmento p3.<sup>14-16</sup>

Na via amiloidogénica, a APP é clivada pela a enzima transmembranar  $\beta$ -secretase (ou *beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1* - BACE 1) e pela enzima intramembranar  $\gamma$ -secretase, formando os fragmentos  $\beta$ -APPs e um fragmento C-terminal com 99 aminoácidos (C99). Posteriormente, o C99 é clivado pela  $\gamma$ -secretase formando dois peptídeos, dependendo do local da clivagem: o peptídeo  $\beta$ -amilóide de 40 aminoácidos ( $A\beta$ 1-40), de menor tamanho e solúvel, e o peptídeo  $\beta$ -amilóide de 42 aminoácidos ( $A\beta$ 1-42) que apresenta



maior tamanho e hidrofobicidade, contribuindo, assim, de forma mais significativa para a formação das placas senis. <sup>14-16</sup>

A formação, acumulação e deposição do peptídeo A $\beta$  no exterior dos neurónios leva à formação de placas amilóides, que interferem com a comunicação sináptica entre os neurónios e desencadeiam processos de neuroinflamação e stresse oxidativo. <sup>14-16</sup>

### 3.3.2 Teoria da Hiperfosforilação da TAU

Os microtúbulos neuronais fazem parte do citoesqueleto dos neurónios e são fundamentais para a manutenção da estrutura celular, transporte intracelular de substâncias e movimentação de organelos celulares, desde o corpo celular até ao axónio, e são de extrema importância para a transmissão e propagação de estímulos neuronais. Em condições fisiológicas, a proteína tau é responsável pela estabilização dos microtúbulos e, consequentemente, da manutenção das suas funções. <sup>15</sup>

Quando ocorre hiperfosforilação, a proteína tau dissocia-se dos microtúbulos e agrega-se sob a forma de filamentos helicoidais, originando tranças neurofibrilares, os NFTs, resultando no bloqueio do transporte axonal de nutrientes e de outras moléculas no interior dos neurónios, culminando na morte celular. <sup>15</sup>

### 3.3.3 Teoria Neuroquímica

**Hipótese colinérgica:** Em estados mais avançados da DA, há um decréscimo dos níveis de acetilcolina (ACh) em resultado da diminuição drástica do número de neurónios colinérgicos. A acetilcolina é um neurotransmissor presente nas regiões que envolvem a memória, pelo que o seu declínio está diretamente ligado ao défice cognitivo. <sup>15</sup>

A acetilcolina liga-se a dois tipos de recetores diferentes: os muscarínicos e os nicotínicos; os recetores pré-sinápticos nicotínicos influenciam a libertação de outros neurotransmissores, nomeadamente, glutamato, serotonina, norepinefrina, implicados na DA e relacionados com a memória e o humor. <sup>15</sup>

**Hipótese glutamatérgica/excitotoxicidade:** Na DA o glutamato acumula-se na fenda sináptica e está constantemente a ativar os recetores pós sinápticos N-Metil-D-Aspartato (NMDA), levando a um influxo crónico de cálcio induzindo um estado de hiperpolarização e, consequentemente, de excitotoxicidade e morte neuronal por apoptose. Esta acumulação pode resultar da diminuição dos locais de recaptção do glutamato ou de anormalidades no seu transportador. <sup>15</sup>

### 3.3.4 Teoria inflamatória crônica e do stresse oxidativo

Os processos de formação de placas senis e NFTs estão profundamente relacionados com o stresse oxidativo e a neuroinflamação, pelo que é indubitável a importância do seu papel na progressão da DA.<sup>15</sup>

Na DA a microglia, células imunitárias do Sistema Nervoso Central (SNC), é ativada em resposta à formação e deposição de placas senis e de NFTs, resultando na produção e libertação de mediadores inflamatórios, nomeadamente citocinas pró-inflamatórias, ROS, entre outras. Estes processos inflamatórios decorrentes da neuroinflamação, promovem a apoptose celular e danos na bainha de mielina.<sup>15</sup>

Para além disso, as placas  $\beta$ -amilóides induzem a peroxidação lipídica e a formação de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio, que reagem facilmente com outras moléculas de forma a adquirir uma conformação mais estável. Desta ligação, resulta a libertação de radicais livres que contribuem para o stresse oxidativo e, por conseguinte, para danos celulares e moleculares, nomeadamente, em proteínas, lípidos, hidratos de carbono e ácidos nucleicos. Assim sendo, o stresse oxidativo desencadeia um quadro de neurotoxicidade e neuroinflamação.<sup>15</sup>

Neste âmbito, é de realçar a via supramencionada relativa ao fator nuclear Nrf2 e a sua relevância neste campo, sendo que é essencial na homeostase celular e responsável pela transcrição de genes antioxidantes e anti-inflamatórios. É, portanto, evidente o potencial de um ativador da via do Nrf2 como estratégia para colmatar o stresse oxidativo e a neuroinflamação presente em quadros clínicos de doentes com DA e, assim, prevenir ou atrasar o decurso da patologia.<sup>4</sup>

## 4. Isoeugenol e Nrf2

Os alérgenos cutâneos possuem propriedades eletrofílicas e, como tal, são capazes de ativar a via do Nrf2, uma vez que reagem com os resíduos de cisteína presentes na Keap1, promovendo a sua dissociação do Nrf2 e, conseqüentemente, uma regulação genética direcionada para controlar e reduzir o stresse oxidativo e a inflamação. Sendo o IEG um alérgeno cutâneo com estas características, é possível refletir sobre o seu potencial terapêutico nas doenças neurodegenerativas, particularmente, na DA.<sup>7,9-11</sup>

Assim, o estudo realizado por Silva *et al.* (2020), avaliou o efeito de concentrações de alérgenos cutâneos, nomeadamente o IEG, em três características principais da DA: equilíbrio redox neuronal, homeostasia de cálcio e neuroinflamação. <sup>4</sup>

De acordo com os resultados do estudo, as células *wild-type* expressaram níveis superiores do gene *Hmox1*, responsável pelo papel anti-inflamatório e antioxidante, relativamente às células modelo de DA. Tal facto, corrobora os dados da literatura, relatando que o mecanismo dependente de ROS de ativação da via Nrf2 tornou-se insensível em modelos de DA, que apresentaram níveis nucleares de Nrf2 diminuídos, logo com menor expressão de genes essenciais para manter a homeostasia, como o *Hmox1*. <sup>4</sup>

Assim, este estudo sugere que os alérgenos eletrofilicos podem ter um papel importante na neutralização da neurodegeneração na DA, tendo em conta que os resultados revelaram que estes têm potencial para aumentar a expressão génica dependente de Nrf2, restaurar a homeostase do cálcio e a função mitocondrial dos neurónios. <sup>4</sup>

Dado que as evidências experimentais e o conhecimento acerca da fisiopatologia da DA, destacam a via do Nrf2 <sup>4</sup>, é de especial interesse considerar os estudos focados no alérgénio IEG, um aceitador de *Michael*, que é responsável por ativar esta via, e tirar ilações sobre a sua potencial aplicabilidade terapêutica nesta patologia.

Neste sentido, outro estudo recorreu a ferramentas computacionais para fazer uma investigação baseada em farmacologia de rede integrada, simulação de *docking* e dinâmica molecular, análise farmacocinética e de energia livre de ligação, a fim de avaliar o potencial de compostos de *Ocimum tenuiflorum*, nomeadamente o IEG, como possível terapêutica para doenças relacionadas com a Diabetes Mellitus (DM) e DA. <sup>17</sup>

De facto, estudos epidemiológicos sugerem uma forte relação entre hiperglicémia e o grau de disfunção cognitiva em pacientes diabéticos, pelo que a probabilidade de desenvolver DA é substancialmente superior em doentes com DM, em comparação com o resto da população saudável. <sup>17</sup>

O estudo revelou que o Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) está relacionado com DM e DA, podendo ser um potencial alvo terapêutico. Deste modo, a inibição de GAPDH poderá ser fulcral para reduzir a patogénese da DA associada à DM. <sup>17</sup>

Neste sentido, o gene *GAPDH* foi selecionado como alvo do estudo de interação e procedeu-se à análise do perfil farmacocinético, usando a regra dos cinco de *Lipinski* como

parâmetro essencial, e, ainda, fatores como biodisponibilidade oral, barreira hematoencefálica, tempo de semi-vida e lesão hepática induzida, para a triagem dos compostos fitoquímicos.<sup>17</sup>

Os resultados revelaram que o IEG é um candidato promissor, pelo que cumpre todos os parâmetros da análise farmacocinética, obedece à regra dos cinco de *Lipinski*, apresenta boa biodisponibilidade oral e não induz lesão hepática.<sup>17</sup>

De seguida, através da simulação de *docking* e dinâmica molecular, concluíram que o IEG apresentava a melhor afinidade de ligação (- 6,0 kcal/mol), maior interação não ligante (7) e de ligações de hidrogénio (2), que se estabelecem dentro do sítio ativo da enzima GAPDH. Ainda, o complexo GAPDH-IEG demonstrou ser o mais estável dentre os demais.<sup>17</sup> Para além disso, a ligação do IEG ao sítio hidrofóbico, supostamente ocupado pelo fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH), sugere que o IEG inibe a atividade da enzima.<sup>17</sup>

O estudo revelou, também, que o metabolismo do IEG através da CYP450 gera um epóxido correspondente, que poderia atuar como um potencial inibidor de GAPDH. O GAPDH tem uma capacidade aumentada para reagir com o epóxido, uma vez que o contacto com a porção fosfato leva à mudança da conformação da enzima e, assim, maior interação e, conseqüentemente, inibição.<sup>17</sup>

Em suma, as ferramentas computacionais permitiram fazer a triagem virtual do IEG de *Ocimum tenuiflorum* e constataram que, de todos os componentes fitoquímicos avaliados, o IEG é o melhor inibidor da GAPDH e o que revelou resultados mais satisfatórios e promissores.<sup>17</sup>

Os estudos realizados até ao momento indicam que o IEG é uma molécula promissora e com potencial terapêutico; não obstante esta temática carece de uma investigação mais exaustiva com recurso a modelos robustos de DA *in vitro* e *in vivo*, a fim de validar esta hipótese.

## 5. Atividades Farmacológicas

### 5.1 Antibacteriana

Nos últimos anos, a comunidade científica tem-se deparado com um dos problemas de saúde pública mais alarmantes atualmente, a necessidade acrescida de desenvolver medicamentos antimicrobianos para a resolução dos problemas associados à resistência aos antimicrobianos. É, portanto, neste contexto que vários estudos científicos têm investigado o potencial antimicrobiano de novas moléculas, nomeadamente do IEG.

A resistência a antibióticos caracteriza-se por um aumento da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que pode derivar de inúmeros mecanismos, nomeadamente, de sistema de bomba de efluxo, formação de biofilmes, entre outros.

Relativamente aos sistemas de bombas de efluxo, um estudo realizado para avaliar a capacidade do IEG inibir as bombas de efluxo de *Staphylococcus aureus*, concluiu que o IEG interage e apresenta um potencial inibitório para 3 bombas de efluxo de *S. aureus*, a TetK, MepA e Qac A/B.<sup>18</sup>

Deste modo, o IEG demonstrou sinergismo quando em combinação com antibióticos, como a penicilina e, em menor expressão, com a ciprofloxacina e tetraciclina, uma vez que apresentou capacidade de interagir com as bombas de efluxo e valores de CIM inferiores em comparação com os antimicrobianos isolados, melhorando a sua eficácia.<sup>18</sup>

O estudo comprova esta interação com as bombas de efluxo através da diminuição do efluxo do fluorocromo brometo de etídio. Revela, ainda, que esta interação pode ocorrer de forma direta, através do radical hidroxilo do IEG, que forma pontes de hidrogénio com a bomba de efluxo, diminuindo a sua ação e, conseqüentemente, o efluxo de compostos antimicrobianos. Ou, de forma indireta, através do seu carácter hidrofóbico que proporciona interações lipofílicas com a membrana celular da bactéria. Também, constatou que o facto de possuir insaturação contribui para o supramencionado.<sup>18</sup>

A formação de biofilmes contribui significativamente para o crescimento exponencial da resistência aos antimicrobianos, pelo que se tornou imperativo uma evolução nesta área de investigação. Assim, é possível analisar vários estudos que mostram que o IEG tem atividade antimicrobiana através da inibição da formação de biofilmes.

Um biofilme é uma comunidade complexa e dinâmica de microrganismos que aderem a uma superfície e produzem polímeros extracelulares, em resposta a estímulos ambientais e

físicos (densidade celular, nutrição e tensões físicas), que facilitam a fixação e a formação de uma matriz que os reveste. Esta comunidade de microrganismos pode incluir bactérias, fungos filamentosos, leveduras e protozoários. <sup>19</sup>

É, ainda, relevante abordar o Sistema *Quorum Sensing* (QS) que consiste num mecanismo de sinalização celular. As bactérias, num determinado sistema, sintetizam compostos sinalizadores de baixo peso molecular, os auto-indutores bacterianos, que são excretados para o meio ambiente. Assim, os microrganismos de um biofilme libertam compostos metabólicos que agem como sinais químicos, mais especificamente, sinais de comunicação para o resto da microcolónia do biofilme em resposta a uma adaptação ao ambiente envolvente. Quando as bactérias detetam uma quantidade crítica de auto-indutores respondem ativando ou reprimindo certos genes. <sup>20</sup>

Este mecanismo possibilita a alteração da disponibilidade de nutrientes, a defesa contra microrganismos que competem pelos mesmos nutrientes, o condicionamento da expressão de proteínas em células vizinhas, a introdução de novas características genéticas e a deteção da densidade e quantidade de bactérias da mesma estirpe. Assim, permite às bactérias coordenar mecanismos das células individuais e, ainda, permite a fluência dos processos de estabelecimento de maturidade dentro do biofilme. <sup>20</sup>

O QS depende da interação de uma pequena molécula de sinal que se difunde com um sensor ou ativador transcricional para iniciar a expressão genética para atividades coordenadas. Os sistemas de deteção de *quorum* em bactérias incluem o sensor LuxI / LuxR em bactérias Gram-negativas, que usa acil-homoserina lactonas (AHL), e o tipo oligopeptídeo de dois componentes em bactérias Gram-positivas, que usam pequenos peptídeos como moléculas de sinal. <sup>20</sup>

Shastry *et al.*, avaliaram a supressão de múltiplos fenótipos reguladores de deteção de *Quorum sensing* e a formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* e, concluíram que o IEG reduz a expressão de virulência regulada pelo QS, visto que reduz os níveis dos fatores de virulência da *P. aeruginosa* (piocianina, ramnolipídio, exopolissacarídeo e enxame) e a motilidade da microcolónia (*swarming motility*), inibindo também a formação de biofilme. <sup>21</sup>

Outro estudo realizado com um revestimento antibacteriano de IEG em superfícies de aço inoxidável e polietileno revelou que o IEG pode, também, diminuir a proliferação de biofilmes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* e *Listeria monocytogenes*, desempenhando, então, o seu papel como antimicrobiano. <sup>22</sup>

Por último, outro estudo que pretendeu esclarecer o modo de ação antibacteriana do IEG em bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli*, e em Gram-positivas, *Listeria innocua*, concluiu que o IEG não afeta a morfologia celular, contudo altera a integridade, estrutura, fluidez, estabilidade e permeabilidade da membrana. Para além disso, sugere que o mecanismo de ação do IEG nas membranas citoplasmáticas se assemelha a um mecanismo não disruptivo do tipo detergente.<sup>2</sup>

Assim, o estudo propõe que o IEG, hidrofóbico, tende a interagir com membranas neutras e carregadas, formando ligações de hidrogénio entre as cadeias laterais polares do IEG e os grupos fosfato ou carbonilo da porção hidrofílica dos fosfolípidos constituintes da membrana celular. Considera, ainda, que o IEG ocupa um local específico na porção hidrofílica externa da membrana, afetando a estrutura lipídica e, por conseguinte, desestabilizando as membranas, tornando-as permeáveis e mais fluidas.<sup>2</sup>

Os estudos escrutinados corroboram o mencionado na literatura, ou seja, que o IEG apresenta atividade antibacteriana. Face aos estudos abordados, conclui-se que esta ação ocorre devido ao grupo hidroxilo livre, à ligação insaturada na posição  $\alpha$  e  $\beta$  da cadeia e ao grupo metilo na posição  $\gamma$  e, ainda, que pode ser realmente interessante e promissor o uso do IEG como antimicrobiano e em associação a antibióticos.<sup>2</sup>

## 5.2 Antifúngico

A problemática acima referida relativa à resistência aos antimicrobianos, aliada a terapêuticas antifúngicas disponíveis muito limitadas, tornou imprescindível a procura de potenciais moléculas antifúngicas.

Com base neste pressuposto, o IEG foi alvo de vários estudos, nomeadamente, um que avaliou o efeito do IEG no padrão de expressão do gene da hidrofobina conidial, *RodA*, e nos reguladores transcricionais, *MedA* e *SomA*, responsáveis pela aderência e formação de biofilme em *Aspergillus fumigatus*.<sup>23</sup>

A espécie *A. fumigatus* é uma das principais espécies fúngicas patogénicas, sendo responsável pela segunda infeção fúngica invasiva mais comum em imunodeprimidos. O referido agente patogénico possui múltiplos fatores de virulência como: moléculas de superfície de células conidiogénicas [camada de *rodlet*, DHN-melanina, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs)], metabolito secundário gliotoxina, termoestabilidade, formação de biofilme e componentes de stresse oxidativo.<sup>23</sup>

Tal como abordado anteriormente, também os fungos podem formar biofilmes, sendo este um dos fatores que mais contribui para a patogenicidade fúngica.

A camada de *rodlet* consiste num revestimento proteico presente à superfície dos conídios de *A. fumigatus*, que dificulta o reconhecimento do patogénico pela resposta imune do hospedeiro. O revestimento é composto por várias proteínas hidrofobinas (*rod*) codificadas pelos respetivos genes (*RodA-G*), sendo a *RodA* a mais relevante neste contexto. A *RodA* é a única hidrofobina responsável pela permeabilidade da camada externa, estabilidade, hidrofobicidade e evasão imunológica da superfície da parede celular dos conídios.<sup>23</sup>

Os genes reguladores *SomA* e *MedA* são responsáveis pela conidiogénese, adesão, homeostase da parede celular e formação de biofilme em *A. fumigatus*, e o gene *pksP* é responsável pela biossíntese de DHN-melanina. Sabe-se que o gene *SomA* afeta a expressão de *RodA*, conseqüentemente, de hidrofobina, impactando a homeostase da parede dos conídios.<sup>23</sup>

O estudo mencionado concluiu que o IEG reduziu a hidrofobicidade da superfície celular (HSC), pelo que se observou um aumento da molhabilidade dos conídios, redução significativa da formação de melanina, dado que o espectro UV-Vis mostrou uma redução da DHN-melanina. Para além disso, com o IEG registou-se uma ausência de protuberâncias na superfície externa da parede dos conídios e uma interferência na biossíntese dos componentes externos da Matriz extracelular (ECM), como galactomananas, galactosaminogalactanas, glucanas e proteínas.<sup>23</sup>

O IEG revelou, ainda, ser capaz de inibir a formação de hidrofobina nos conídios de *A. fumigatus*, resultando na alteração das propriedades da membrana dos conídios, aumento da fagocitose de esporos e na redução da adesão. O composto reduziu a expressão do gene *RodA*, responsável pela formação de *rodlets*, e dos reguladores transcricionais *MedA* e *SomA*, que regulam os genes responsáveis pela aderência, virulência e formação de biofilme em *A. fumigatu*. Concluindo, o IEG provou ser capaz de impedir a formação de biofilme e ter potencial para erradicá-lo.<sup>23</sup>

Outro estudo que pretendia avaliar a atividade antifúngica do IEG e acetamidas híbridas contra *Candida albicans* isolada da cavidade oral, mostrou resultados relevantes e concordantes com a investigação mencionada previamente.<sup>24</sup>



As espécies do género *Candida* apresentam diversos fatores de virulência, nomeadamente, a capacidade de transição morfológica, entre os estados de levedura e hifa, plasticidade fenotípica, formação de biofilme, produção e secreção de enzimas hidrolíticas, como fosfatases, lipases e hemolisinas, expressão de adesinas e invasinas e tigmotropismo.<sup>24</sup>

Os resultados do estudo revelaram que o IEG é um potencial inibidor das enzimas 14- $\alpha$ -desmetilase e delta-14-sterol redutase, interferindo na biossíntese e manutenção da membrana celular fúngica. Assim, demonstrou ser capaz de reduzir a formação de estruturas de virulência de *C. albicans*. Adicionalmente, o IEG demonstrou afetar a formação da parede celular fúngica e desestabilizar a membrana plasmática, através da inibição das bombas de prótons (H<sup>+</sup>-ATPase), que desencadeiam a acidificação intracelular e, conseqüentemente, a lise do microrganismo.<sup>24</sup>

Por fim, é sugerido, tal como no estudo previamente abordado, que o hidroxilo livre da cadeia aromática do IEG, juntamente com as propriedades moleculares, como hidrofobicidade, refratividade e geometria molecular, são parâmetros cruciais para a ação antifúngica que o IEG manifesta.<sup>24</sup>

Os resultados previamente mencionados corroboram o descrito na literatura, nomeadamente a capacidade do IEG inibir o crescimento fúngico, sendo, portanto, um candidato promissor para uma abordagem terapêutica antifúngica.

### 5.3 Anti-inflamatória

Tendo em conta o mecanismo abordado anteriormente, nomeadamente a capacidade do IEG ativar o Nrf2 e a sua relevância no âmbito da atividade anti-inflamatória, vários estudos sugerem o seu papel na prevenção e tratamento de diversas patologias associadas a processos inflamatórios.

Assim, a atividade anti-inflamatória também tem sido extensamente atribuída ao IEG, nomeadamente na sua capacidade de inibir a produção de mediadores inflamatórios e reduzir a resposta inflamatória. Portanto, podemos considerar a sua pertinência na prevenção e tratamento de diversas patologias associadas a processos inflamatórios, como artrite, doenças inflamatórias intestinais e neuroinflamação das doenças neurodegenerativas.

Kaur & Sultana (2012) investigaram a eficácia do IEG no tratamento da artrite induzida por adjuvante em modelo murino. A artrite é uma doença crónica, caracterizada por

inflamação das articulações do organismo e alterações destrutivas na cartilagem e osso, que causam dor, deformação e dificuldade no movimento. <sup>25</sup>

Os leucócitos ativados no tecido articular produzem vários mediadores pró-inflamatórios, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas 1, 6 e 8 (IL-1, IL-6, IL-8), Prostaglandina E2 (PGE2), Interferão alfa (INF- $\alpha$ ), entre outros, ocorrendo também aumento da expressão de metaloproteinases pelos fibroblastos, como as metaloproteinase 1 e 9 da matriz (MMP-1 e MMP-9), que desencadeiam a inflamação e degradação articular. <sup>25</sup>

O estudo analisou o efeito do IEG na cartilagem, dano ósseo e liberação dos principais mediadores pró-inflamatórios implicado na fisiopatologia da artrite. Assim, constatou-se que o IEG atenuou, consideravelmente e de forma dependente da dose, o índice artrítico, a circunferência da pata, a rigidez articular, o eritema, o edema e os níveis de mediadores pró-inflamatórios. Adicionalmente, o IEG demonstrou inibir a liberação de mediadores pró-inflamatórios, incluindo Óxido Nítrico (NO), PGE2 e TNF- $\alpha$  por macrófagos expostos a lipopolissacarídeo (LPS), e diminuir os níveis das enzimas pró-inflamatórias cicloxigenase-2 (COX-2) e isoforma indutível da sintase do óxido nítrico (iNOS). <sup>25</sup>

De salientar que em oposição ao verificado para a maioria dos fármacos anti-inflamatórios indicados para o tratamento da artrite, o IEG destaca-se por não apresentar efeitos adversos na mucosa gástrica. <sup>25</sup>

Deste modo, este estudo permitiu concluir que o IEG inibe significativamente o desenvolvimento de artrite suprimindo a inflamação, infiltração de leucócitos e danos na cartilagem e nos ossos, pelo que corrobora a atividade anti-inflamatória do IEG relatada na literatura. <sup>25</sup>

A fim de validar esta atividade anti-inflamatória, outro estudo investigou o efeito do IEG na sinalização do fator de transcrição NF- $\kappa$ B (do inglês, *nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells*), responsável pela expressão de iNOS na linha celular de macrófagos de ratinho RAW 264.7 estimulada com LPS. <sup>26</sup>

Os resultados do estudo indicaram uma diminuição nos níveis da proteína iNOS e na expressão de mRNA de Nos2, e, conseqüentemente, diminuição da produção de NO, conforme determinado por análise de Western blot e RT-PCR em tempo real, respectivamente. <sup>26</sup>

O estudo revelou que esta redução da proteína iNOS resultou da capacidade do IEG em bloquear a sinalização a montante da via do NF- $\kappa$ B, um regulador central de genes

envolvidos em respostas imunes e inflamatórias, nomeadamente ao nível da degradação do I- $\kappa$ B, da fosforilação extracelular das cinases reguladoras de sinal 1 e 2 (ERK1/2) e, de forma mais significativa, da proteína cinase ativada por agentes mitogénicos (MAPK), em células RAW 264.7 estimuladas por LPS. <sup>26</sup>

Para além disso, verificaram que o IEG reduziu substancialmente a atividade transcricional dependente de NF- $\kappa$ B, incluindo a iNOS, assim como, a sua atividade de ligação ao DNA, em resultado da diminuição da translocação nuclear de p65, uma das proteínas que forma o complexo NF- $\kappa$ B. <sup>26</sup>

O NF- $\kappa$ B existe principalmente no citoplasma sob a forma de homo ou heterodímeros complexados com uma proteína inibidora, I- $\kappa$ B. Após a ativação induzida por LPS ou pelo TNF- $\alpha$ , I- $\kappa$ B sofre fosforilação, ubiquitinação e degradação mediada por proteassoma, e o NF- $\kappa$ B é libertado de I- $\kappa$ B, migrando para o núcleo onde se liga ao DNA e ativa a transcrição dos seus genes alvo. <sup>26</sup>

Logo, este estudo demonstrou que o IEG possui propriedades anti-inflamatórias, uma vez que inibe a produção de NO e a expressão de iNOS, mediadores com papel importante nos processos inflamatórios. <sup>26</sup>

Os efeitos do IEG na produção de óxido nítrico também foram avaliados em macrófagos expostos a LPS no estudo realizado por Li e colegas e verificou-se que este composto inibiu a iNOS, reduzindo, assim, os níveis de NO. O estudo também revelou que a expressão dependente de LPS da proteína COX-2 foi marcadamente inibida pelo IEG. <sup>27</sup>

Outro estudo baseado em ensaios de *docking* molecular revelaram que o IEG tem o potencial de inibir as enzimas COX-2 e lipoxigenase-5 (LOX-5) e, conseqüentemente, a resposta inflamatória. <sup>28</sup>

Alharthy *et al*, (2023) destacaram uma relação entre polineuropatia diabética e a inflamação mediada pelo TNF- $\alpha$  acompanhada por uma acumulação de macrófagos em redor das células de Schwann. Os exames morfológicos indicaram que o dano causado pela estreptozotocina (indutor da DM) no nervo ciático foi acentuadamente reduzido após a administração de IEG e EG, assim, revelou que estes compostos atenuam os níveis de mediadores inflamatórios e oxidativos em ratos neuropáticos diabéticos. <sup>29</sup>

Por último, urge ressaltar a relevância da ativação da via do Nrf2, por parte do IEG, e o seu papel como regulador de genes anti-inflamatórios. Um novo mecanismo de inibição direta da inflamação por Nrf2 foi relatado, em que a via de Nrf2 suprime a resposta

inflamatória dos macrófagos, bloqueando diretamente a expressão de genes de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6.<sup>30</sup>

Os resultados dos estudos mencionados demonstram o potencial terapêutico do IEG contra doenças inflamatórias crônicas, tal como num contexto de neurodegeneração, como a DA, que se caracteriza por um nível aumentado e sustentado de iNOS.<sup>4</sup>

#### 5.4 Antioxidante

O IEG é um orto-metoxifenol, que apresenta propriedades pró-oxidantes, sendo um alérgico cutâneo, tal como referido anteriormente. Para além disso, sendo um composto fenólico, tem a capacidade de remover radicais livres (*scavenging*) e, portanto, em baixas concentrações apresenta atividade antioxidante.<sup>6</sup> A literatura engloba um amplo espectro de estudos *in vivo* e *in vitro* que comprovam esta atividade antioxidante.

Segundo Wang *et al.*, (2019) o IEG é capaz de interagir e proteger o DNA do timo de bezerro (ctDNA) de radicais hidroxilo.<sup>31</sup>

Noutro estudo, avaliou-se a eficácia neuroprotetora do IEG em murganhos expostos a acrilamida e os resultados revelaram uma redução dos níveis de ROS e NO e, conseqüentemente, do stresse oxidativo presente no cérebro dos murganhos expostos ao tóxico.<sup>32</sup>

Por fim, um estudo usou peixe-zebra (selvagem e mutante) para avaliar a atividade antioxidante de 10 fitoquímicos derivados de especiarias, nomeadamente do IEG, e analisar a sua dependência relativamente à via Nrf2. Assim, concluíram que o IEG possui atividade antioxidante, através da ativação da via Nrf2, demonstrando efeitos protetores contra a toxicidade do arsenito (NaAsO<sub>2</sub>) e, em menor expressão, do peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).<sup>33</sup>

Ainda, Alharthy e colegas evidenciaram a relação entre polineuropatia diabética e o stresse oxidativo, devido à supressão de enzimas antioxidantes no nervo ciático, e constataram que o tratamento de ratos diabéticos com IEG e EG diminuiu o dano oxidativo.<sup>29</sup>

Sendo o IEG um ativador da via do Nrf2, é um regulador de genes antioxidantes e, conseqüentemente, apresenta potencial terapêutico na prevenção e tratamento de diversas patologias associadas ao stresse oxidativo.

## 5.5 Antidiabético

O IEG é um ativador da via de Nrf2 e, como tal, tem revelado benefícios na área da diabetes. O estudo realizado por Tebay e colegas mostrou que ativadores de Nrf2 inibem o ganho de peso e aumentam o consumo de energia. Para além disso, regulam o stresse oxidativo desencadeado pela patogénese da doença, neste caso, uma hiperglicemia sustentada, podendo prevenir ou retardar a progressão de complicações decorrentes de um distúrbio oxidativo, como nefropatia, retinopatia e cardiomiopatia. Assim, o estudo sugere que os ativadores do Nrf2 podem ter potencial terapêutico no tratamento de complicações causadas pela DM.<sup>7</sup>

Ainda, o estudo revela a importância do Nrf2 na regulação da glicémia, sendo que, em ratos com Nrf2 ativado, por exemplo sob tratamento com IEG, apresentam índice glicémico mais baixo, melhor secreção e sensibilidade à insulina.<sup>7</sup>

A neuropatia diabética é uma complicação destrutiva amplamente prevalente, resultante da hiperglicemia, que desencadeia processos de peroxidação lipídica e aumento da produção de ROS nos nervos ciáticos, promovendo, assim, a disfunção nervosa e a diminuição do fluxo sanguíneo endoneural. Um estudo recente nesta temática demonstrou que ratos diabéticos administrados com IEG e EG por 45 dias consecutivos tiveram um declínio significativo (38,07 e 47,9%, respetivamente) dos níveis de glicose no sangue, sugerindo que o IEG tem capacidade de bloquear a hiperglicemia induzida por estreptozocina, o que corrobora a evidência de pesquisas anteriores que consideram a atividade antidiabética do IEG.<sup>29</sup>

A fim de elucidar sobre a temática, um estudo baseado em metodologias *in silico*, usando conceitos de farmacocinética, simulações de *docking* molecular, simulações de dinâmica molecular e estudos de energia livre de ligação, permitiu investigar o potencial antidiabético de *Ocimum tenuiflorum* para  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amilase, aldose redutase e glicação em múltiplos estágios.<sup>34</sup>

As simulações de *docking* molecular e de dinâmica molecular revelaram, respetivamente, que o IEG é capaz de inibir todas as enzimas alvo com uma eficiência de ligação superior ao comparador [acarbose para  $\alpha$ -glucosidase e  $\alpha$ -amilase, aminoguanidina para albumina sérica humana (HSA) e quercetina para aldose redutase humana (HAR)], e que, de todos os padrões, é o mais estável nos locais de ligação.<sup>34</sup>

Deste modo, Martiz e colegas demonstraram que o IEG atenua os sintomas de DM, como glicémia em jejum e hiperglicemia pós-prandial, por meio da inibição das dissacaridases,  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase, no lúmen intestinal.

Os resultados do estudo *in silico* sugerem que os fitoquímicos de *O. tenuiflorum* são potentes e podem atuar como inibidores de múltiplos alvos de DM. Ainda, mostraram que a maioria satisfaz a regra dos cinco de *Lipinski*, apresentando percentagens consideráveis de absorção oral. Em suma, o estudo constatou que o IEG apresenta potencial inibitório para vários alvos da DM.<sup>34</sup>

Um estudo realizado com o intuito de compreender melhor as funções hipoglicémicas do IEG nas células musculares esqueléticas de ratos (miotubos), verificou que o IEG ativou a proteína cinase ativada por AMP (AMPK), responsável por promover a captação de glicose na ausência de insulina, e aumentou a concentração intracelular de cálcio e a absorção de glicose.<sup>35</sup>

A AMPK é uma enzima que atua como sensor metabólico, ativada mediante redução do conteúdo energético celular, ou seja, aumento da relação AMP/ATP. Uma vez ativada, a AMPK fosforila diretamente enzimas reguladoras envolvidas nas vias metabólicas e, indiretamente, atua sobre a expressão génica, inibindo as vias que consomem ATP e estimulando as que o produzem. Desta forma, o IEG ativa a enzima, induzindo a captação de glucose e, por conseguinte, promove um efeito hipoglicémico.<sup>35</sup>

O estudo constatou, ainda, o aumento da fosforilação da proteína quinase C- $\alpha$  (PKC $\alpha$ ), da expressão do transportador de glucose tipo 4 (GLUT4) e da sua translocação para a membrana plasmática, a estimulação da fosforilação de p38MAPK e ativação da via do substrato Akt 160 (Akt160), que está a jusante da via p38MAPK. Assim, o estudo considera que o IEG é uma molécula promissora para o tratamento de DM.<sup>35</sup>

Por fim, Topal (2019) demonstrou, através do cálculo da constante de inibição ( $K_i$ ) e da concentração inibitória média ( $IC_{50}$ ), que o IEG apresenta excelentes efeitos inibitórios contra algumas enzimas metabólicas, como as enzimas acetilcolinesterase (AChE),  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase.<sup>36</sup>

As enzimas mencionadas ( $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase) têm um papel fulcral para a digestão de glicogénio e amido, sendo as responsáveis pela hidrólise de polissacarídeos. Assim, a sua inibição contribui para o atraso da absorção pós-prandial de glucose, impactando os níveis de glucose pós-prandial e, conseqüentemente, a hiperglicemia. Deste modo, o estudo revelou os efeitos anticolinérgicos e antidiabéticos do IEG, evidenciando a sua relevância no campo da DM e as suas complicações, tal como, nas doenças neurodegenerativas relacionadas com défices de acetilcolina, como DA.<sup>36</sup>

Face à análise dos estudos abordados, é plausível concluir que o IEG possui atividade hipoglicêmica e potencial terapêutico neste domínio. No entanto, torna-se fulcral uma investigação minuciosa e um maior foco por parte da comunidade científica no estudo da atividade antidiabética do IEG através de mais abordagens *in vitro* e *in vivo*.

## 5.6 Antitumoral

Na área da oncologia, vários estudos laboratoriais e ensaios clínicos com compostos químicos de plantas têm exibido potencial terapêutico e atividade promissora.<sup>28</sup> Neste sentido, também a atividade antitumoral do IEG tem sido alvo de investigação e tem demonstrado resultados bastante satisfatórios.

Bilgin e colegas investigaram os efeitos anticancerígenos, mais especificamente, através da avaliação da viabilidade celular, migração, apoptose e metástase, dos compostos fenólicos à base de IEG, *3-(1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)propil)benzeno-1,2-diol* e *4-(1-(2-hidroxi-4-metoxifenil)propil)-2-metoxifenol*, na linha celular de cancro colorretal HT29 *in vitro*.<sup>37</sup>

Relativamente à viabilidade celular e proliferação, através do ensaio de redução de MTT (*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazólio*) o estudo constatou que os compostos não tinham efeitos citotóxicos nas células HT29, no tempo e concentrações consideradas.<sup>37</sup>

No que concerne à migração, os ensaios realizados indicaram uma inibição considerável da migração de células HT29 após 24 h e 48 h de exposição aos compostos à base de IEG.<sup>37</sup>

Além disso, os níveis de expressão de mRNA de genes relacionados com a apoptose, como *TP53*, *BCL2*, *BAX*, *CASP3*, *CASP7*, *CASP8*, *CASP9*, e com a metástase, como *fator 1-alfa induzível por hipoxia (HIF1A)*, *fator de crescimento endotelial vascular (VEGFA)*, metaloproteinase-2 da matriz (*MMP-2*), *MMP-9*, foram analisados por PCR quantitativo em tempo real. Os resultados indicaram que os compostos inibiram a proliferação de células HT29 e induziram apoptose pelo aumento da relação Bax/Bcl2 e da expressão de mRNA dos genes apópticos (*TP53*, *CASP3* e *CASP9*) e metastásicos.<sup>37</sup>

Se por um lado os estudos indiciam uma atividade antitumoral marcada associada ao Nrf2, por outro lado existem evidências científicas que as mutações somáticas em Keap1 e Nrf2, que resultam na sobreexpressão constitutiva de Nrf2, estão associadas a uma variedade de tumores, uma vez que o Nrf2 permite que as células sobrevivam mediante condições oxidativas [elevados níveis de ROS e Sintase do Óxido Nítrico (NOS) gerados durante a proliferação].<sup>30</sup> Assim, o estudo menciona que para além dos efeitos anticancerígenos, os

ativadores de Nrf2, como IEG, podem conferir uma vantagem competitiva às células cancerígenas, contribuindo para a progressão de tumores.<sup>30</sup>

É, portanto, imprescindível que se aprofundem os conhecimentos nesta área científica, de modo a elucidar os mecanismos celulares e moleculares subjacentes e o papel anticancerígeno do IEG.

## **6. Formulação**

Tal como supramencionado, o IEG é um fenilpropanóide, ou seja, um composto volátil presente nos óleos essenciais das plantas. Perante esta particularidade, surgiu a necessidade de se desenvolverem estratégias específicas de encapsulamento do IEG através de sistemas com ciclodextrinas, lipossomas e, mais recentemente, sistemas de lipossomas com ciclodextrina.<sup>38</sup>

Neste sentido, destaca-se o sistema de lipossomas com ciclodextrina que, de acordo com os estudos, permite a redução da volatilidade e o aumento da solubilidade do IEG, da estabilidade das vesículas e da capacidade de carga do fármaco. Ainda, permite uma retenção mais eficaz do IEG, resultando numa libertação sustentada que possibilita superar as barreiras fisiológicas, como a acidez e o tempo de esvaziamento do trato gastrointestinal, e ter uma ação mais direcionada, tornando-se mais eficaz do ponto de vista farmacológico.<sup>38</sup>

Para além disso, o referido sistema pode ser otimizado com recurso a agentes antimicrobianos e antioxidantes que, previnem a deterioração microbiana de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos durante o armazenamento.<sup>38</sup>



## Conclusão

O IEG é um composto fenólico encontrado em várias plantas, como cravo-da-índia, manjeriço, noz-moscada e canela. Tendo em conta as suas características e potenciais atividades farmacológicas, tem sido alvo de vários estudos científicos.

Embora os conhecimentos neste campo ainda careçam de estudos mais específicos e aprofundados, alguns estudos preliminares propõem que o IEG é uma molécula promissora com potencial terapêutico num vasto leque de patologias.

O IEG apresenta características eletrofílicas, que lhe confere alguma toxicidade, sendo considerado um alergénio cutâneo. No entanto, também está associado a diversas atividades farmacológicas, como antibacteriana, antifúngica antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética e antitumoral.

Assim, o IEG tem demonstrado capacidade para neutralizar os radicais livres, inibir a produção de mediadores inflamatórios, inibir o crescimento de bactérias patogénicas, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, e o crescimento de fungos, como *Candida albicans*, reduzir a glicémia e, ainda, inibir o crescimento de células tumorais e induzir a apoptose.

Várias evidências científicas demonstram que o IEG tem um papel significativo na redução do stresse oxidativo e da resposta inflamatória, contribuindo consideravelmente para a prevenção de diversas patologias associadas a estes *hallmarks* e melhorando o seu decurso.

De realçar, o IEG é um ativador da via do Nrf2 e, como tal, é um regulador de genes antioxidantes e anti-inflamatórios, que sustentam a sua relevância em biomedicina, nomeadamente no âmbito das doenças neurodegenerativas associadas a neuroinflamação.

Apesar do conhecimento até à data, é imprescindível uma pesquisa mais aprofundada de modo a entender na íntegra o potencial terapêutico do IEG e a sua aplicabilidade nas diversas patologias, com particular destaque na Doença de *Alzheimer*.

## Referências Bibliográficas

1. Api, A. M., Belsito, D., Bhatia, S., Bruze, M., Calow, P., Dagli, M. L., Dekant, W., Fryer, A. D., Kromidas, L., La Cava, S., Lalko, J. F., Lapczynski, A., Liebler, D. C., Miyachi, Y., Politano, V. T., Ritacco, G., Salvito, D., Schultz, T. W., Shen, J., ... Wilcox, D. K. (2016). RIFM fragrance ingredient safety assessment, isoeugenol, CAS Registry Number 97-54-1. Em *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 97, pp. S49–S56). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.12.021>
2. Hyldgaard, M., Mygind, T., Piotrowska, R., Foss, M., & Meyer, R. L. (2015). Isoeugenol has a non-disruptive detergent-like mechanism of action. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUL). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00754>
3. Ahn, J., Avonto, C., Chittiboyina, A. G., & Khan, I. A. (2020). Is Isoeugenol a Prehaptent? Characterization of a Thiol-Reactive Oxidative Byproduct of Isoeugenol and Potential Implications for Skin Sensitization. *Chemical Research in Toxicology*, 33(4), 948–954. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00501>
4. Silva, A., Pereira, M., Carrascal, M. A., Brites, G., Neves, B., Moreira, P., Resende, R., Silva, M. M., Santos, A. E., Pereira, C., & Cruz, M. T. (2020). Calcium modulation, anti-oxidant and anti-inflammatory effect of skin allergens targeting the Nrf2 signaling pathway in alzheimer's disease cellular models. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms21207791>
5. Ahn, J., Avonto, C., Pandey, P., Khan, S. I., Khan, I. A., Roberts, D. W., & Chittiboyina, A. G. (2023). Chemistry of Isoeugenol and Its Oxidation Products: Mechanism and Kinetics of Isoeugenol as a Skin Sensitizer. *Chemical Research in Toxicology*, 36(5), 747–756. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00407>
6. Atsumi, T., Fujisawa, S., & Tonosaki, K. (2005). A comparative study of the antioxidant/prooxidant activities of eugenol and isoeugenol with various concentrations and oxidation conditions. *Toxicology in Vitro*, 19(8), 1025–1033. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.04.012>
7. Tebay, L. E., Robertson, H., Durant, S. T., Vitale, S. R., Penning, T. M., Dinkova-Kostova, A. T., & Hayes, J. D. (2015). Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease. Em *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 88, Número Part B, pp. 108–146). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.021>

8. Zhang, H., Davies, K. J. A., & Forman, H. J. (2015). Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging. Em *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 88, Número Part B, pp. 314–336). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.036>
9. Robledinos-Antón, N., Fernández-Ginés, R., Manda, G., & Cuadrado, A. (2019). Activators and Inhibitors of NRF2: A Review of Their Potential for Clinical Development. Em *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/9372182>
10. Saha, S., Buttari, B., Panieri, E., Profumo, E., & Saso, L. (2020). An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. Em *Molecules (Basel, Switzerland)* (Vol. 25, Número 22). NLM (Medline). <https://doi.org/10.3390/molecules25225474>
11. Baird, L., & Yamamoto, M. (2020). The Molecular Mechanisms Regulating the KEAP1-NRF2 Pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 40(13). <https://doi.org/10.1128/mcb.00099-20>
12. Gale, S. A., Acar, D., & Daffner, K. R. (2018). Dementia. Em *American Journal of Medicine* (Vol. 131, Número 10, pp. 1161–1169). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2018.01.022>
13. Pereira, C. F., Santos, A. E., Moreira, P. I., Pereira, A. C., Sousa, F. J., Cardoso, S. M., & Cruz, M. T. (2019). Is Alzheimer's disease an inflammasomopathy? Em *Ageing Research Reviews* (Vol. 56). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100966>
14. Kumar, A., Singh, A., & Ekavali. (2015). A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: An update. Em *Pharmacological Reports* (Vol. 67, Número 2, pp. 195–203). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.09.004>
15. Morrison, A. S., & Lyketsos, C. (2005). *THE PATHOPHYSIOLOGY OF ALZHEIMER'S DISEASE AND DIRECTIONS IN TREATMENT* (Vol. 3, Número 8). <http://www.alzheimers.org/unraveling/04.htm>.
16. Folch, J., Ettcheto, M., Petrov, D., Abad, S., Pedrós, I., Marin, M., Olloquequi, J., & Camins, A. (2018). *NEUROLOGÍA Review of the advances in treatment for Alzheimer disease: strategies for combating-amyloid protein* (Vol. 33, Número 1). [www.elsevier.es/neurologia](http://www.elsevier.es/neurologia)
17. Martiz, R. M., Patil, S. M., Abdulaziz, M., Babalghith, A., Al-Areefi, M., Al-Ghorbani, M., Kumar, J. M., Prasad, A., Nagalingaswamy, N. P. M., & Ramu, R. (2022). Defining the Role of Isoeugenol from *Ocimum tenuiflorum* against Diabetes Mellitus-Linked Alzheimer's Disease through Network Pharmacology and Computational Methods. *Molecules*, 27(8). <https://doi.org/10.3390/molecules27082398>

18. de Sousa Júnior, D. L., Cordeiro, P. P. M., dos Santos Barbosa, C. R., Muniz, D. F., de Sousa Silveira, Z., Macêdo, N. S., de Lacerda Neto, L. J., de Freitas, T. S., dos Santos, J. F. S., Coutinho, H. D. M., de Oliveira, L. C. C., & da Cunha, F. A. B. (2021). Evaluation of isoeugenol in inhibition of *Staphylococcus aureus* efflux pumps and their toxicity using *Drosophila melanogaster* model. *Life Sciences*, 285. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119940>
19. Patel, R. (2005). Biofilms and antimicrobial resistance. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 437, 41–47. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000175714.68624.74>
20. Li, Y. H., & Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. Em *Sensors* (Vol. 12, Número 3, pp. 2519–2538). <https://doi.org/10.3390/s120302519>
21. Shastry, R. P., Kanekar, S., Pandial, A. S., & Rekha, P. D. (2022). Isoeugenol suppresses multiple quorum sensing regulated phenotypes and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAOI. *Natural Product Research*, 36(6), 1663–1667. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1899174>
22. Nielsen, C. K., Subbiahdoss, G., Zeng, G., Salmi, Z., Kjems, J., Mygind, T., Snabe, T., & Meyer, R. L. (2018). Antibacterial isoeugenol coating on stainless steel and polyethylene surfaces prevents biofilm growth. *Journal of Applied Microbiology*, 124(1), 179–187. <https://doi.org/10.1111/jam.13634>
23. Gupta, L., Sen, P., Bhattacharya, A. K., & Vijayaraghavan, P. (2022). Isoeugenol affects expression pattern of conidial hydrophobin gene RodA and transcriptional regulators MedA and SomA responsible for adherence and biofilm formation in *Aspergillus fumigatus*. *Archives of Microbiology*, 204(4). <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02817-w>
24. Medeiros, D., Oliveira-Júnior, J., Nóbrega, J., Cordeiro, L., Jardim, J., Souza, H., Silva, G., Athayde-Filho, P., Barbosa-Filho, J., Scotti, L., & Lima, E. (2020). Isoeugenol and hybrid acetamides against *Candida albicans* isolated from the oral cavity. *Pharmaceuticals*, 13(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ph13100291>
25. Kaur, G., & Sultana, S. (2012). Evaluation of antiarthritic activity of isoeugenol in adjuvant induced arthritis in murine model. *Food and Chemical Toxicology*, 50(8), 2689–2695. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.016>
26. Choi, C. Y., Park, K. R., Lee, J. H., Jeon, Y. J., Liu, K. H., Oh, S., Kim, D. E., & Yea, S. S. (2007). Isoeugenol suppression of inducible nitric oxide synthase expression is mediated

- by down-regulation of NF- $\kappa$ B, ERK1/2, and p38 kinase. *European Journal of Pharmacology*, 576(1–3), 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.07.034>
27. Li, W., Tsubouchi, R., Qiao, S., Haneda, M., Murakami, K., & Yoshino, M. (2006). Inhibitory action of eugenol compounds on the production of nitric oxide in RAW264.7 macrophages. *Em Biomedical Research* (Vol. 27, Número 2).
28. Kourkoumelis, N., Kovala-Demertzi, D., Zarlaha, A., Kourkoumelis, N., Stanojkovic, T. P., & Kovala-Demertzi, D. (2014). Cytotoxic activity of essential oil and extracts of *Ocimum Basilicum* against human carcinoma cells. Molecular docking study of isoeugenol as a potent cox and lox inhibitor N-protecting groups: carbamates and cyclic ureas, modified synthetic method and pharmacological evaluation View project 173032 View project CYTOTOXIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL AND EXTRACTS OF OCIMUM BASILICUM AGAINST HUMAN CARCINOMA CELLS. MOLECULAR DOCKING STUDY OF ISOEUGENOL AS A POTENT COX AND LOX INHIBITOR. *Em Article in Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* (Vol. 9, Número 3). <https://www.researchgate.net/publication/263587011>
29. Alharthy, K. M., Balaha, M. F., Devi, S., Altharawi, A., Yusufoglu, H. S., Aldossari, R. M., Alam, A., & Giacomo, V. Di. (2023). Ameliorative Effects of Isoeugenol and Eugenol against Impaired Nerve Function and Inflammatory and Oxidative Mediators in Diabetic Neuropathic Rats. *Biomedicines*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041203>
30. Cuadrado, A. (2016). NRF2 in neurodegenerative diseases. *Em Current Opinion in Toxicology* (Vol. 2, pp. 46–53). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2016.09.004>
31. Wang, R., Hu, X., Pan, J., Zhang, G., & Gong, D. (2019). Interaction of isoeugenol with calf thymus DNA and its protective effect on DNA oxidative damage. *Journal of Molecular Liquids*, 282, 356–365. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.03.018>
32. Prasad, S. N., & Muralidhara. (2013). Neuroprotective efficacy of eugenol and isoeugenol in acrylamide-induced neuropathy in rats: Behavioral and biochemical evidence. *Neurochemical Research*, 38(2), 330–345. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0924-9>
33. Endo, Y., Muraki, K., Fuse, Y., & Kobayashi, M. (2020). Evaluation of antioxidant activity of spice-derived phytochemicals using zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3). <https://doi.org/10.3390/ijms21031109>
34. Martiz, R. M., Patil, S. M., Thirumalapura Hombegowda, D., Shbeer, A. M., Alqadi, T., Al-Ghorbani, M., Ramu, R., & Prasad, A. (2022). Phyto-Computational Intervention of

- Diabetes Mellitus at Multiple Stages Using Isoeugenol from *Ocimum tenuiflorum*: A Combination of Pharmacokinetics and Molecular Modelling Approaches. *Molecules*, 27(19). <https://doi.org/10.3390/molecules27196222>
35. Kim, N., Lee, J. O., Lee, H. J., Lee, Y. W., Kim, H. I., Kim, S. J., Park, S. H., Lee, C. S., Ryoo, S. W., Hwang, G. S., & Kim, H. S. (2016). AMPK, a metabolic sensor, is involved in isoeugenol-induced glucose uptake in muscle cells. *Journal of Endocrinology*, 228(2), 105–114. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0302>
36. Topal, F. (2019). Anticholinergic and antidiabetic effects of isoeugenol from clove (*Eugenia caryophyllata*) oil. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 583–592. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1597882>
37. Bilgin, S., Erden Tayhan, S., Yıldırım, A., & Koç, E. (2023). Investigation of the effects of isoeugenol-based phenolic compounds on migration and proliferation of HT29 colon cancer cells at cellular and molecular level. *Bioorganic Chemistry*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.106230>
38. Hammoud, Z., Gharib, R., Fourmentin, S., Elaissari, A., & Greige-Gerges, H. (2020). Drug-in-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin-in-lipoid S100/cholesterol liposomes: Effect of the characteristics of essential oil components on their encapsulation and release. *International Journal of Pharmaceutics*, 579. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119151>