



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

MARCELO LEONEL CAETANO

**ATIVIDADE DE COMPLEXOS DE VANÁDIO COMO
HIPOGLICEMIANTES PARA TRATAMENTO DE *Diabetes mellitus*
TIPO2**

Assis
2012

MARCELO LEONEL CAETANO

ATIVIDADE DE COMPLEXOS DE VANÁDIO COMO
HIPOGLICEMIANTE NO TRATAMENTO DO DIABETES *mellitus* TIPO
2

Trabalho de conclusão de curso de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Leiva de Faria

Área de Concentração: Química

Assis
2012

FICHA CATALOGRÁFICA

CAETANO, Marcelo Leonel

Atividade de complexos de vanádio como hipoglicemiantes para tratamento de Diabetes *mellitus* Tipo 2/ Marcelo Leonel Caetano. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2012.

86p.

Orientador: Mary Leiva de Faria.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Diabetes *mellitus*. 2.Vanádio. 3.Insulina.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

ATIVIDADE DE COMPLEXOS DE VANÁDIO COMO
HIPOGLICEMIANTES NO TRATAMENTO DO DIABETES *mellitus*
TIPO 2

MARCELO LEONEL CAETANO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação,
analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Leiva de Faria

Analisador: Prof. Dr. Idécio Nogueira da Silva

Assis
2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho em especial à minha filha, Júlia Theodoro Caetano, que hoje com apenas 4 anos e 10 meses, foi quem me deu forças com seus “inocentes sorrisos” e toda sua alegria para que eu conseguisse atingir mais este objetivo.

Não menos importante, à minha mãe, pela dedicação e todo o carinho do mundo que ela me oferece além de todo apoio nos momentos mais difíceis de minha vida.

Ao meu pai e meu irmão por serem exemplos de pessoas batalhadoras e que proporcionaram a construção de meu perfil profissional.

À minha orientadora e amiga Mary Leiva de Faria, pelo exemplo no direcionamento da coordenação do curso de química e todo seu apoio na elaboração desta pesquisa, bem como me enriquecer com sua maneira singular de ensinar; também por sua força ao encarar as barreiras impostas pela vida.

A todos meus amigos, pela paciência e companherismo nestes 4 anos.

A todos alunos que sabem, como é difícil conciliar estudos, trabalho e família.

AGRADECIMENTOS

Mesmo que a palavra “OBRIGADO” signifique tanto, irá ser pouco aos lembrados aqui. Agradeço a ...

Deus por me dar saúde e sabedoria para superar inúmeras dificuldades durante toda minha vida.

A toda minha família, minha filha Júlia, mãe Cleuza, pai Adalberto e irmão Marcio, além de sua esposa Regiane, que são meus pilares, para seguir firme neste objetivo.

Aos professores Mary, Martins, Idélcio, Ébano, Marta, Gilcelene e Nilson pela dedicação diferenciada na execução de suas atividades, motivando nós alunos.

À minha namorada e amiga Grazielle, que se parece muito comigo em relação a atitudes, preferências. Agradeço por estar do meu lado, me apoiando nos meus altos e baixos, com uma paciência sem limites. Sempre com muito carinho.

À minha amiga Fernanda, a proFERssora do nosso grupo de estudos. Estudamos praticamente para todas as provas juntos e ainda ajudou neste TCC. Fora da facul ainda estava presente me apoiando em momentos difíceis, uma verdadeira irmã. Sendo assim agradeço a paciência de sua mãe e seu irmão, já que tomei o sofá para descansar e mesa para estudar.

A meu amigo Rafael Bertoldi, que se aproximou após a desistência dos “Dalits”, e demonstrou ser um ótimo companheiro a quem agradeço pela ajuda nos estudos e pesquisas.

A meu amigo João Artur (sem H), um cara pronto para qualquer fervero, que não tenha leite.

A meu amigo Clóvis “canelinha de ouro”, um companheiro incontestável! Me identifico com ele, principalmente em suas atitudes profissionais. Força de vontade e esforço é teu sobrenome.

A meu amigo Lucas, estudamos parte do 3º e todo 4º ano, praticamente um Idélcio Jr. Um companheiro em estudos, relatórios e práticas laboratoriais.

A empresa Biorigin – ZILOR, que acreditou em minha capacidade como profissional e estudante, financiando parte dos gastos com a faculdade, e leva a frase APRENDER SEMPRE, uma de suas razões de ser, ao pé da letra.

Aos meus amigos de trabalho, que sem eles não teria conseguido chegar até aqui. Em especial ao David, Eduardo Loosli, Luis Fernando, Cristiano Jr., Ricardo Oliveira, Erivelto, Lucas, Samuel, Thiago, Lucas Talon, Charles, Júlio, Crisão, Meire e Flademir.

A todos que por maneira direta ou indireta ajudaram a todos se formarem.

♪ E nossa história não estará pelo avesso assim,
Sem final feliz.
Teremos coisas bonitas pra contar.
E até lá, vamos viver
Temos muito ainda por fazer.
Não olhe pra trás
Apenas começamos.
O mundo começa agora
Apenas começamos. ♪

Metal contra as nuvens
Renato Russo
(1960-1996)

RESUMO

A doença Diabetes é caracterizada por ser uma doença crônica degenerativa causada por anormalidades no organismo do indivíduo, onde ocorre uma redução na produção ou redução do efeito biológico do hormônio, insulina. Esta patologia divide-se em dois tipos de síndrome: *Diabetes insipidus* (urina “ sem sabor”) e *Diabetes mellitus* (urina “ doce como mel”). Dentre os tipos de diabetes, a *mellitus* tipo 2 é a que tem maior destaque mundial. O tratamento é realizado com Insulina-terapia, administração de composto insulino-miméticos e paralelamente a mudança no estilo de vida do paciente, com dietas adequadas e aumento da atividade física. Para obtenção da insulina, que é uma proteína eucariótica, é requerida extração de grandes quantidades de matéria-prima (pâncreas suíno e bovino), e estes geralmente apresentam elevado custo, ou, nem sempre estão disponíveis. Outra opção é a produção via engenharia genética, que resulta em uma quantidade insuficiente e também com alto custo. Neste contexto, os complexos de Vanádio surgem como uma alternativa no tratamento da DM tipo 2, pois podem ser utilizados como mimetizadores da ação da insulina, atuando como co-fator das enzimas envolvidas no metabolismo, facilitando o transporte e a oxidação da glicose do tecido adiposo, estimulando a síntese do glicogênio no fígado. Assim, este trabalho teve como objetivo pesquisar a ação de complexos de Vanádio (IV) e (V) como insulino-miméticos no tratamento da síndrome Diabetes *mellitus*. Os mecanismos que explicam os efeitos hipoglicêmicos dos complexos de oxovanádio ainda não estão bem elucidados. Acredita-se que somente o íon oxovanádio atue no metabolismo dos carboidratos. Assim, são necessários ligantes com a função de facilitar a transposição das barreiras celulares, e estabilizar o composto dentro do organismo, antes de entrar para o meio intracelular. Todos os dados de literatura indicam que em um futuro próximo novos e promissores complexos de coordenação de vanádio serão candidatos em potencial na terapia via oral, visto que alguns complexos já estão sendo utilizados via intramuscular, reduzindo a quantidade necessária de Insulina sintética e/ou semissintética.

Palavras-chave: Diabetes; Vanádio; Insulina.

ABSTRACT

The Diabetes syndrome is characterized by a degenerative chronic disease caused by abnormalities in the body of the individual, where there is a reduction production or reduction of the biological effect of the hormone, insulin. This pathology is divided into two types of syndrome: *insipidus* Diabetes (urine "tasteless") and *mellitus* Diabetes (urine "sweet as honey"). Among the types of diabetes, the *mellitus* type 2 is the one that has greater global prominence. The treatment is done with insulin therapy, administration of insulin-mimetic compound and parallel change in the lifestyle of the patient, with adequate diets and increased physical activity. For obtaining insulin, which is a eukaryotic protein, is required large extractions of raw material (bovine and porcine pancreas), and these generally exhibit high cost, or are not always available. Another option is the production by genetic engineering, which results in an insufficient and also costly quantity. In this context, the Vanadium complexes emerge as an alternative in the treatment of MD (*mellitus* Diabetes) type 2 because they can be used as mimics of insulin action, acting as a co-factor of enzymes involved in the metabolism, facilitating the transport and the glucose oxidation of fatty tissue by stimulating the synthesis of glycogen in the liver. So this study has aimed to investigate the action of complexes of vanadium (IV) and (V) as insulin-mimetics in the treatment of *mellitus* Diabetes syndrome. The mechanisms explaining the hypoglycemic effects of the oxovanadium complexes are not well elucidated yet. It is believed that only the oxovanadium ion acts in the carbohydrate metabolism. This way, ligands are needed with the task of facilitating the transposition of cellular barriers and stabilize the compound inside of the body, before getting into the intracellular environment. All literature data indicates that in the near future, promising new coordination complexes of vanadium will be potential candidates in the oral therapy, since some complexes are already being used intramuscularly, reducing the required amount of synthetic and / or semi-synthetic insulin.

Keywords: Diabetes; Vanadium; Insulin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Total de pessoas afetadas no mundo com a diabete.....	19
Figura 2	- Níveis de glicose no sangue.....	21
Figura 3	- Complicações crônicas do diabetes.....	27
Figura 4	- Gangrena distal em um pé diabético isquêmico.....	28
Figura 5	- Paralisia do terceiro nervo craniano.....	29
Figura 6	- Necrobiose torna-se grave e ulcerativa, causando grande sofrimento.....	29
Figura 7	- Cegueira causada pela diabetes.....	29
Figura 8	- Estrutura em 2D da insulina.....	30
Figura 9	- Ação da insulina e do Glucagon.....	31
Figura 10	- Resposta dos tecidos periféricos à insulina após interação com seu receptor.....	32
Figura 11	- Locais habituais de aplicação da insulina.....	35
Figura 12	- Fluxograma do processo de extração de insulina indicando os pontos onde a geração de resíduos.....	37
Figura 13	- Esquema de obtenção de insulina humana semi – sintética.....	39
Figura 14	- Mapa do vetor de expressão pLMT8.5 construído para a produção da pró-insulina humana em <i>E. coli</i>	41
Figura 15	- Esquema do processo de obtenção industrial da insulina	43
Figura 16	- Compostos de vanádio em solução	47
Figura 17	- Geometrias idealizadas de complexos de vanádio com diferentes números de coordenação.....	47
Figura 18	- Estruturas propostas dos oxovanadatos V_1 (HVO_4^{2-}), V_2 ($H_2V_2O_7^{2-}$), V_4 ($V_4O_{12}^{4-}$), V_5 ($V_5O_{15}^{5-}$) e V_{10} ($V_{10}O_{28}^{6-}$).....	49

Figura 19	- Diversos efeitos fisiológicos do vanádio.....	50
Figura 20	- Sítios potenciais para a ação de vanádio na cascata de sinalização da insulina.....	52
Figura 21	- Proposta de mecanismo do conjunto de incorporação de glicose e ácidos graxos livres de liberação (FFA) catalisada por Vanádio.....	54
Figura 22	- Fórmula estrutural do VOSO_4	55
Figura 23	- Fórmula estrutural do complexo naglivan.....	56
Figura 24	- Estrutura do complexo bis(maltolato)oxovanadio(IV) (BMOV)..	57
Figura 25	- VOPA, $\text{VO}(\text{metf})_2$, $\text{VO}(\text{etacac})_2$, VCME, VP, VOSALEN.....	59
Figura 26	-Possíveis caminhos seguidos pelos compostos de oxovanádio no organismo.....	60
Figura 27	- Formas cetônica e enólica e a estrutura do complexo metálico de ácido hidroxâmico.....	61
Figura 28	- Principais ácidos hidroxâmicos estudados.....	62
Figura 29	- Fórmula estrutural do ácido glicólico.....	63
Figura 30	- Fórmula estrutural do ácido málico.....	64
Figura 31	- Fórmula estrutural do ácido mandélico.....	65
Figura 32	- Fórmula estrutural do ácido láctico.....	66
Figura 33	- Precursores e fórmula estrutural do aspartame.....	67
Figura 34	- da sacarose em meio ácido ou pela ação da enzima invertase.....	71
Figura 35	- Reação de oxidação do açúcar.....	74
Figura 36	- Reação de formação do óxido de cobre.....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Correlação entre valores de HbA1c e a média glicêmica.....	20
Tabela 2	- Rastreamento do diabetes gestacional através da medida da glicose plasmática de jejum.....	26
Tabela 3	- Comparação do efeito de alguns complexos em testes <i>in vivo</i> em roedores.....	58
Tabela 4	- Resultados do experimento com o reagente de Benedict.....	74

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
2.	DIABETES.....	18
2.1	DIAGNÓSTICO.....	19
2.2	PRÉ-DIABETES.....	21
2.3	DIABETES MELLITUS TIPO 1.....	22
2.4	DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	24
2.5	DIABETES MELLITUS GESTACIONAL.....	25
2.6	SINTOMAS e COMPLICAÇÕES DO DIABETES.....	27
3.	INSULINA.....	30
3.1	AÇÃO DA INSULINA.....	30
3.2	INSULINA DE ORIGEM ANIMAL.....	36
3.3	INSULINA RECOMBINANTE.....	39
4.	VANÁDIO.....	44
4.1	HISTÓRICO E USOS.....	44
4.2	PROPRIEDADES QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS.....	46
4.3	MECANISMO DE AÇÃO INSULINO-MIMÉTICA DO VANÁDIO	50
4.4	COMPLEXOS DE COORDENAÇÃO DE VANÁDIO.....	56
5.	LIGANTES.....	61
5.1	ÁCIDO GLICÓLICO.....	63
5.2	ÁCIDO MÁLICO.....	64
5.3	ÁCIDO MANDÉLICO.....	65
5.4	ÁCIDO LÁTICO.....	66
5.5	ASPARTAME.....	67
6.	DIABETES NO ENSINO DE QUÍMICA ORGÂNICA.....	69

6.1	FUNDAMENTOS DE AULAS PRÁTICAS NO ENSINO MÉDIO...	69
6.2	CARBOIDRATOS.....	71
6.3	REAGENTE DE BENEDICT E SUA IMPORTÂNCIA NO DIAGNÓSTICO DO Diabetes <i>melito</i>	72
6.4	PREPARO DO REAGENTE BENEDICT UTILIZANDO MATERIAIS ALTERNATIVOS E TESTE COM MATERIAIS PRESENTES NO COTIDIANO.....	72
6.4.1	 Materiais e Reagentes.....	73
6.4.2	 Procedimento Experimental.....	73
6.4.3	 Resultados e Discussão.....	74
7.	 CONCLUSÃO.....	76
	 REFERÊNCIAS :.....	77

1. INTRODUÇÃO

A doença Diabetes é caracterizada por ser uma doença crônica degenerativa causada por anormalidades no organismo do indivíduo, onde ocorre uma redução na produção ou redução do efeito biológico do hormônio, insulina. Assim é afetado o metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas (OLIVEIRA, 2008).

Esta patologia divide-se em dois tipos de síndrome: *Diabetes insipidus* (urina “ sem sabor”) e *Diabetes mellitus* e (urina“ doce como mel”) (SANDERS; YASUI et al., 2002 apud GUILHERME, 2007).

A Diabetes mellitus é uma síndrome e não apenas uma doença, pois apresenta uma somatória de patologias, sendo a principal a hiperglicemia. Hiperglicemia é o aumento da quantidade de glicose no organismo devido a dificuldade da insulina proveniente das células beta do pâncreas exercer adequadamente sua função, que é regular a quantidade de glicose no organismo (PINTO, 2007).

A *Diabetes insipidus* (DI) é uma desordem rara no sistema nervoso central onde ocorre a falta de produção ou resistência a ação do hormônio antidiurético gerando a poliúria, uma perda de água em excesso pela urina. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010)

A *Diabetes mellitus* (DM) resulta da insuficiência de produção de insulina ou sua inadequada utilização pelos tecidos. Esta se divide em dois grupos: DM Tipo 1 e DM Tipo 2. A DM Tipo 1 é mais frequente em jovens com início entre 10 a 15 anos que possuem um anticorpo que atua destruindo as células beta pancreáticas e como consequência gera a cetoacidose. Este tipo somente ataca uma pequena parcela da população entre 5% a 10%, onde normalmente tem relação com indivíduos que tiveram contato com vírus da caxumba, rubéola e hepatite. A DM Tipo 2: é mais frequente em adultos acima dos 40 anos e também pode predispor de fatores genético, mas na maioria dos casos está associado a obesidade e ao sedentarismo, (SCHMIDT et al., 2009).

Dentre os tipos de diabetes, a *mellitus* tipo 2 é a que tem maior destaque mundial. O

combate deste tipo de diabetes é realizado por meio de aplicações diárias de insulina, que variam com o tipo de insulina utilizada, dietas e compostos insulino-miméticos (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

Para obtenção da insulina, que é uma proteína eucariótica, é requerida extração de grandes quantidades de matéria-prima (pâncreas suíno e bovino), e estes geralmente apresentam elevado custo, ou, nem sempre estão disponíveis (LIMA, 2001). Neste contexto, os complexos de Vanádio surgem como uma alternativa no tratamento da DM tipo 2, pois podem ser utilizados como mimetizadores da ação da insulina, atuando como co-fator das enzimas envolvidas no metabolismo facilitando o transporte e a oxidação da glicose do tecido adiposo, estimulando a síntese do glicogênio no fígado. (FERNANDES; SERAPHIM, 2006).

Assim, este trabalho tem como objetivo pesquisar a ação de complexos de Vanádio (IV) e (V) como insulino-mimético no tratamento da síndrome Diabetes *mellitus*.

2. DIABETES

A doença Diabetes *mellitus* tem grande importância mundial, sendo que em um país desenvolvido o custo da diabetes pode ultrapassar 4,5 % do custo total com cuidados de saúde (SCOBIE, 2007). Esta patologia pode resultar da incapacidade total ou parcial do pâncreas em secretar insulina ou em alguns casos o indivíduo pode ser resistente ao hormônio, desta maneira não ocorre o transporte de glicose para dentro da célula gerando a hiperglicemia. (OLIVEIRA, 2008).

A hiperglicemia crônica está associada a complicações crônicas específicas, podendo causar danos ou falência de vários órgãos como: os olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (SCOBIE, 2007).

Segundo a International Diabetes Center, atualmente, a doença Diabetes *mellitus* ou Diabete melito é classificada como Tipo 1 (DM 1) e Tipo 2 (DM 2). Contudo, alguns autores dividem a Diabetes *mellitus* em 5 classes: Diabete melito insulino dependente (DMID), Diabete melito não insulino dependente (DMNID), Diabetes secundário, Diabetes gestacional e Diabetes desnutricional (OLIVEIRA, 2008).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde entre 1997 e 2025 o número de diabéticos deve passar de 143 milhões a cerca de 300 milhões. Esta doença se encontra em grande quantidade em nações economicamente desenvolvidas, especialmente nos Estados Unidos, com cerca de 6,5% da população. Cerca de 7,6% da população brasileira apresenta esta doença, e a tendência é crescer cada vez mais devido às mudanças na dieta e no estilo de vida da população (MIRANDA, 2010).

Dados estatísticos apresentados pelo Ministério da Saúde (www.portal.saude.gov.br, 2012) mostram que 246 milhões de pessoas no mundo já foram afetadas pelo diabetes, e a previsão para o ano de 2025 é de 380 milhões de pessoas afetadas. Porém, boa parte das pessoas diabéticas desconhecem esta condição. A figura 1 está exemplificando essas informações em relação ao total de pessoas afetadas no

mundo.

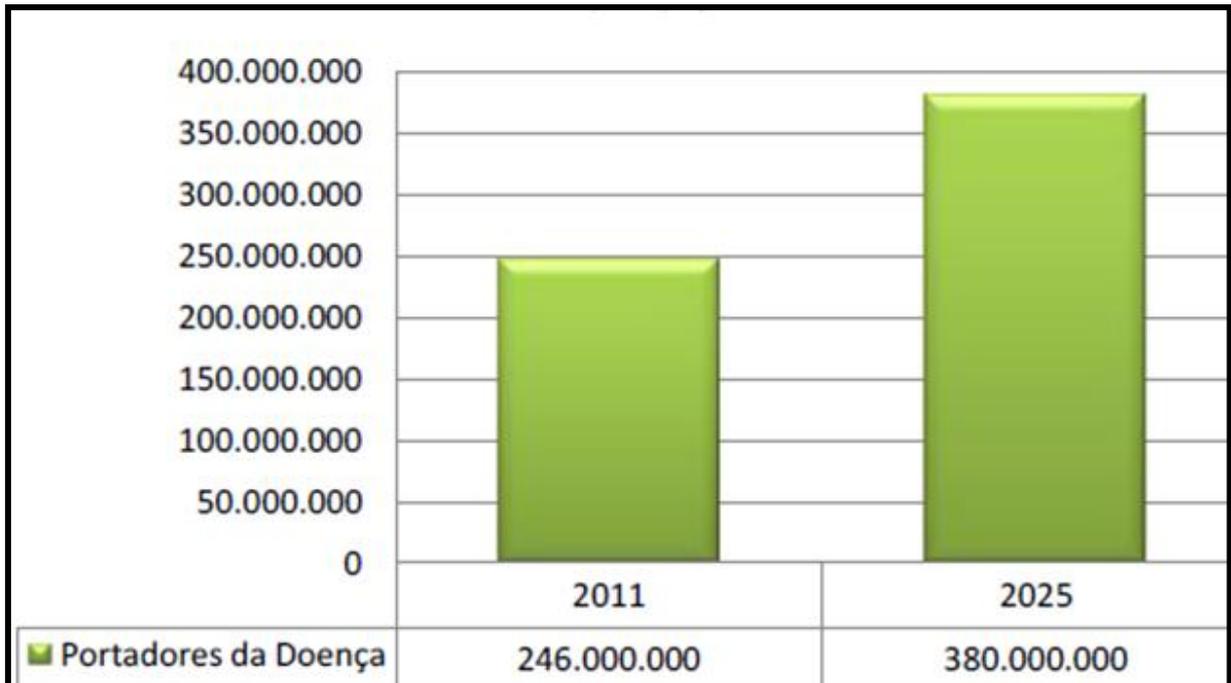


Figura 1 - Total de pessoas afetadas no mundo com a diabetes (In: OLIVEIRA, 2011, p. 9).

No Brasil a média de diabetes que atinge a população acima de 18 anos é de 5,2 %, ou seja, 6.399.187 milhões de pessoas afirmam estar com a doença (OLIVEIRA, 2011).

Em 2012 segundo estudos, a pré-diabetes atinge 12% da população brasileira, e a diabetes 15%, principalmente a do tipo 2. Já nos EUA, os dois estágios da doença já atingem 23% das crianças (<http://g1.globo.com/bemestar>, 2012).

2.1 DIAGNÓSTICO

Para controle glicêmico é necessário realizar exames de hemoglobina glicada ou HbA1C em jejum de 8-10 horas, pós-prandial (após a refeição), casual ou ainda após estímulos com quantidade conhecida de glicose. Nos 4 casos é conhecido o

nível glicêmico normal de um indivíduo saudável (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

Sabe-se que as concentrações de glicose no sangue começam a subir, entre 10 e 20 minutos após a ingestão de carboidratos, sendo que em indivíduos sadios este valor já decai em seguida e retorna a níveis normais. Por outro lado em diabéticos registra picos altos à aproximadamente 60 minutos (RODRIGUES, 2011).

Assim sendo o teste de HbA1c pós-prandial deve ser realizado no máximo a 2 horas após a alimentação. Sabe-se que os picos de glicemia após a alimentação podem induzir a complicação cardiovascular (tromboses, derrames) a indivíduos diabéticos (GROSS; FERREIRA; OLIVEIRA, 2003).

No diabetes gestacional deve ter um controle rigoroso da glicemia pós-prandial e durante todo o dia para que se tenha uma boa evolução do feto e que a mãe fique saudável (RODRIGUES, 2011).

Desta forma os estudos levam a conclusão de que a hiperglicemia pós-prandial desempenha um papel mais importante do que se imaginava há poucos anos (GROSS; FERREIRA; OLIVEIRA, 2003). A tabela 1 demonstra quais os níveis medidos durante um exame de controle de glicose no sangue:

HbA1c(%)	Mg/dL
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310
12	345

Tabela 1 – Correlação entre valores de HbA1c e a média glicêmica (In: WEINERT, SILVEIRO, 2005).

Para definir se uma pessoa tem a doença são realizados exames de sangue onde a glicemia de jejum poderá resultar de 110-126 mg/dl. Quando a glicemia de jejum

atinge um nível de 140mg/dl, cerca de 75% da função insulinar foram perdidos (ALMEIDA, MELLO,2004). A figura 2 exemplifica o controle de nível de glicose no sangue e em que momento é adquirido à diabetes.

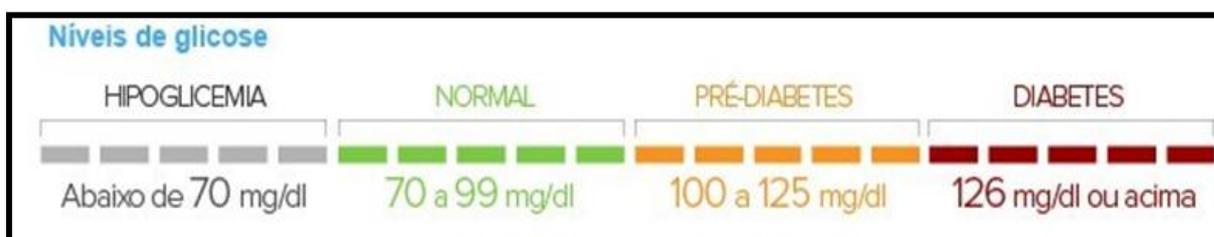


Figura 2 - Níveis de glicose no sangue (In: <http://g1.globo.com>, 2012).

Valores acima de 140mg/dl devem ser considerados perigosos e já iniciar um acompanhamento para que seja controlado. Valores acima de 345 mg/dl gera o risco de parada cardíaca (ALMEIDA, MELLO, 2004).

A perda progressiva da função e do volume da célula beta está associada a um depósito de amilóide, um produto do polipeptídeo amilóide co-secretado normalmente pela célula beta junto com a insulina (VARELLA, 2011).

2.2 PRÉ-DIABETES

Pré-diabetes é caracterizada pela pessoa apresentar níveis mais elevados do que o normal de glicose no sangue, porém não alto o suficiente para o diagnóstico de diabetes, podendo a pessoa agir para tentar reverter o problema. A pessoa começa a apresentar resistência a insulina, onde as células necessitam de mais hormônio para quebrar as moléculas de glicose. Nos EUA em 2007, cerca de um a cada quatro adultos com idades entre 20 anos ou mais, algo em torno de 57 milhões de pessoas tiveram pré-diabetes (U.S.D.H.H.S, 2008).

Pessoas que apresentam o pré-diabetes, têm um risco aumentado de desenvolver diabetes tipo 2, podendo esta ser desenvolvida dentro de 10 anos, a menos que a pessoa perca entre 5 a 7% do seu peso corporal, ao fazer mudanças em sua dieta e

nível de atividade física. Doenças cardiovasculares também podem ser obtidas com maior risco devido a pré-diabetes. A pré-diabetes geralmente não têm sintomas, podendo a pessoa ter a doença durante vários anos sem saber.(U.S.D.H.H.S, 2008), (GROSS; FERREIRA; OLIVEIRA, 2003).

2.3 DIABETES MELLITUS TIPO 1

Diabetes tipo 1 ocorre com maior frequência em indivíduos na faixa etária dos 10 aos 14 anos de idade, havendo uma diminuição da incidência até os 35 anos, tornando pouco frequente os casos após essa idade. Porém, indivíduos de qualquer idade podem desenvolver diabetes tipo 1 (SCOBIE, 2007, p. 3).

No diabetes tipo 1 ocorre destruição das células β do pâncreas, geralmente por processo autoimune (forma autoimune; tipo 1A) ou menos comumente de causa desconhecida (forma idiopática; tipo 1B). Na forma autoimune há um processo de inflamação das ilhotas de Langerhans do pâncreas (insulite), ocorrendo também a presença de autoanticorpos circulantes (anticorpos anti-descarboxilase do ácido glutâmico, anti-ilhotas e anti-insulina). A instalação do quadro de diabetes tipo 1 autoimune ocorre inesperadamente, e quase sempre pode ser identificado o início dos sintomas (FABRIS, 2007).

Esta doença é caracterizada pela deficiência absoluta de produção de insulina no pâncreas, sendo difícil para o fígado manter os depósitos de glicogênio vitais para o organismo. A partir daí açúcar é acumulado no sangue, causando a hiperglicemia (alto nível de glicose no sangue). Com isso as células passam a ter dificuldade para absorver aminoácidos e outros nutrientes necessários, precisando ser usado o hormônio sintético de forma definitiva (LUCENA, 2007).

O diabetes tipo 1B (forma idiopática), caracteriza-se pela ausência tanto de insulite como dos anticorpos relacionados ao diabetes autoimune, podendo existir subtipos desta forma, sendo mais inesperadas e fulminantes em alguns casos (GROSS et al.; 2003). Segundo diagnósticos de 4% a 7% dos pacientes com DM1 são detectados autoanticorpos negativos (tipo 1B) (DIB, 2008).

Uma das primeiras manifestações desta diabetes é a ocorrência da cetoacidose, onde os pacientes ficam suscetíveis a ela devido à deficiência absoluta da secreção de insulina, conseqüentemente a perda das células beta. A cetoacidose ocorre após o organismo realizar uma medida alternativa de utilizar estoque de gordura como fonte de energia, mas isto causa um acúmulo de corpos cetônicos resultando em uma acidez do sangue. (VARELLA; 2012).

Outros fatores que podem levar a cetoacidose podem ser decorrentes do uso inadequado da insulina, estresse infeccioso, ou de qualquer etiologia, e é a expressão máxima da deficiência de insulina. O intervalo máximo de tempo após ser diagnosticado com diabetes tipo 1 sem usar a insulina, para que não ocorra a cetoacidose é em geral de 1 a 2 anos (GROSS et al.; 2003).

Na Europa, os locais com maior incidência da doença são encontrados na Finlândia, Suécia e Sardenha. Já a população asiática apresenta uma taxa de incidência mais baixa. No geral, a incidência de diabetes de tipo 1 segue com um aumento médio na incidência de cerca de 3% por ano (SCOBIE, 2007).

O tratamento insulínico convencional em diabetes tipo 1 geralmente envolve duas aplicações diárias de insulina de ação intermediária ou desta com insulinas de ação rápida. Muitos pacientes com diabetes mais estável obtêm bom controle glicêmico nesta forma de tratamento. Porém, segundo estudos o tratamento intensivo, com múltiplas aplicações diárias ou uso de bomba de infusão de insulina, diminui o risco e a progressão de retinopatia, neuropatia e nefropatia em DM tipo 1 (VIGGIANO, 2007).

Em relação à dieta do diabético, a ingestão total de gordura não deve exceder 30% do consumo total de energia, e <10% devem vir de gorduras saturadas. Já o colesterol dietético deve ser inferior a 300 mg/dia. Se possível não deve ocorrer a ingestão de ácidos gordos insaturados *trans*, ou ser consumido o mínimo. Outros alimentos que devem ser incluídos na dieta são os que contenham carboidratos de grãos integrais, frutas e legumes (SCOBIE, 2007).

A quantidade total de carboidratos nas refeições ou lanches é mais importante do que o índice glicêmico do carboidrato. Se consumidos dentro de limites adequados, os adoçantes não nutritivos são seguros. Os açúcares simples como a sacarose

podem ser consumidos em quantidades moderadas, uma vez que não causam a hiperglicemia aguda, enquanto eles são consumidos dentro de uma dieta saudável (SCOBIE, 2007).

2.4 DIABETES *mellitus* TIPO 2

Conforme já mencionado, a DM Tipo 2 é mais frequente em adultos acima dos 40 anos e também pode predispor de fatores genéticos, mas na maioria dos casos está associado a obesidade e o sedentarismo (SCHMIDT et al., 2009).

O diabetes mellitus tipo 2 (DM 2) se caracteriza por dois defeitos fisiopatológicos principais: a resistência à insulina, resultando em aumento da produção hepática de glicose e redução da sua utilização periférica, e o comprometimento da função secretora da célula beta, basal e estimulada por substrato, particularmente a glicose. A perda da resposta aguda a uma sobrecarga de glicose leva a hiperglicemia (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

Ela é doença crônica de alta prevalência, morbidade e mortalidade resultante, principalmente, do comprometimento vascular (responsável por 80% das mortes) e neurológicos. Outros pontos observados são a gangrena em membros inferiores e complicações microvasculares que afetam os olhos e os rins (cegueira e insuficiência renal, respectivamente) (SILVA, 1996).

A DM2 está em constante crescimento, e de acordo com censo de medicina, hoje ela afeta 2,8% da população mundial e tem a perspectiva de afetar 4,4% em 2030, destacando como causa a mudança de hábitos alimentares e sedentarismo do mundo moderno (PINTO, 2007).

A DM2 pode estar presente entre 9 a 12 anos antes do diagnóstico, quando, com certa frequência, já se perderam cerca de 50% da função da célula beta, indicando o papel importante da sua disfunção, em conjunto com a resistência a insulina, na patogênese do DM2 (VARELLA, 2011).

Seu tratamento tem como principal funcionalidade a administração de injeções de insulina com doses de no mínimo 1 vez ao dia dependendo de inúmeros fatores dos

enfermos, como idade, tempo da doença, sobrepeso entre outras (SARTORELLI; FRANCO, 2003).

Além disso, a dieta é a base do tratamento do DM tipo 2. Atitudes iniciais simples como a restrição calórica, evitando alimentos doces e bebidas podem levar a uma queda nos níveis de glicose no sangue antes de qualquer redução de peso corporal, melhorando até seus sintomas (SCOBIE, 2007).

Como meta, ou valor realista para combater a doença seria uma taxa de perda de peso de cerca 0,5 kg por semana. O incentivo da família também é recomendado para que o paciente tenha forças para controlar a doença. A utilização de orlistat (Xenical®, Roche), que reduz a gordura intestinal por absorção pode ajudar alguns pacientes com o seu programa de perda de peso. O aumento no exercício regular e evitar fumar também são aconselháveis para uma vida mais saudável, tanto para estas pessoas que apresentam a diabetes, como para aquelas que não apresentam (SCOBIE, 2007).

2.5 DIABETES *mellitus* GESTACIONAL

O diabetes gestacional é definido como a tolerância diminuída aos carboidratos, de graus variados de intensidade, sendo diagnosticado pela primeira vez durante a gestação, podendo ou não persistir após o parto (SBD, 2006).

Os fatores de risco relacionados ao diabetes gestacional podem ser: peso acima do normal na gravidez, ter mais que 25 anos, histórico de diabetes na família, excesso de gordura no abdômen, crescimento excessivo do feto, hipertensão ou pré-eclâmpsia na gravidez atual, antecedentes obstétricos de morte fetal (SBD, 2006).

Para efeito de detectar a presença de diabetes pré-existente, o rastreamento é realizado a partir da primeira consulta pré-natal, utilizando-se a medida da glicose em jejum. A partir da 20ª semana da gravidez, visando detectar a diabetes gestacional realiza-se outra medida da glicose plasmática de jejum, com ponto de corte de 85mg/dl, apresentando sensibilidade de 69% e especificidade de 68% para o diagnóstico de diabetes. Sendo assim, cerca de 35% das gestantes deverão

realizar um diagnóstico definitivo. O procedimento mais utilizado é o TOTG (teste oral de tolerância à glicose), sendo que em pacientes que apresentarem glicose plasmática em jejum ≥ 110 mg/dl no rastreamento, será necessária apenas uma nova medida da glicose em jejum (GROSS et al.; 2003). A interpretação da glicose de jejum está descrita na tabela 2.

mg/dL	Situação	Ação
< 85	Rastreamento negativo	Na presença de fatores de risco para diabetes, repetir a glicose plasmática de jejum ou realizar TOTG-75 g em um mês.
≥ 85	Rastreamento positivo	Realizar TOTG-75 g novamente.
≥ 110	Rastreamento positivo	Confirmar imediatamente com nova medida de glicose em jejum ou realizar TOTG-75g.

Tabela 2 - Rastreamento do diabetes gestacional através da medida da glicose plasmática de jejum (GROSS et al.; 2003, p. 21).

A confirmação do diagnóstico de diabetes é obtida através da realização do TOTG solicitado entre as 24^a e 28^a semanas de gestação. Apresentando fatores de risco, a gestante poderá realizar o exame mais precocemente, a partir da 15^a semana. Para ser confirmado o diagnóstico de diabetes gestacional, deverá apresentar valores de glicose plasmática (mg/dl) em jejum ≥ 110 e em TOTG 75g – 2h valor de ≥ 140 (GROSS et al.; 2003; VIGGIANO, 2007).

Mesmo o exame apresentando resultados normais, mas caso exista alguma suspeita de diabetes na gestação atual (crescimento fetal exagerado, polidrâmnio), o teste deverá ser repetido ao redor da 31^a semana de gestação. As mulheres que já apresentam diabetes gestacional confirmada devem ser reavaliadas seis semanas após o parto, com a medida da glicose de jejum ou com o TOTG, visando reclassificar seu estado metabólico (GROSS et al.; 2003).

2.6 SINTOMAS e COMPLICAÇÕES DO DIABETES

Os sintomas mais frequentes para o DM são: problemas periodontais, poliúria (urinar muito), polidipsia (beber muita água), polifagia (comer muito) e perda involuntária do peso. Outros sintomas que causam suspeita clínica são hiperglicemia, glicosúria (glicose na urina), infecções cutâneas e genitais recidivantes, impotência sexual, alterações visuais, renais ou neurológicas; e inespecíficos, como sonolência, cansaço físico e mental, dores generalizadas, desânimo, perda de peso, câibras e sensações de adormecimento nas extremidades (OLIVEIRA, 2011; SCOBIE, 2007). Na figura 3, a seguir, estarão sendo exemplificadas as principais complicações crônicas causadas pelo diabetes.

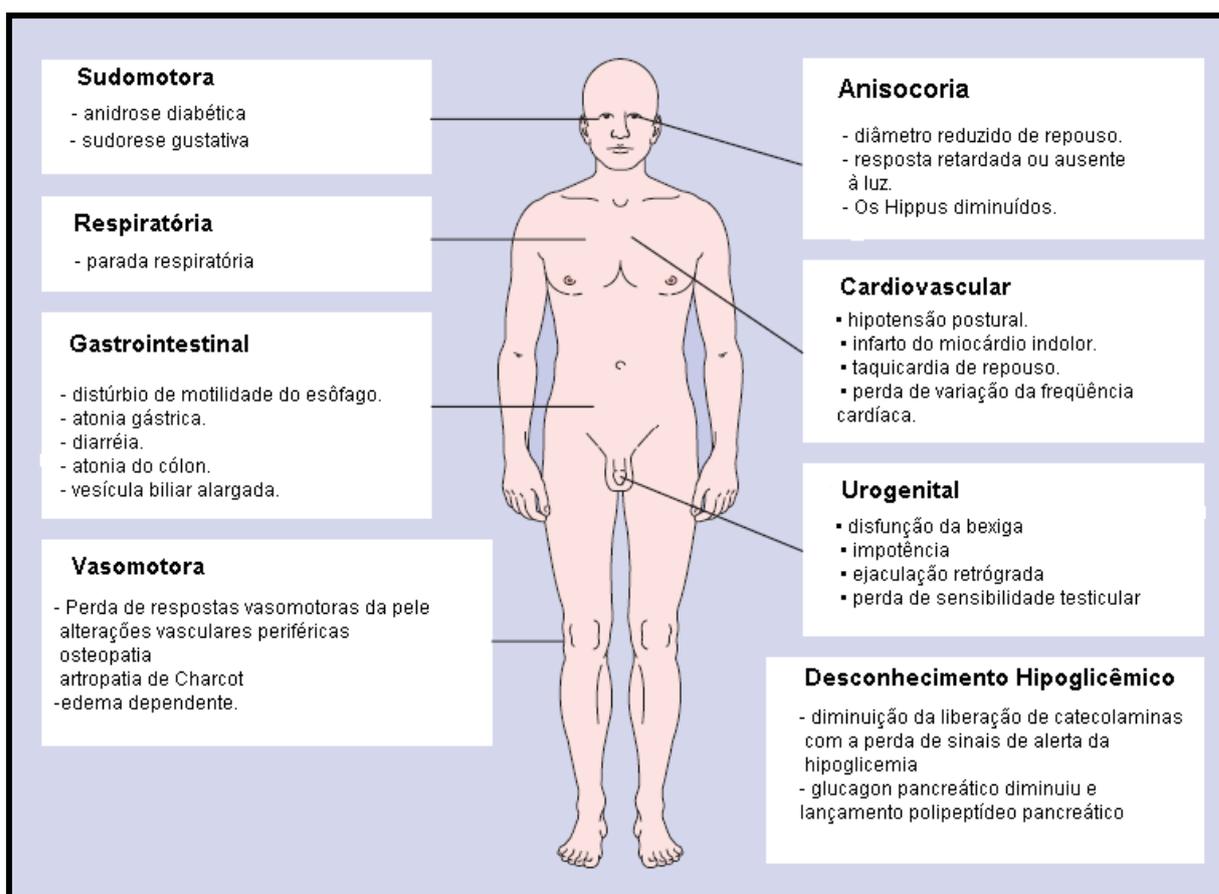


Figura 3 - Complicações crônicas do diabetes (SCOBIE, 2007, p. 87).

Em longo prazo, o DM pode causar alterações micro e macrovasculares levando a disfunção, dano ou falência de vários órgãos vitais. Algumas destas complicações podem ser as seguintes: a retinopatia diabética, problemas cardiovasculares, alterações circulatórias, nefropatias e problemas neurológicos (SILVA, 2010).

Alguns indivíduos não apresentam os sintomas que possam ser visualizados com facilidade, porém poderá ocorrer hiperglicemia discreta com grau suficiente para causar alterações funcionais ou morfológicas por um grande tempo antes que o diagnóstico seja estabelecido. Se não houver controle dos índices glicêmicos, fora os sintomas já comentados, o paciente poderá evoluir seu quadro para uma cetoacidose Diabética e Coma Hiperosmolar (SILVA, 2010).

As figuras 4, 5, 6 e 7 mostram algumas das complicações e até que ponto pode chegar esta doença.



Figura 4 - Gangrena distal em um pé diabético isquêmico (vista dorsal) (SCOBIE, 2007, p. 96).



Figura 5 - Paralisia do terceiro nervo craniano (SCOBIE, 2007, p. 87).



Figura 6 - Necrobiose torna-se grave e ulcerativa, causando grande sofrimento (SCOBIE, 2007, p. 101).

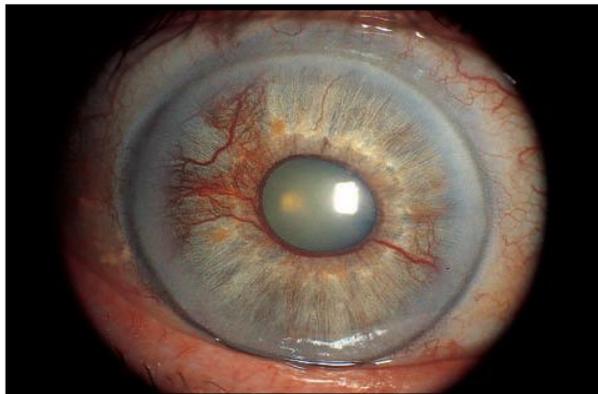


Figura 7 - Cegueira causada pela diabetes (SCOBIE, 2007, p. 84)

3. INSULINA

A insulina foi descoberta em 1921, por Banting e Charles Best, no laboratório do fisiologista JJR MacLeod (PIRES; CHACRA, 2008). É o hormônio anabólico essencial para o controle de glicose no organismo e do crescimento e diferenciação celular. A estrutura da insulina é composta de 2 cadeias de aminoácidos formadas, respectivamente, por cadeias de 21 e 30 aminoácidos ligadas por pontes dissulfeto (OLIVEIRA; MOURA, 2010), conforme descrito na figura 8.

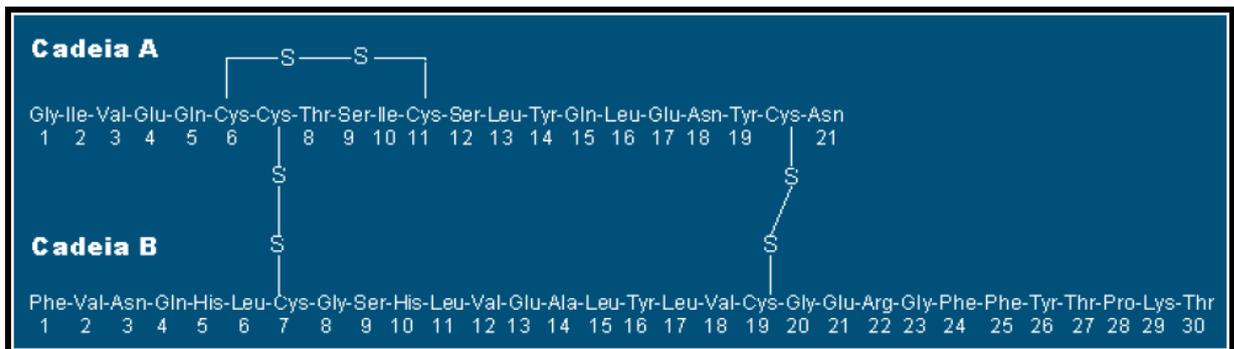


Figura 8- Estrutura em 2D da insulina (In: WEINERT, SILVEIRO, 2005).

3.1 AÇÃO DA INSULINA

Esse hormônio é secretado pelas células β das ilhotas pancreáticas em resposta ao aumento dos níveis circulantes de glicose e aminoácidos após as refeições. Ela regula a homeostase de glicose em vários níveis, reduzindo a produção hepática de glicose e aumentando a captação periférica de glicose, principalmente nos tecidos muscular e adiposo. A insulina também estimula a lipogênese no fígado e nos adipócitos e conseqüentemente reduz a lipólise, bem como aumenta a síntese e inibe a degradação proteica (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

Na figura 9 pode-se observar como o pâncreas realiza o controle glicêmico do sangue tanto com alto nível, quanto baixo nível de açúcar.

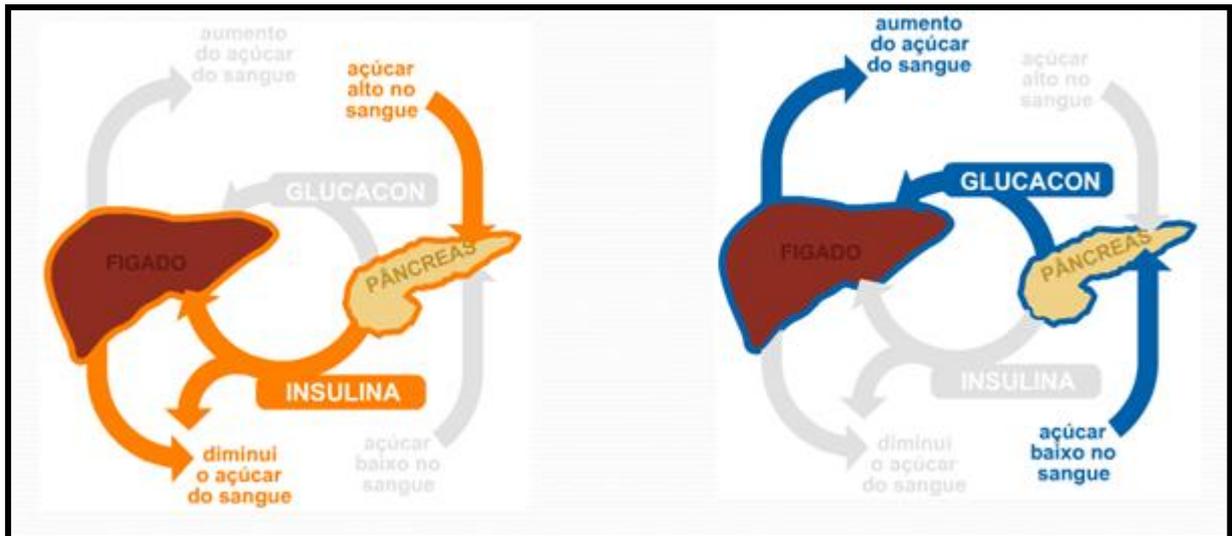


Figura 9 - Ação da insulina e do Glucagon (In: FERREIRA, 2012).

A ação da insulina na célula inicia-se pela sua ligação ao receptor de membrana plasmática. Praticamente todos os tecidos de mamíferos apresentam este receptor, porém a concentração pode variar de 40 receptores nos eritrócitos circulantes até mais de 200.000 nas células adiposas e hepáticas. A constituição deste receptor é feita por 2 subunidades α e duas subunidades β , unidas por ligações dissulfeto, sendo que o receptor de insulina é uma glicoproteína heterotetramérica (HARBER et al.; 2001).

Uma proteína transmembrana responsável pela transmissão do sinal e que possui atividade tirosina quinase é a subunidade β . A subunidade que apresenta o sítio de ligação da insulina é a subunidade α sendo inteiramente extracelular. O ATP agirá como doador de fosfatos e a fosforilação ocorrerá em resíduos tirosina. Com a fosforilação em cascata de substratos e enzimas, tem-se o início das ações da insulina, como o anabolismo, estímulo do transporte da glicose pelo GLUT4 (músculo, tecido adiposo), e o crescimento celular (PIMENTA, 2004).

A figura 10 está demonstrando um esquema das etapas de sinalização intracelular desde a ligação da insulina no seu receptor até a ativação do transporte de glicose.

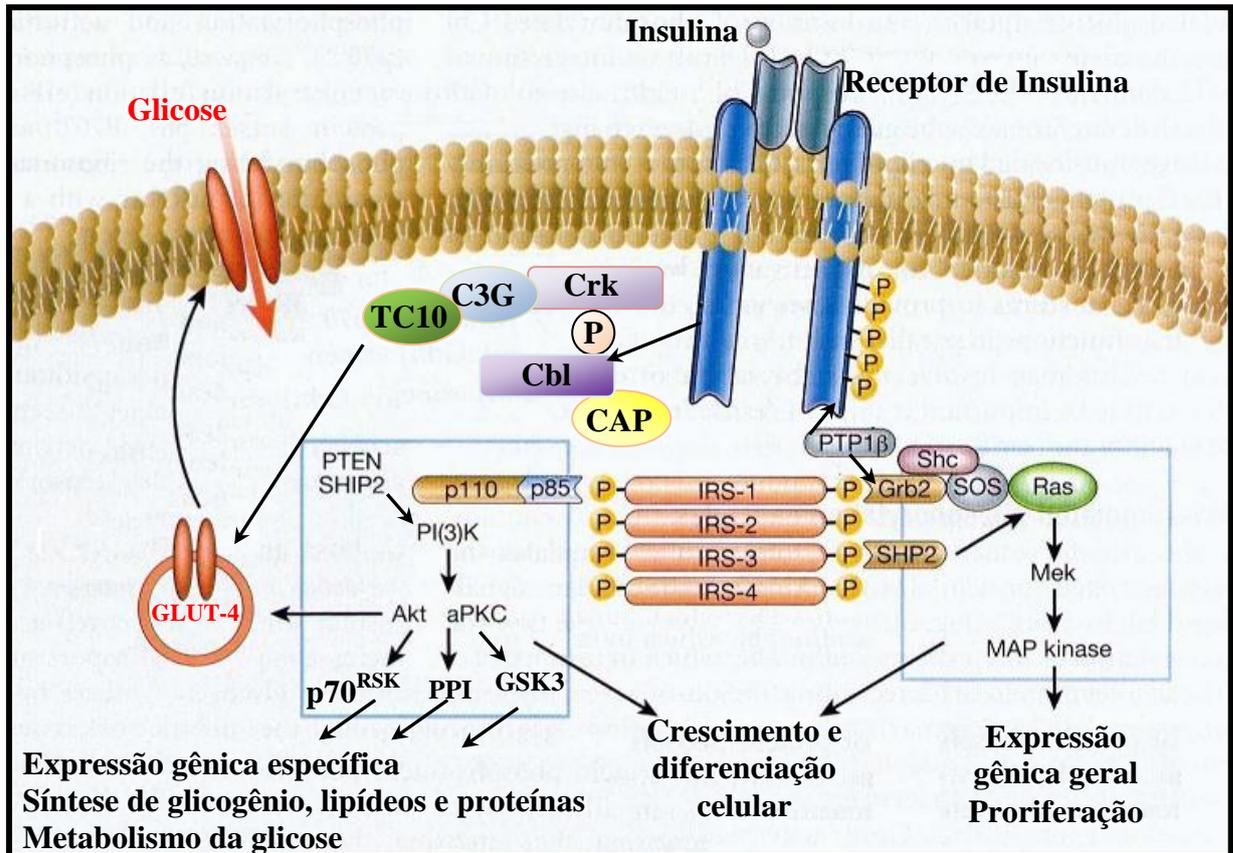


Figura 10 - Resposta dos tecidos periféricos à insulina após interação com seu receptor (In: PIMENTA, 2004, p. 5).

A insulina se liga ao receptor da insulina no qual é responsável por estimular a atividade da proteína tirosina quinase, esta proteína provoca todo o processo de cascata de fosforilação. A composição do receptor é feita por duas subunidades α e duas β , a subunidade α está localizada na porção extracelular e ela realiza a ligação da insulina ao receptor, enquanto a subunidade β localiza-se na porção intracelular e é responsável pela atividade da tirosina quinase (YAMAZAKI, 2004). A subunidade β transmite os sinais para as proteínas intracelulares. A primeira etapa se dá com a ligação da insulina a subunidade α do receptor, nesse momento a subunidade β pode se autofosforilar em múltiplos resíduos de tirosina, sendo possível fosforilar outros substratos em resíduos de tirosina (HIGA, 2006).

O receptor de insulina catalisa a fosforilação de proteínas intracelulares tais como as proteínas IRS, Shc e Cbl. As vias de sinalização intracelular como a via da PI 3-quinase e a cascata da MAPK são ativadas pelas proteínas intracelulares que após

sua fosforilação se ligam a outras moléculas de sinalização através de seus domínios SH2. A ativação do TC10 ocorre via CAP/Cbl. Essas vias são capazes de realizar o controle do transporte de glicose, síntese de glicogênio, lipídeos e proteínas, coordena e integra o metabolismo intermediário (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

Já são identificados mais de dez substratos do receptor de insulina. As proteínas IRS (1, 2, 3, 4) são pertencentes à família dos receptores de insulina. Os outros substratos identificados são os Shc, Gab-1, p60^{dok}, Cbl, JAK2 e APS (3-5). As proteínas IRS sofrem fosforilação em tirosina criando sítios de reconhecimento para moléculas contendo domínios com homologia a Src 2 (SH2) (CARVALHEIRA; ZECCHIN; SAAD, 2002).

As principais ações metabólicas da insulina são: estímulo da captação de glicose, estímulo da captação de aminoácidos e síntese proteica, com o estímulo da insulina pode ocorrer o depósito de ácidos graxos livres no tecido adiposo (PIMENTA, 2004). A redução da glicemia deve-se a um aumento do transporte de glicose sanguínea, realizada por uma membrana plasmática das células musculares e adiposas para o espaço intracelular. O glicogênio-sintase pode ser convertido da sua forma inativa para sua forma ativa, e a insulina também promove a inibição da lipólise. Com isso obtemos um aumento da conversão de glicose a glicogênio e lipídeos, além da glicose também ser oxidada a dióxido de carbono nos tecidos periféricos (FABRIS, 2007).

A produção de glicose é diminuída pela inibição da gliconeogênese e a degradação do glicogênio no fígado. O número de transportadores de glicose na membrana celular do músculo e tecido adiposo, é aumentado pela insulina ocasionando um aumento na captação da glicose (FABRIS, 2007). Através da captação de glicose é produzida energia por sua oxidação (glicólise) ou armazenada pelo glicogênio através da glicogênese e síntese de triglicerídeos através da lipogênese (PIMENTA, 2004).

Não é exatamente conhecido o mecanismo de ação da insulina, porém parece depender da remoção do efeito inibitório da subunidade α sobre a atividade da subunidade β do seu receptor (HARBER et al.; 2001).

Segundo a literatura, o aumento da sensibilidade dos receptores à insulina induz a translocação do transportador de glicose dependente de insulina (GLUT 4), em direção a membrana celular, ocorrendo a captação da glicose para dentro da célula. (BUDACH et al.; 2006).

Outra situação interessante é que mesmo se a atividade da insulina estiver inibida um fator que mobiliza o GLUT 4, principalmente em células musculares, é o exercício físico de maneira frequente, pois promove como um dos benefícios o aumento da expressão gênica no seu conteúdo proteico facilitando a fosforilação de proteínas ou moléculas envolvidas na cascata de sinalização intracelular. Um exemplo desta fosforilação é a proteína quinase C (cálcio dependente), que ao ocorrer contração muscular é ativada e está diretamente envolvida na regulação energética celular aumentando a translocação do GLUT 4 (RIBEIRO et al.; 2011).

Pode-se concluir que o mecanismo de ação da insulina associado ao transporte da glicose, tem um papel fundamental tanto para o armazenamento eficiente do mesmo, como o aproveitamento deste substrato no metabolismo energético (BUDACH et al.; 2006).

Existem em pequeno número, casos onde pode ocorrer a perda progressiva da função insulínica com o decorrer dos anos, estando este fato associado à deterioração glicêmica. Assim, a dificuldade em manter a hemoglobina glicada no nível desejado no decorrer do tempo poderia estar relacionada a diversos fatores comportamentais como sedentarismo, falta aderência à dieta, medicação prescrita. Porém, esta dificuldade reflete primariamente o declínio progressivo da função da célula beta (2) (ALMEIDA, MELLO, 2004).

Nos casos de DM, se faz necessário a utilização da insulina para facilitar a utilização de glicose pelos tecidos musculares e adiposos. As insulinas utilizadas atualmente são de origem humana, bovina e a suína. Outros análogos de insulina estão sendo utilizados como suplemento da atividade da insulina humana e animal e em alguns casos substituindo totalmente visto que temos vários efeitos adversos da insulino terapia como ganho de peso e hipoglicemia. Outros efeitos adversos mais raros atualmente são a alergia à insulina e as reações cutâneas, como a lipoatrofia e a lipohipertrofia (WEINERT, SILVEIRO, 2005).

Em pacientes com DM 2, não há vantagem evidente na utilização dos análogos de insulina. A vantagem teórica dos análogos é a de maior conforto, uma vez que podem ser administrados no momento da refeição. A forma mais comum e que gera bons resultados é a administração de insulina via injeções por mais de uma vez ao dia e várias partes do corpo (WEINERT, SILVEIRO, 2005).

Baseado na quantidade de horas necessárias para a insulina atingir o máximo de ação e ter um grande efeito de redução da glicose, ela pode ser dividida com relação à forma de ação em insulina de ação-rápida, de ação-muito-rápida, de ação intermediária e de ação-prolongada (MIRANDA, 2010).

A insulina costuma ser aplicada nos culotes, nádegas, braços superiores e abdômen, podendo variar a absorção da insulina de um local para outro (SCOBIE, 2007). Estes locais habituais de aplicação da insulina estão sendo representados na figura 11.

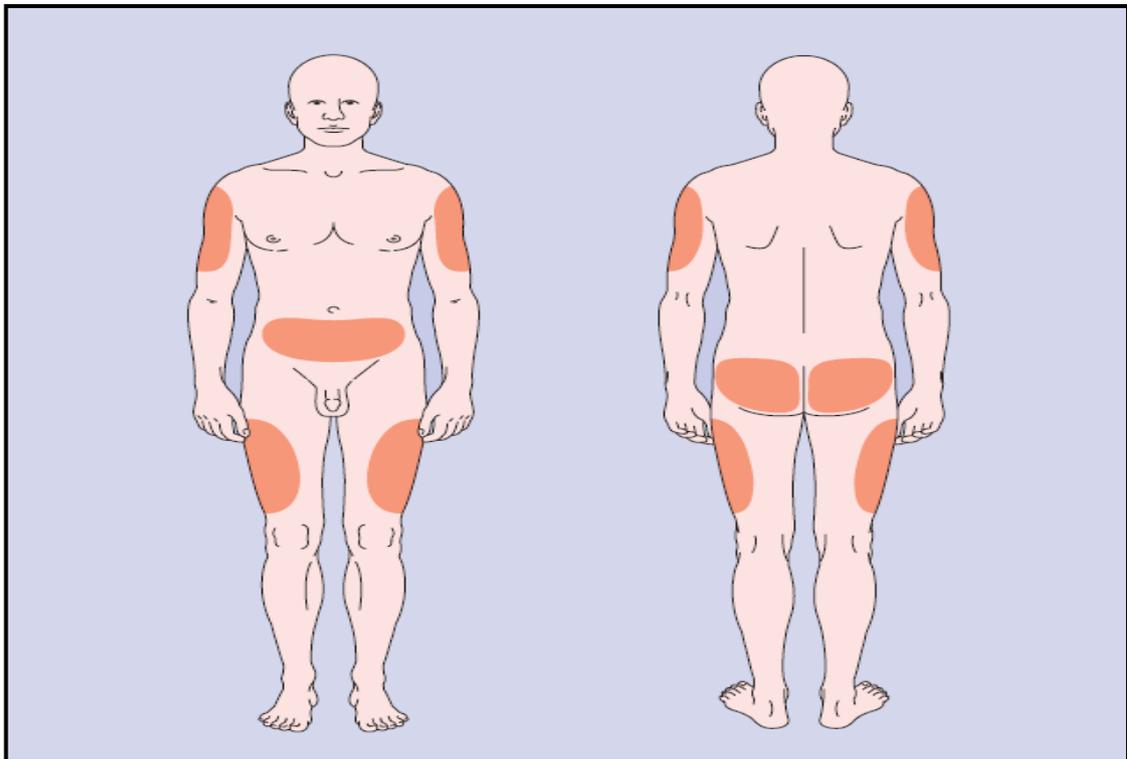


Figura 11 - Locais habituais de aplicação da insulina (SCOBIE, 2007, p. 48).

A Insulina é um hormônio polipeptídico, desta forma não pode ser ministrado por via oral pois no trato gastro intestinal é digerida por proteases e outras enzimas digestivas, perdendo seus efeitos benéficos (SARTORELLI; FRANCO, 2003). Porém, tendo em vista que é necessário fazer inúmeras injeções, esta forma de administração acaba por ser agressiva a pele. Além disso existem casos em que o paciente tem averção a agulhas. Neste caso, a possibilidade de utilizar hipoglicemiantes para diminuir esta atividade vem se tornando extremamente desejável (OLIVEIRA, 2008).

Ainda há casos de DM2 que o paciente é intolerante a insulina. Nestes casos os hipoglicemiantes são necessários, sendo os métodos de utilização de insulino-miméticos cada vez mais testados e utilizados (WEINERT, SILVEIRO, 2005). Dentre eles existem pesquisas com especial interesse nos compostos de vanádio devido seus efeitos insulino-miméticos e as propriedades antitumorais para uso farmacêutico (OLIVEIRA, 2008).

3.2 INSULINA DE ORIGEM ANIMAL

A produção de insulina suína gera muitos resíduos, com isso a atenção deve ser redobrada e o manejo adequado, pois estes resíduos podem causar riscos à população. Para ilustrar esta produção, uma planta de uma indústria farmacêutica produtora de insulina situada em Montes Claros – MG possui três unidades componentes do processo industrial de obtenção do hormônio. Os cristais de insulina bovina e suína são produzidos na primeira unidade. Enquanto na segunda ocorre a fabricação da Papaína (Látex obtido do *Carica papaya* (mameiro)), Proteomix (composto de enzimas localizadas no pâncreas bovino e suíno) e de Meios de cultura, que são misturas padronizadas de diversas substâncias nutritivas em pó, sendo divididas em 60 tipos diferentes. Já a terceira unidade, é responsável pelo envasamento dos frascos (CATAPRETA; LANGE; MURTHA, 1999).

Deste processo de produção da insulina, alguns resíduos são gerados como de pâncreas – 60 toneladas/mês, ajuda filtrante (terra diatomácea) – 40 toneladas/mês, gordura – 14 toneladas/mês, lodo residual da estação de tratamento de efluentes – 4

toneladas/mês. O processo é muito caro, as matérias primas usadas são de difícil aquisição, embora os riscos à população não sejam tão grandes, deve haver atenção em relação à destinação (CATAPRETA; LANGE; MURTHA, 1999).

Na figura 12 pode se observar o fluxograma do processo de extração de insulina com a indicação dos pontos onde há geração dos resíduos.

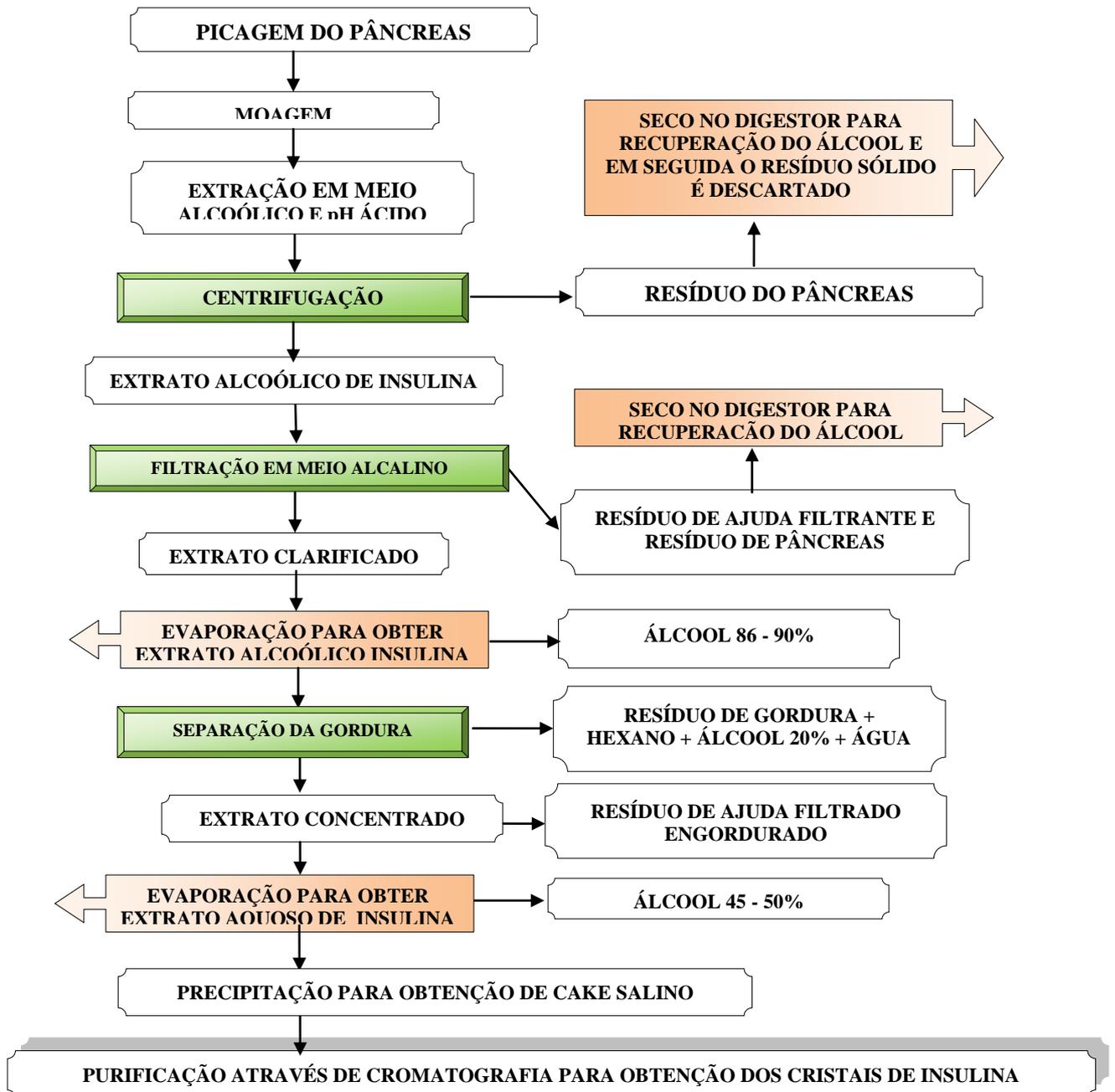


Figura 12 - Fluxograma do processo de extração de insulina indicando os pontos onde a geração de resíduos (In: CATAPRETA; LANGE; MURTHA, 1999, p. 1784).

A partir da insulina suína, existe outra técnica de produção de insulina humana, podendo ser feita através da troca do aminoácido Alanina na cadeia B, na posição 30, da insulina suína; por uma Treonina nessa mesma posição e a partir daí tem-se a mesma sequência da insulina humana. O hormônio suíno sofre alguns tratamentos enzimáticos, detalhados a seguir. Primeiramente a insulina suína é digerida, em pH 7,5 por 45 minutos, na presença de uma enzima de restrição que reconhece sequências curtas específicas de DNA e cliva o dúplex chamada tripsina. Desta forma, ocorre uma clivagem seletiva de um peptídeo e posteriormente tem-se a ligação da Arginina 22 e Glicina 23 na cadeia B. Depois dessa reação é obtido uma molécula de insulina e um octapeptídeo terminal, sendo separados por uma coluna gel de filtração Sephadex G-75 (OLIVEIRA; MOURA, 2010).

Através de síntese química o octapeptídeo é obtido, correspondendo à sequência da cadeia B humana. O octapeptídeo é acoplado à insulina da etapa anterior, por método químico estável. O resultado desse processo é uma insulina humana semissintética. Porém, a técnica utilizada necessita muita matéria-prima, tem baixo rendimento e tem custo muito elevado, não sendo um método tão visado. A técnica em questão está representada na figura 13 (OLIVEIRA; MOURA, 2010).

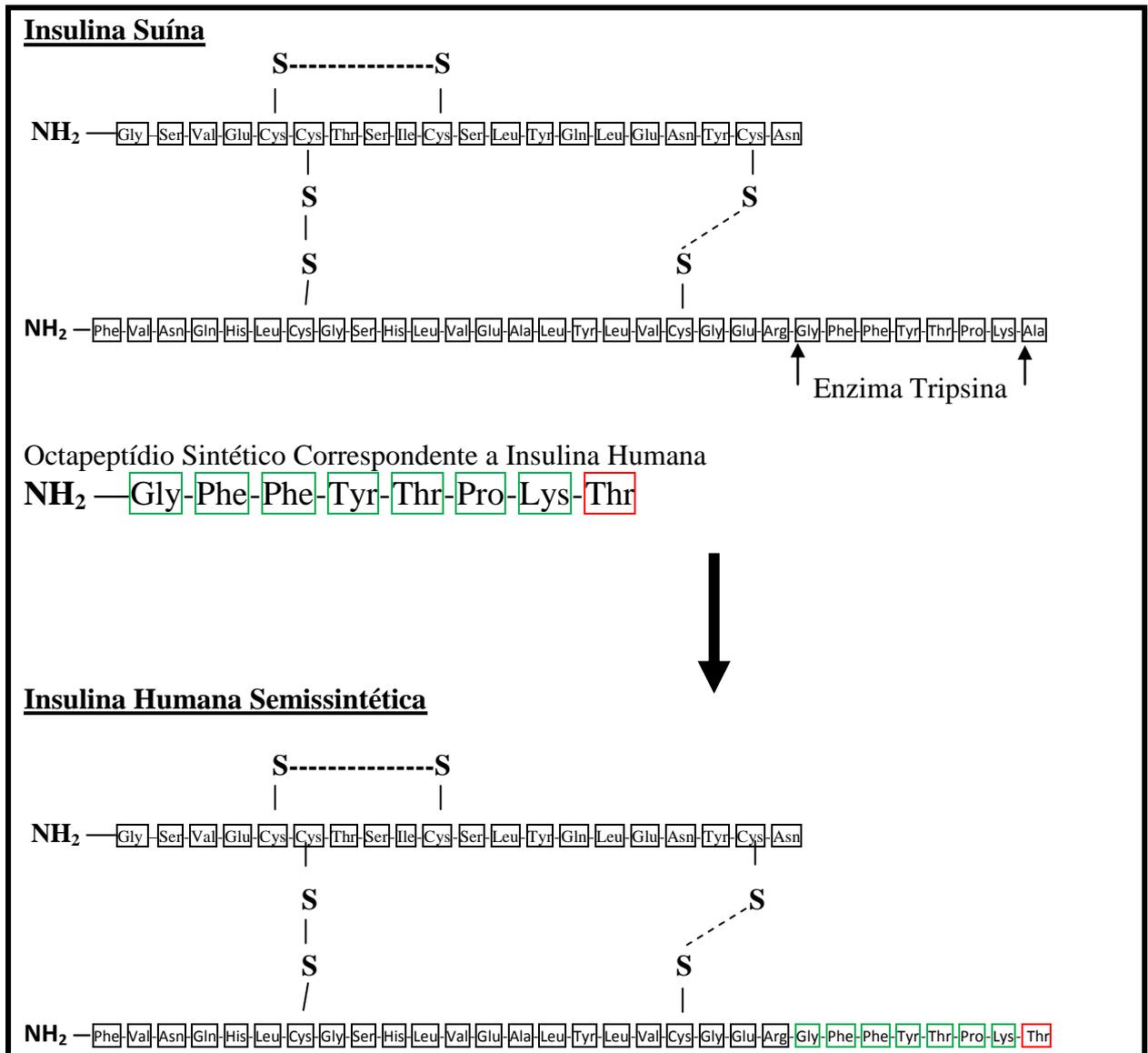


Figura13 - Esquema de obtenção de insulina humana semissintética (OLIVEIRA; MOURA, 2010, p. 10).

3.3 INSULINA RECOMBINANTE

Em 1992, nos Estados Unidos, na Alemanha e na Inglaterra foi obtida a primeira insulina humana através da tecnologia do DNA recombinante aprovada para uso médico. Algumas das vantagens da utilização desta tecnologia são: não há riscos da transmissão acidental de doenças e de patógenos localizados no tecido pancreático animal, mesmo o custo inicial sendo alta, a economia de produção obtida posteriormente é atrativo (OLIVEIRA; MOURA, 2010). Para que a sequência

codificadora inserida em um sítio determinado seja transcrita e traduzida em uma proteína, é projetado um vetor de clonagem, ou seja, usa-se um vetor de clonagem na técnica de engenharia genética (LIMA, 2001).

Em escala industrial têm-se vários tipos de microorganismos utilizados, podendo ser, vírus, eucariotos (fungos, protozoários, algas, culturas de tecidos animais e vegetais) e procariotos (bactérias e cianofíceas) (OLIVEIRA; MOURA, 2010).

Com diversas finalidades muitos vetores para *E. coli* têm sido construídos. A clonagem de cDNAs, de fragmentos de DNA amplificados por PCR, transcrição *in vitro* e a expressão e produção de proteínas heterólogas tem sido algumas dessas finalidades. Em cada caso o vetor deve apresentar determinadas características para aperfeiçoar sua utilização. Com isso, alguns elementos básicos devem ser seguidos para a construção de um sistema de expressão de proteínas em *E. coli*:

- região necessária para uma replicação estável e que tenha controle do número de cópias;
- um gene conferindo resistência a antibiótico para a hospedeira, através de marcador seletivo;
- promotor para dar início a transcrição e seu respectivo controle;
- região responsável por terminar a transcrição;
- sítio de ligação de ribossomos para dar início à tradução em uma trinca ATG apropriada;
- Para a utilização nas clonagens dos genes a serem expressos, deve haver uma região de sítios apropriados para enzimas de restrição (LIMA, 2001).

A figura 14, ilustra o vetor de expressão pLMT8.5 projetado pela Dra. Beatriz Dolabela de Lima, professora da Universidade de Brasília, construído para a produção da pró-insulina humana em *E. coli*. A seguir estão apresentados os significados de algumas das siglas encontradas no mapa. Tet^R: gene de resistência a tetraciclina; ori: origem de replicação; MCS: região de sítios únicos para enzimas de restrição; pL: promotor pL; SD: seqüência Shine- Dalgarno; e TT: região de terminação de transcrição.

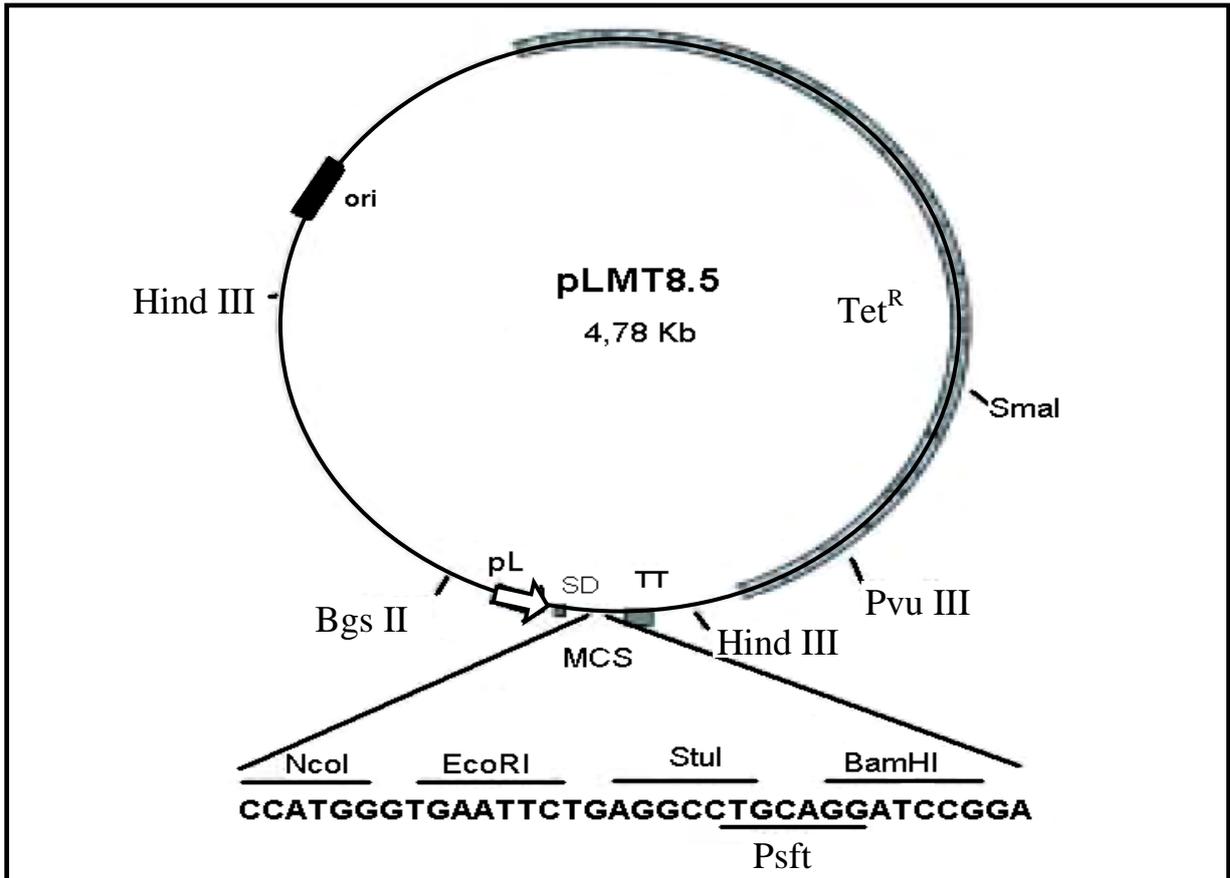


Figura 14 - Mapa do vetor de expressão pLMT8.5 construído para a produção da pró-insulina humana em *E. coli* (LIMA, 2001, p. 30).

São vários os métodos de obtenção de um gene eucariótico para a expressão em procarioto. Porém, observam-se algumas vantagens do uso da síntese química com relação às várias outras maneiras, como por exemplo, a síntese química fornece a sequência exata desejada; existe a possibilidade de serem desenhadas para a expressão procariótica as sequências codificadoras e não codificadoras; pode haver remoção ou adição dos sítios de restrição, retirada de íntrons; não sendo necessário o isolamento do mRNA ou DNA genômico, tornando mais simples a alteração do gene (LIMA, 2001).

De maneira simplificada, a recombinação ocorre a partir do isolamento do mRNA do gene que codifica a Insulin e que obtém o DNA complementar (cDNA), o qual é inserido em um plasmídeo, que, por sua vez é injetado na *E. Coli*. Estas bactérias reproduzem-se em elevadas quantidade e produzem elevado número de proteínas,

que após serem extraídas e purificadas, podem ser ministradas aos portadores de Diabetes (LINS.2010).

O início da produção por essa metodologia se dá utilizando 2 vetores no quais é inserida a sequência nucleotídica das cadeias A e B da insulina, posteriormente esses vetores são colocados em duas diferentes células eucarióticas de *Escherichia coli*. Em diferentes fermentadores industriais as células são colocadas e depois as duas cadeias são purificadas por cromatografia. Após esta etapa ocorre a incubação das cadeias A e B em condições apropriadas de oxidação e promoção da formação das pontes dissulfeto inter-cadeia produzindo a insulina humana *crb* (OLIVEIRA; MOURA, 2010).

Com a tecnologia do DNA recombinante tornou-se possível a fabricação da insulina humana em microorganismos, além de permitir o desenvolvimento de diversas formulações de insulina que buscam se aproximar o máximo possível do hormônio endógeno através de modificações na sequência de aminoácidos. Portanto, algumas propriedades farmacocinéticas foram alteradas nas insulinas, para estas serem de longa-duração ou de curta-duração; além de surgirem formas superpotentes de grande relevância comercial, trazendo benefícios econômicos e menores quantidades de insulina utilizadas nas doses terapêuticas (OLIVEIRA; MOURA, 2010) Na figura 15 segue um fluxograma da obtenção da Insulina Sintética Industrialmente.

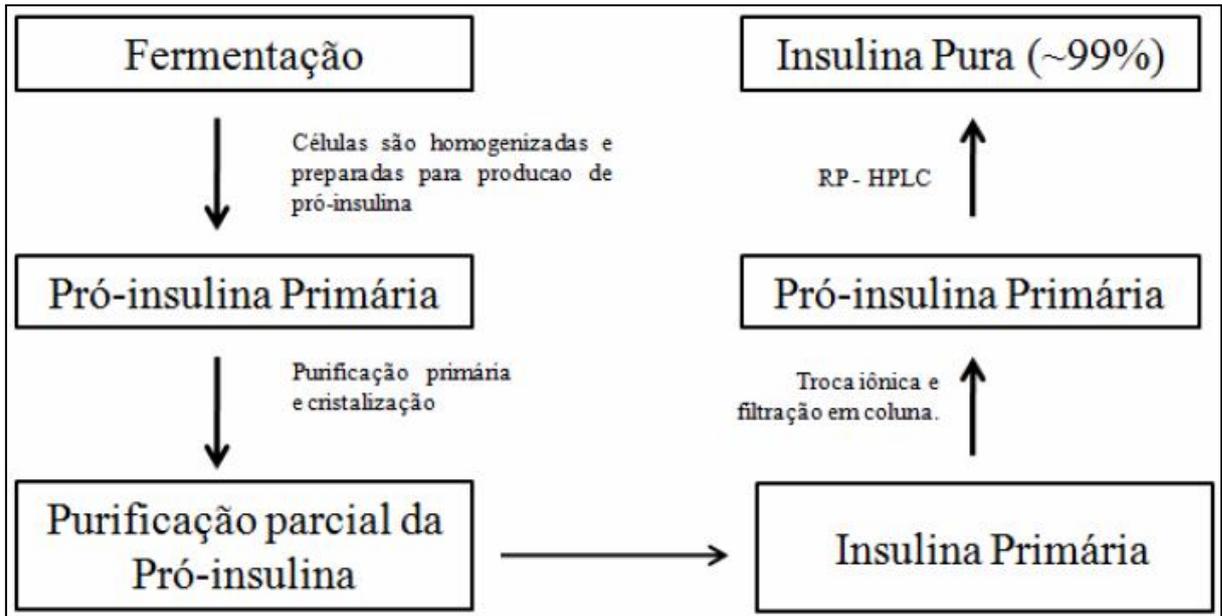


Figura 15 – Esquema do processo de obtenção industrial da insulina (In: OLIVEIRA, 2010, p. 13).

4. VANÁDIO

4.1 HISTÓRICO E USOS

O vanádio foi descoberto em 1801, na cidade do México, pelo químico e mineralogista espanhol Don Andrés Manuel del Río (1764-1849). No entanto, o metal só foi isolado pela primeira vez em 1867 pelo químico inglês Henry Enfield Roscoe (1833-1915), reduzindo o VOCl_2 com hidrogênio. Mais tarde, em 1925, os químicos americanos John Wesley Marden e Malcolm N. Rich obtiveram vanádio bastante puro (99,7%) pela redução do pentóxido de vanádio, V_2O_5 , com o cálcio (PEIXOTO, 2006).

Seu nome foi uma homenagem à deusa Vanadis, da mitologia grega, pois este metal forma várias cores quando em solução, apresentando uma beleza característica. Algumas das fontes de vanádio encontrados na dieta são: a pimenta-do-reino, endro (erva aromática), salsa, cogumelos, espinafre, ostras, mexilhões, cereais, peixe e vinho (YAMAZAKI, 2004).

O vanádio é o décimo nono elemento mais abundante da crosta terrestre, constituindo 0,015% da mesma, e o quinto mais abundante dos elementos de transição. Pode ser encontrado na forma de alguns minérios de chumbo como a Vanadita $\text{Pb} \cdot \text{Cl}_2 \cdot 3\text{Pb}_3(\text{VO}_4)_2$, ou de urânio como a Carnotita $\text{K}_2(\text{UO}_2)_2(\text{VO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e em alguns petróleos, especialmente na Venezuela e Canadá. Apresenta-se em alta concentração na água do mar, sendo o segundo metal de transição mais abundante neste local, certamente mais abundante que o ferro. Suas concentrações são baixas em praticamente todas as células animais e vegetais, porém de grande importância (BALLIN, 2009).

Nos anos 70, já era de conhecimento que os compostos de vanádio poderiam ser potentes inibidores da Na/K ATPase a concentrações próximas de mM, sendo, utilizado em estudos da atividade de diversas enzimas e funções celulares. Nas décadas seguintes o interesse nos compostos de vanádio aumentou, devido a sua

ação insulinoimimética. Com seu uso pode-se normalizar a concentração de glicose no sangue, e restaurar a função cardíaca e aumentar a lipogênese (YAMAZAKI, 2004, p. 12).

Até mesmo antes da descoberta da insulina e seu uso clínico para o tratamento de DM por Banting e Macleod, em 1921, já houve o uso clínico de compostos de vanádio. Em 1899 estudos mostravam a melhora da diabetes mellitus em humanos após administração oral do vanadato de sódio (NaVO_3), sendo confirmado seu efeito em 1979 (SAKURAI et al., 2002).

Esta confirmação foi devido ao teste *in vitro* com fígado, onde os compostos de vanádio aumentavam o transporte e a oxidação de glicose, e estimulavam a síntese de glicogênio no fígado. Em 1985, foi verificada a redução da glicemia em ratos diabéticos tratados com vanadato. O Vanadato ativa a lipogênese, inibe a lipólise e aumenta a liberação da lipoproteína lipase. Estudos posteriores através de modelos de animais com diabetes tipo I e II demonstraram aumento do transporte de glicose e síntese de glicogênio em músculo e redução da lipólise juntamente com o aumento da lipogênese em tecido adiposo. O metabolismo de glicose é alterado de maneira semelhante entre o vanádio e a insulina em músculo. O aumento da entrada de glicose, síntese de glicogênio e glicólise feito pelo vanádio é menor em relação à insulina, porém sua ação é maior ao produzir lactato e oxidar glicose. O vanadato não modifica a síntese ou degradação proteica como é feito pela insulina (YAMAZAKI, 2004).

Com todas estas descobertas, o estudo entre vanádio e a Diabetes Mellitus tem se intensificado com foco no desenvolvimento de novos complexos de vanádio antidiabéticos. Tanto que em 1990, já foram propostos os primeiros complexos de vanádio como antidiabéticos orais (SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA, 2006).

Alguns compostos de vanádio são usados como importantes catalisadores, em processos de contato para fabricação de ácido sulfúrico, outras utilizações são para colorir vidros, cerâmicas, sendo usados também como secantes de tintas. O papel do vanádio no organismo humano continua sendo ainda pouco conhecido. No entanto, ele é usado em muitas aplicações clínicas observando suas capacidades antioxidantes e insulinoimimético (PEIXOTO, 2006). Esta última aplicação é objeto

de intensa pesquisa. Vários complexos de vanádio mostraram maior eficiência do que os sais de vanádio em reproduzir os efeitos da insulina *in vivo* e *in vitro*. Ácidos hidroxâmicos são bons complexantes de vanádio e foi demonstrado que os complexos formados são capazes de diminuir os níveis de glicose em ratos diabéticos. Com o intuito de contribuir para melhor entendimento do modo de ação destes compostos nos meios biológicos e para o desenvolvimento de um agente hipoglicêmico oral eficaz, está em estudo o equilíbrio em solução aquosa no sistema formado por vanádio (IV) e (V), e ácido antranil-hidroxâmico (BORGES, CARVALHO, MADUREIRA, 2009).

Outros metais que estão sendo utilizados para tratamento desde rejuvenescimento da pele até coquetéis contra HIV, são selênio, zinco, tungstênio. Em todos estes casos tem-se metais que dependendo de sua concentração são considerados tóxicos. Assim são submetidos a tratamentos com microorganismos, onde os metais ou ametais substituem análogos nos aminoácido como por exemplo o selênio substituindo seu análogo enxofre na metionina gerando a seleniometionina assim utilizados para o bem da medicina (ADACHI, SAKURAI, 2004).

4.2 PROPRIEDADES QUÍMICAS E BIOQUÍMICAS

O vanádio possui número atômico 23 e peso atômico 50,942 g/mol. É um metal de transição do bloco d, cuja configuração eletrônica a partir do Ar é $4s^2 3d^3$. Este é caracterizado por múltiplos estados de oxidação que vão desde (-1) a (+5) (TIAGO, 2000). A figura 16 mostra a relação entre os quatro estados de oxidação mais altos do vanádio.

Número de Carga do Vanádio	+5	+4	+3	+2
Espécie corresp. e agentes red. apropriados	VO_3^-	$\xrightarrow{\text{Fe}^{2+}}$ VO^{2+}	$\xrightarrow{\text{Sn}^{2+}, \text{Ti}^{3+} \text{ ou } \text{SO}_2}$ VO^{3-}	$\xrightarrow{\text{Zn} \text{ ou } \text{Cr}^{2+}}$ VO^{2-}
Cor da Solução Aquosa	Incolor	Azul	Verde	Violeta
Potencial Redox		+1,0v	+0,3v	+0,2v
Compostos Típicos	NH_4VO_3	VOCl_2 VOSO_4	$\text{V}_2(\text{SO}_4)_3$	VSO_4
Complexos Típicos		$\text{VO}(\text{SCN})_4^{2-}$	$\text{V}(\text{NH}_3)_6^{3+}$	$\text{V}(\text{CN})_6^{4-}$

Figura 16 - Compostos de vanádio em solução (In: TIAGO, 2000, p. 13).

Apenas os estados de oxidação V(III), V(IV) e V(V) são biologicamente importantes, já que o V(II) é demasiado redutor para existir em qualquer organismo conhecido. Destes, os mais comuns são o V(IV) +4 (estável em condições anaeróbicas no citoplasma) e o V(V) +5 (estável em condições aeróbicas). Apresenta uma química diversificada e extremamente rica devido à facilidade que este elemento tem em assumir diferentes ligações, números e geometrias de coordenação (MIRANDA, 2010). Algumas destas geometrias estão sendo representadas na figura 17:

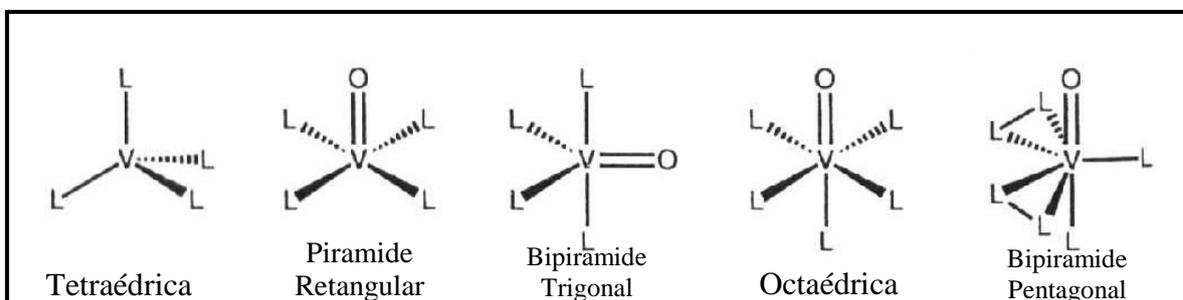


Figura 17 - Geometrias idealizadas de complexos de vanádio com diferentes números de coordenação (In: TIAGO, 2000, p. 13)

Os complexos de vanádio vêm se tornando agentes farmacológicos muito promissores devido suas propriedades biológicas. Este elemento é um dos mais ativos do ponto de vista de reações de oxirredução e forma complexos aniônicos, catiônicos e neutros na faixa de pH 2-8. Seus estados de oxidação são encontrados *in vivo*, V(+4) e V(+5), em equilíbrio e são reguladas pela disponibilidade do oxigênio, acidez e a presença de agentes redutores como: ascorbato, glutatona e catecolaminas (MIRANDA, 2010).

A forma que apresenta estrutura semelhante ao grupo fosfato é denominada *ortovanadato* (H_2VO_4^-), que é formado a partir da forma aniônica (+5), sendo o mais predominante em condições fisiológicas.

A forma catiônica (+4), vanadil (VO^{+2}), é encontrada em ambientes redutores intracelulares e sua estrutura assemelha-se ao Mg^{2+} . Ainda está sendo estudado o equilíbrio entre estas formas, e a conversão entre elas no meio intracelular. O que diferencia as respostas biológicas de cada um está relacionado com seus estados de oxidação. O que confere capacidade de reação com diversos elementos químicos são as formas geométricas complexas (pentagonal bipiramidal ou octaédrica), assumidas quando os compostos de vanádio são peroxidados (YAMAZAKI, 2004).

Sob condições neutras, as formas mais encontradas de vanadato em estudos bioquímicos com concentrações de μM e mM são: o monômero (V_1), dímero (V_2), tetrâmero (V_4), pentâmero (V_5) e o decâmero (V_{10}) (TIAGO, 2000). Estas formas estão sendo ilustradas na figura 18.

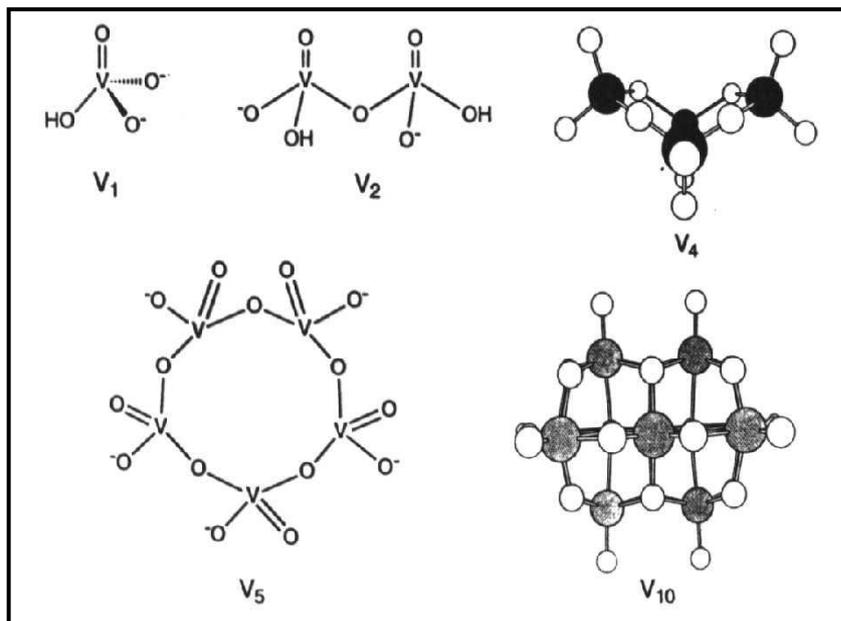


Figura 18 - Estruturas propostas dos oxovanadatos V₁ (HVO₄²⁻), V₂ (H₂V₂O₇²⁻), V₄ (V₄O₁₂⁴⁻), V₅ (V₅O₁₅⁵⁻) e V₁₀ (V₁₀O₂₈⁶⁻) (In: TIAGO, 2000, p. 15)

O vanádio é um elemento essencial para alguns animais devido às suas atividades fisiológicas e bioquímicas. Este elemento apresenta propriedades benéficas em concentrações muito baixas (1-10 nM), porém passa a ser tóxico quando em concentrações superiores. Nos anos 70 estudos desenvolvidos em ratos e frangos, confirmaram que o vanádio é um elemento essencial. Através de uma alimentação com quantidades menores de vanádio, os animais apresentavam várias deficiências, tais como crescimento retardado, aumento dos níveis de colesterol no plasma, malformação óssea, entre outras (TIAGO, 2000).

São vários os efeitos do vanádio no ser humano, como por exemplo: redução da biossíntese de colesterol e dos níveis de triglicerídeos no plasma; estimula o consumo de glicose, e a síntese de glicogênio que o faz mimetizar a insulina; até mesmo algumas evidências de que este elemento possa induzir a mineralização dos dentes e ossos em animais; apresenta um efeito positivo e negativo na força de contração do músculo cardiovascular, entre outros (TIAGO, 2000). Na figura 19 alguns destes efeitos fisiológicos do vanádio estão sendo representados.

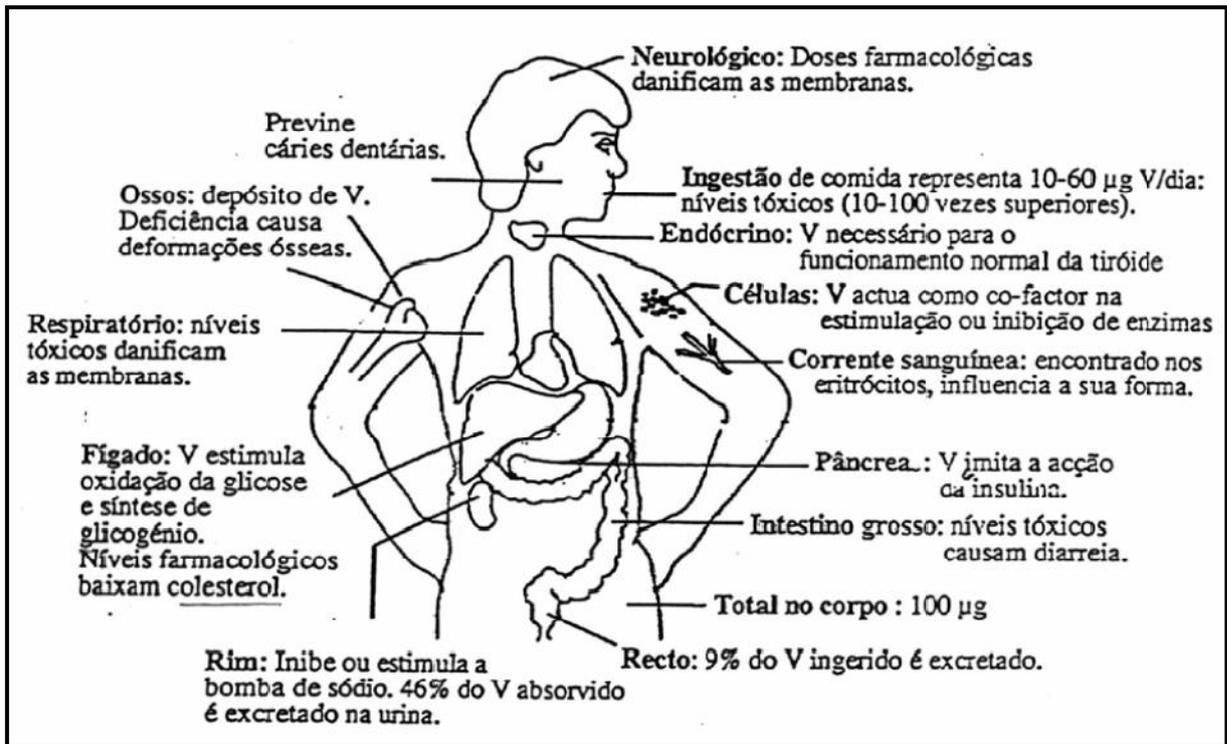


Figura 19 - Diversos efeitos fisiológicos do vanádio (In: TIAGO, 2000, p. 19).

4.3 MECANISMOS DE AÇÃO INSULINO-MIMÉTICA DO VANÁDIO

Como o mecanismo de ação dos compostos de vanádio ainda não foi totalmente esclarecido, a seguir serão expostos alguns estudos e possíveis explicações para o mesmo.

Alguns estudos demonstram a ação dos sais de vanádio via ativação do receptor tirosina quinase, porém outros vários estudos sugerem que a ação do vanádio não está envolvida com o receptor da insulina. Como mecanismo de ação, a inibição de proteínas tirosina fosfatases (PTPs) é a mais sugerida, inibição esta que resulta na estimulação indireta da fosforilação (inibição) da tirosina. Para estudar quais são as PTPs específicas inibidas pelo vanádio, são necessários mais dados e modelos experimentais (YAMAZAKI, 2004).

O vanádio atua como competidor do grupo fosfato, podendo assim impedir a reação enzimática de PTP. Outro fato interessante é em relação à potência dos compostos

de vanádio em oxidar o domínio essencial da cisteína (aminoácido comum a todas PTPs), sendo constatado que os compostos de vanádio peroxidados são 100 a 1000 vezes mais potentes em termos de oxidação (YAMAZAKI, 2004).

Através de estudos foi possível verificar que o vanadato é capaz de reduzir a hiperglicemia e os níveis de insulina em ratos obesos, podendo também reduzir a alta atividade de PTPases que é uma proteína tirosina fosfatase específica encontrada no fígado dos mesmos (YAMAZAKI, 2004). Inibindo as PTPases, estas deixariam de desativar o receptor insulínico (IRS), neste sentido o vanádio estaria estimulando a atividade da proteína kinase em ativar o IRS-1 na cascata de sinalização da insulina (CALDERÓN; FERNÁNDEZ; RIGO-RIGHI, 2006). No diabetes a IRS-1 se encontra reduzida no indivíduo (YAMAZAKI, 2004).

Os sais de vanádio são capazes de induzir o transportador GLUT 4, do seu compartimento intracelular para a superfície da célula, aumentando a captação de glicose, esse efeito é de grande importância. Mas em alguns estudos houve modificação nos códons do mRNA GLUT-4, levando a deleção devido a toxicidade do vanádio. Portanto, surgem hipóteses de que o vanadato atue na translocação e/ou atividade intrínseca do transportador de glicose. Nos modelos com diabetes tipo II os compostos de vanádio provaram ser eficientes, conseguem normalizar a concentração de glicose e reduzir a hiperinsulinemia e os níveis de triacilgliceróis no plasma (YAMAZAKI, 2004), (YASUI, 2002).

Porém, estudos posteriores mostram que a atividade do vanádio não é apenas devido à inibição da PTPases. Portanto, não é adequado atribuir a ação insulina-mimética do vanádio somente a esta propriedade inibidora. Estudos *in vitro* mostram que o vanádio apresenta efeitos sobre as enzimas e os testes de PI3-K com VOSO_4 em seres humanos com diabetes mellitus tipo 2, mostraram que ocorre a ativação da PI3-K na qual é responsável pelo transporte da glicose. Por outro lado, estudos *in vivo* com ratos diabéticos (tipo 1) e ratos geneticamente modificados para simular diabetes mellitus do tipo 2, tratados com bis(maltolato) oxovanádio (IV) (BMOV) mostraram não haver alteração na a atividade da PKB, PI3-K ou GSK-3. Como pode ser visto existem diferenças entre efeitos *in vitro* e *in vivo* de vanádio na cascata de sinalização da insulina e nas respostas diversas detectadas em roedores e

humanos, concluindo-se que são necessários esclarecimentos no papel do vanádio (CALDERÓN; FERNÁNDEZ; RIGO-RIGHI, 2006). A Figura 20 mostra a possível ação de vanádio sobre a cascata de sinalização insulina.

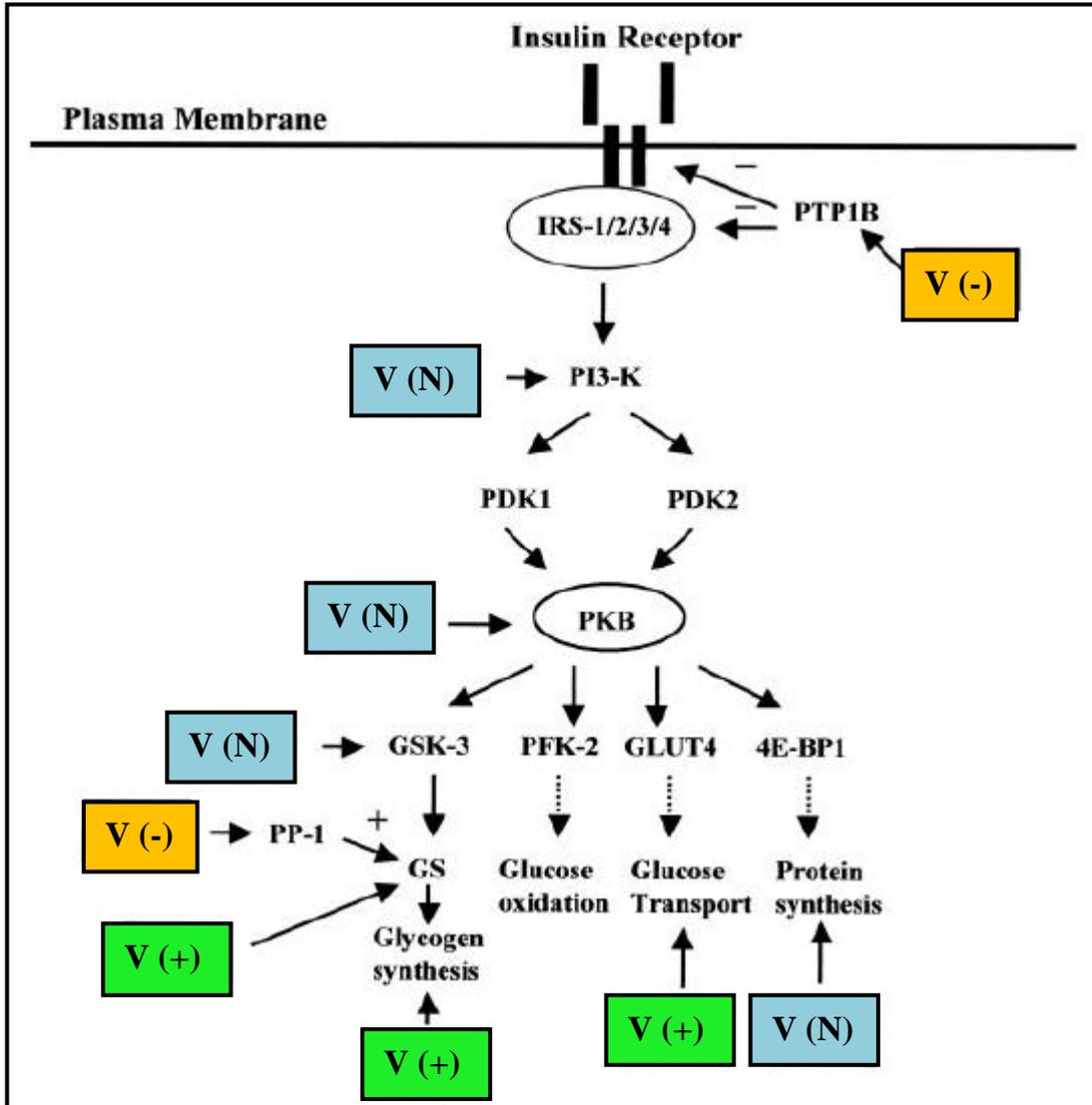


Figura 20 - Sítios potenciais para a ação de vanádio na cascata de sinalização da insulina. (MARZBAN, 2003, p. 260).

Na figura acima demonstra em cores e símbolos, a atuação do vanádio na célula. Onde atua para diminuir a hiperglicemia diretamente(+); onde atua diretamente na sinalização(-) e onde não atua de maneira potencial(N).

Mais detalhadamente, temos os substratos para receptor de insulina (IRS-1/2/3/4), que são proteínas que atuam na fosforilação e ativação da proteína PI3-K

(fosfatidilinositol-3-kinase), a PI3-K apresenta principal função de transporte de glicose e síntese de glicogênio (YAMAZAKI, 2004). Ainda não é possível descrever o papel de PI3-K no transporte da glicose induzida pelo vanádio onde algumas vias dependentes e independentes são levantadas (CALDERÓN; FERNÁNDEZ; RIGO-RIGHI, 2006).

As enzimas PDK1 e PDK2 participam da síntese ou regulação da enzima PKB, enzima envolvida no movimento dos transportadores de glicose GLUT-4, e regulação da atividade de glicogênio sintase kinase-3 (GSK-3) responsável pela inativação da enzima glicogênio sintase (GS), que sintetiza o glicogênio no qual pode consumir glucose-6-fosfato. PKB também participa na regulação da proteína fosfatase-1 (PP-1) responsável pela ativação da enzima GS. Como é visto na figura 19 o Vanádio tem participação na atividade de todas as enzimas, mas o mecanismo ainda não é claro. O vanádio, realiza seus efeitos de restaurar os níveis de glicose e induzir a translocação adequada de GLUT4 a partir do meio intracelular para a membrana plasmática, num mecanismo não tão esclarecido (CALDERÓN; FERNÁNDEZ; RIGO-RIGHI, 2006).

SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA (2006) propuseram um conjunto de mecanismos para tentar explicar o efeito insulino-mimético do vanádio, que está representado na figura 21.

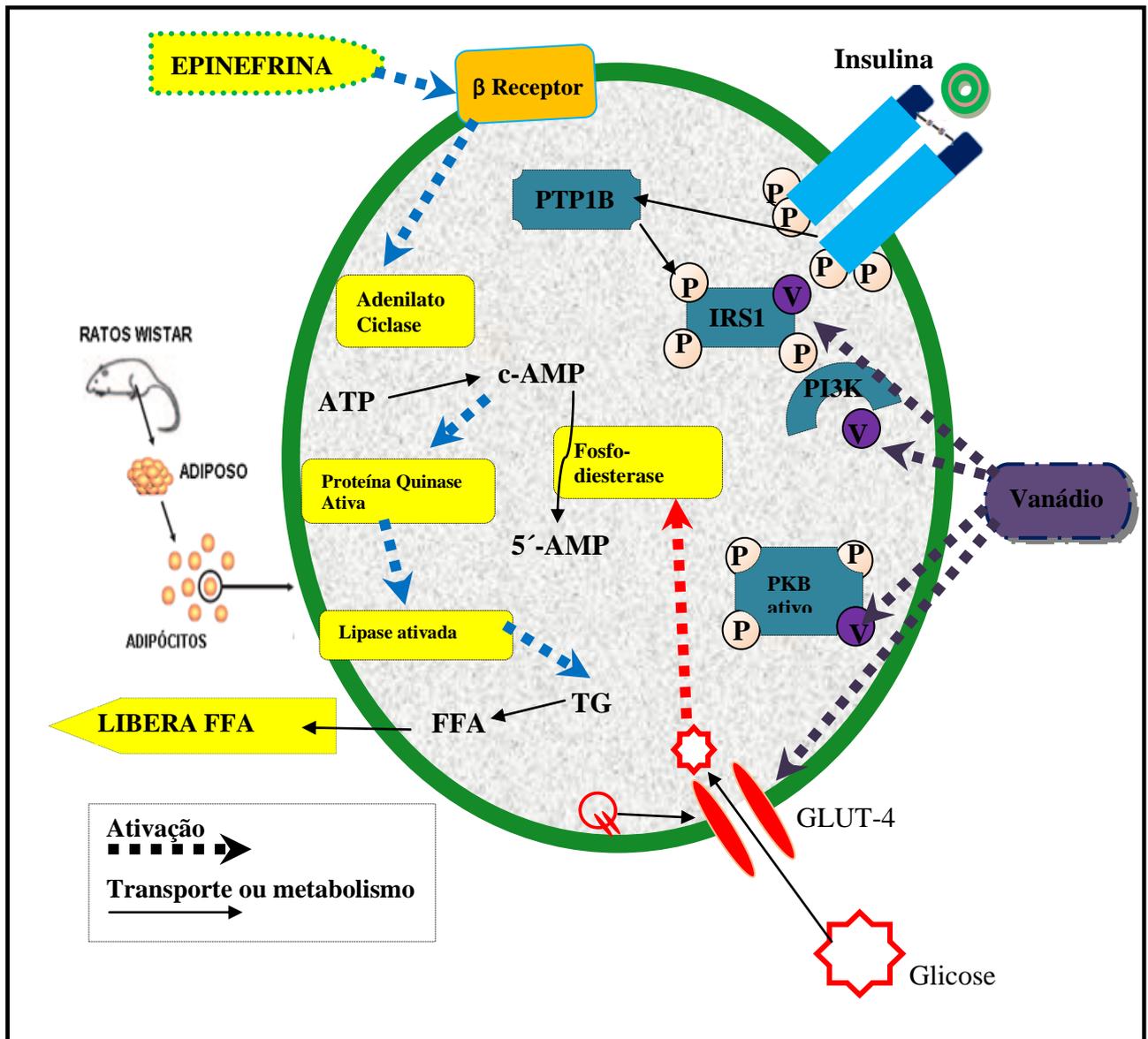


Figura 21 - Proposta de mecanismo do conjunto de incorporação de glicose e ácidos graxos livres de liberação (FFA) catalisada por Vanádio (SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA, 2006, p. 1651).

Este mecanismo foi obtido através de um sistema de avaliação que foi desenvolvido com respeito à interação de íons metálicos com adipócitos isolados de ratos (células adiposas preparadas a partir do tecido epididimal) tratados com adrenalina (epinefrina). Há evidências de que os receptores de insulina são ativados pela inibição da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), que está relacionada com a ativação citosólica, fosforilação do substrato direto do receptor de insulina 1 (IRS1), e ativação de fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), levando a translocação do

transportador de glicose 4 (GLUT4), em seguida a ativação da fosfodiesterase (PDE) (SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA, 2006).

Na figura as setas em roxo que saem do vanádio estão apontadas para os potenciais sítios de ação do vanádio na cascata de sinais da insulina. Com ligação da insulina ao seu receptor na superfície leva a ativações de IRS1, PI3K, e PKB, que por sua vez transloca o transportador de glicose 4 (GLUT4) na superfície da célula. Assim, a glicose é incorporada dentro da célula. Então percebemos que o vanádio terá um papel de ativação nos sítios IRS1, PI3K e PKB já que estes induzem no transporte da glicose, e o vanádio também atuará na desativação do PTP1B, pois este inativa o receptor insulínico (SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA, 2006). Estas reações em sequencia ativam a fosfodiesterase, que transforma cAMP em 5'-AMP. Com isso a absorção de glicose será aumentada e adrenalina induz a liberação de FFA, onde a insulina o inibe nos adipócitos isolados dos ratos (ADACHI, SAKURAI, 2004).

Através do experimento, o VOSO_4 apresentou atividade insulino-mimética em relação à incorporação da glicose nos adipócitos de rato, além da inibição dos ácidos graxos livres (FFA) de libertação a partir dos adipócitos. Na figura abaixo está sendo demonstrado o VOSO_4 :

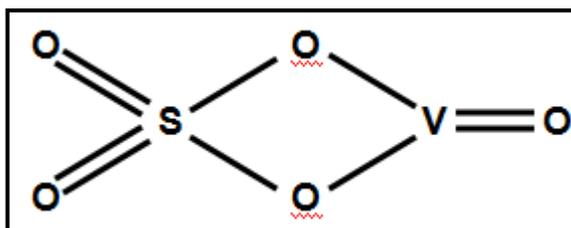


Figura 22 - Fórmula estrutural do VOSO_4 (In: <http://www.lookchem.com>, 2012).

Não há dúvidas de que a insulina tem apenas um sítio de ação, receptor de insulina. Porém, foi encontrado para os íons de vanádio múltiplos sítios de ação nos adipócitos (SAKURAI; KATOH; YOSHIKAWA, 2006, p. 1650).

4.4 COMPLEXOS DE COORDENAÇÃO DE VANÁDIO

Outros compostos estão sendo estudados para analisar o potencial insulínomimético do vanádio, pois o íon vanadato é muito tóxico, até mesmo o sulfato de vanadila que é menos tóxico e seria cotado para substituí-lo, acabou perdendo um pouco do foco por ser de difícil absorção através dos intestinos. Esses complexos são modulados através de um ligante com o intuito de apresentar estabilidade contra processos de oxirredução e de troca de ligantes, podendo assim manter um equilíbrio hidro/lipofílico adequado ocorrendo o transporte no plasma e através das membranas das células, contribuindo para a redução da toxicidade (MIRANDA, 2010).

Diversos são os tipos de ligantes que podem ser usados para preparar os compostos de coordenação. Mercaptocarboxilatos, aminoácidos, hidroxamatos, fosfatos, são algumas das biomoléculas que formam ligações com o vanádio nos estados de oxidação +4 e +5. Alguns dos complexos que já foram testados *in vivo* estão sendo citados a seguir: bis (2-amino-3-mercaptopropanoato(1)-S)oxovanádio (naglivan), bis(metilpicolinato)oxovanadio (IV) (VO-MPA), bis (cisteinometilester)oxovanadio (IV) (VCME) e bis(maltolato)oxovanadio (IV) (BMOV). A eficiência do naglivan (figura 23) em reduzir os níveis de glicose sanguínea é menor do que os sais inorgânicos (MIRANDA, 2010).

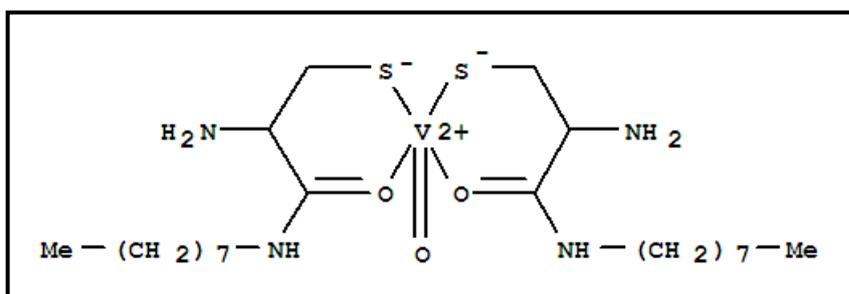


Figura 23 - Fórmula estrutural do complexo naglivan (In: <http://www.lookchem.com>, 2012).

O complexo VO-MPA é menos eficiente que VCME. Este apresenta baixa solubilidade, necessitando da utilização de um tipo de suspensão para a administração oral. É muito sensível a reações de oxidação em meio aquoso ou sob atmosfera aeróbica. Mesmo sendo pouco solúvel, o VCME necessita de apenas 24 horas para baixar os níveis de glicose do sangue ao normal. Porém, no estudo de Miranda (2010) todos os animais submetidos a essas substâncias morreram vítimas de diarreia 4 dias após o início da administração.

Através de vários estudos foi possível chegar à conclusão de que os complexos formados por Vanádio e ligantes orgânicos apresentam frequentemente baixa toxicidade e são solúveis em meio aquoso. O complexo bis-(maltolato) oxovanádio (IV) (BMOV) (figura 24) é o que se mostra mais eficiente como composto insulínomimético. Ele é três vezes mais potente que seu sucessor na indústria farmacêutica, o VO_2SO_4 , administrado por via intramuscular (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

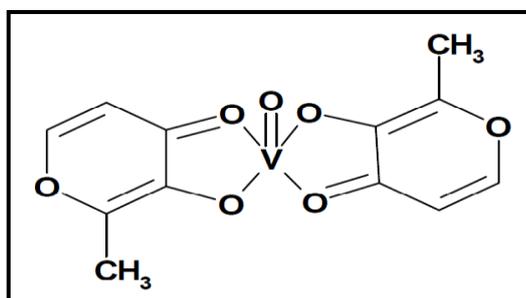


Figura 24 - Estrutura do complexo bis(maltolato) oxovanádio(IV) (BMOV) (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007, p. 138).

O BMOV ganhou tal projeção e conceito, que já foi testado até mesmo em cobaias humanas. Além deste composto outros estão sendo estudados e apresentando resultados satisfatórios (BARBOSA, 2004). O desempenho e comparações destes compostos estão representados na tabela 3, sendo que seus dados são retirados de testes com ratos pela administração dos complexos por via oral.

Composto	Resultado	Vantagens	Desvantagens
BMOV	Abaixamento da taxa de glicose (3 x mais que o VOSO_4)	Não tóxico	Dores estomacais em altas doses
VOPA	64% de abaixamento da taxa de glicose	Ocorrência natural do ligante	Não mantém a glicemia normal
VO(metf)₂	Abaixamento da taxa de glicose	O ligante é usado como hipoglicêmico	Não é solúvel em água. Alguns problemas estomacais
VO(etacac)₂	35% de abaixamento da taxa de glicose	Melhora a sensibilidade a insulina	Não há relação entre presença de vanádio e abaixamento de glicose
VCME	62% de abaixamento da taxa de glicose	Disponibiliza aminoácido	Não é solúvel em água
VP	Abaixamento da taxa de glicose	Prolongada glicemia normal	Não é solúvel em água
VOSALEN	Taxa de glicose próxima do normal	Solúvel e estável em água	Hipoglicemia. Abaixamento da glicose não é mantido.

Tabela 3 - Comparação do efeito de alguns complexos em testes *in vivo* em roedores (BARBOSA, 2004, p. 14).

Os nomes dos complexos acima citados estão apresentados a seguir:

- bis(picolinato)oxovanádio(IV) – (VOPA);
- bis(N,N'-dimetilbiguanidato)oxovanádio – VO(metf)₂;
- bis(3-metil-2,4-pentanedionato)oxovanádio(IV) – VO(etacac)₂;
- bis(cisteinatometiléster)oxovanádio(IV) - (VCME);
- bis(pirrolidina-N-carboditiolato)oxovanádio(IV) – (VP);
- [N,N'-bis(salicilidinaetilidenidamina)]oxovanádio(IV) – (VOSALEN)

As estruturas destes complexos estão ilustradas na figura 25.

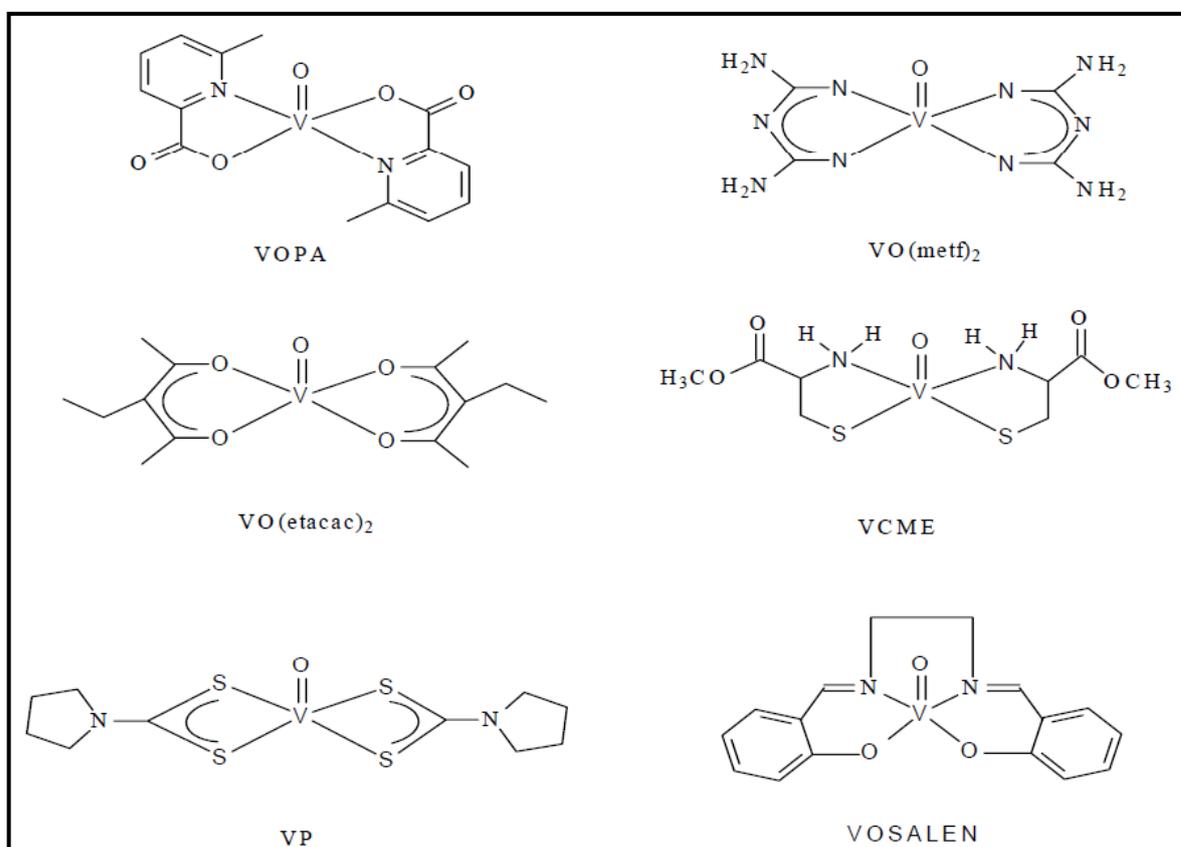


Figura 25 - VOPA, VO(metf)₂, VO(etacac)₂, VCME, VP, VOSALEN (BARBOSA, 2004, p. 14).

Ainda não é de conhecimento o exato caminho de atuação dos complexos de oxovanádio no organismo humano, porém somando alguns estudos é possível propor alguns caminhos tomados por esses compostos (BARBOSA, 2004). Essas propostas estão ilustradas na figura 26.

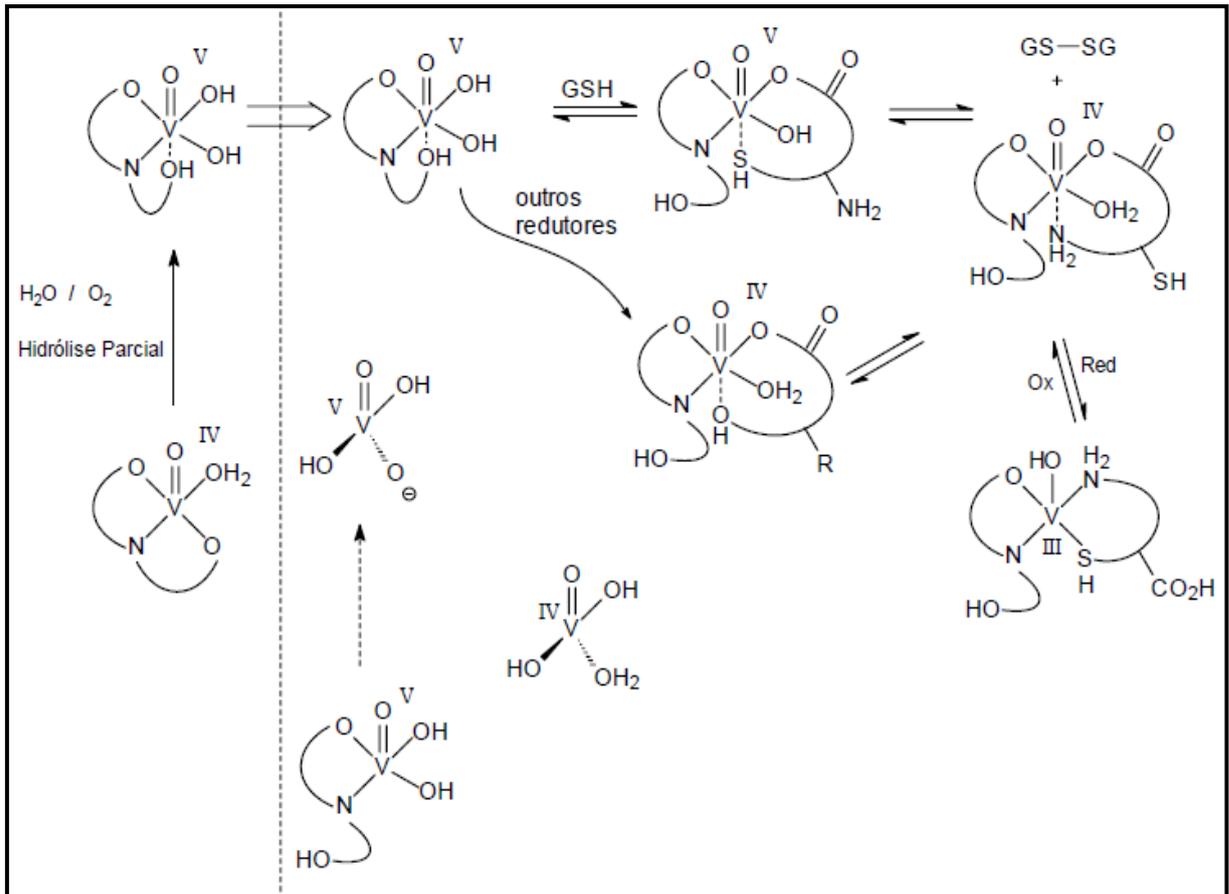


Figura 26 - Possíveis caminhos seguidos pelos compostos de oxovanádio no organismo (BARBOSA, 2004, p. 15).

Este mecanismo mostra que o complexo tende a perder seus ligantes no organismo, acredita-se que somente o íon oxovanádio atua no metabolismo dos carboidratos. Com isso pode-se dizer que a função dos ligantes é facilitar a transposição das barreiras celulares, e estabilizar o composto dentro do organismo, antes de entrar para o meio intracelular. Estes complexos podem sofrer hidrólise parcial, e várias reações de redução e oxidação no organismo até o momento em que só o íon oxovanádio adentre o meio intracelular (BARBOSA, 2004).

5. LIGANTES

É de grande importância a correta escolha do tipo de ligante, para se obter complexos ativos no tratamento do diabetes, pois estes podem fazer com que os compostos de vanádio apresentem baixo peso molecular, sejam ausentes de carga e termodinamicamente estáveis em meio aquoso e apresentem baixo índice de toxicidade. Dentre os melhores agentes quelantes a serem utilizados, são aqueles que possuem átomos de oxigênio carregados negativamente como os carboxilatos, fenolatos, fosfatos, catecolatos e hidroxamatos (MIRANDA, 2010).

Um tipo de grupo de ácidos que estão em estudo são os ácidos hidroxâmicos, existentes como duas formas isoméricas, a forma cetônica como o ácido monobásico e a forma enólica que é o ácido dibásico (figura 27). O grupo funcional hidroxâmico é o responsável pela formação dos complexos metálicos (BORGES,2009), (MIRANDA,2010).

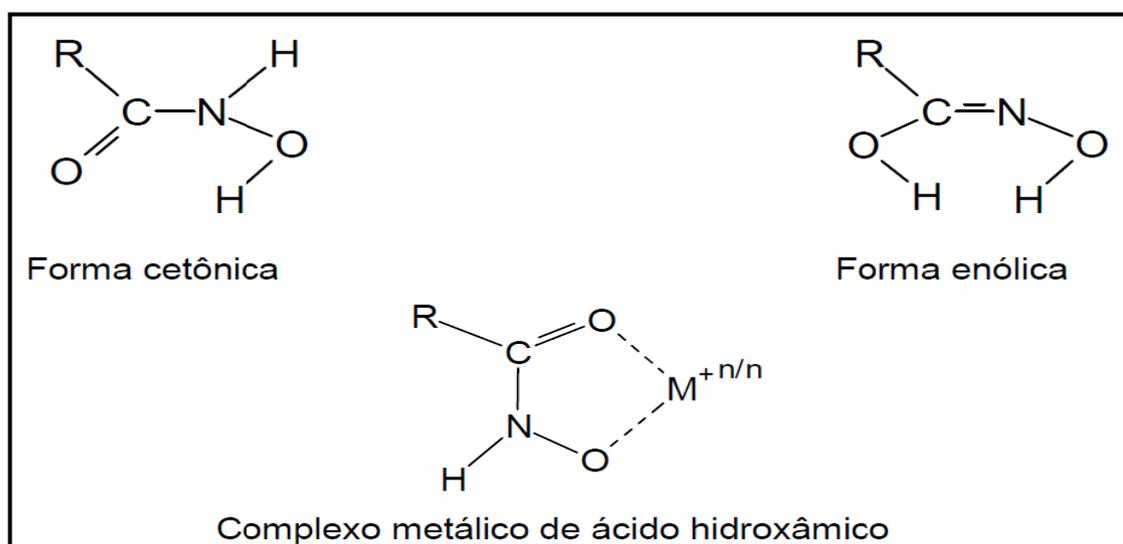


Figura 27 - Formas cetônica e enólica e a estrutura do complexo metálico de ácido hidroxâmico (In: MIRANDA, 2010, p. 12).

Alguns dos principais ácidos hidroxâmicos estudados são os seguintes: ácido lisino-

hidroxâmico, ácido treonino-hidroxâmico, ácido glicino-hidroxâmico, ácido α -alanino-hidroxâmico, ácido glutâmico- γ -hidroxâmico, ácido aspártico- β -hidroxâmico, ácido benzo-hidroxâmico, ácido aceto-hidroxâmico, ácido β -alanino-hidroxâmico (MIRANDA, 2010), representados na figura 28.

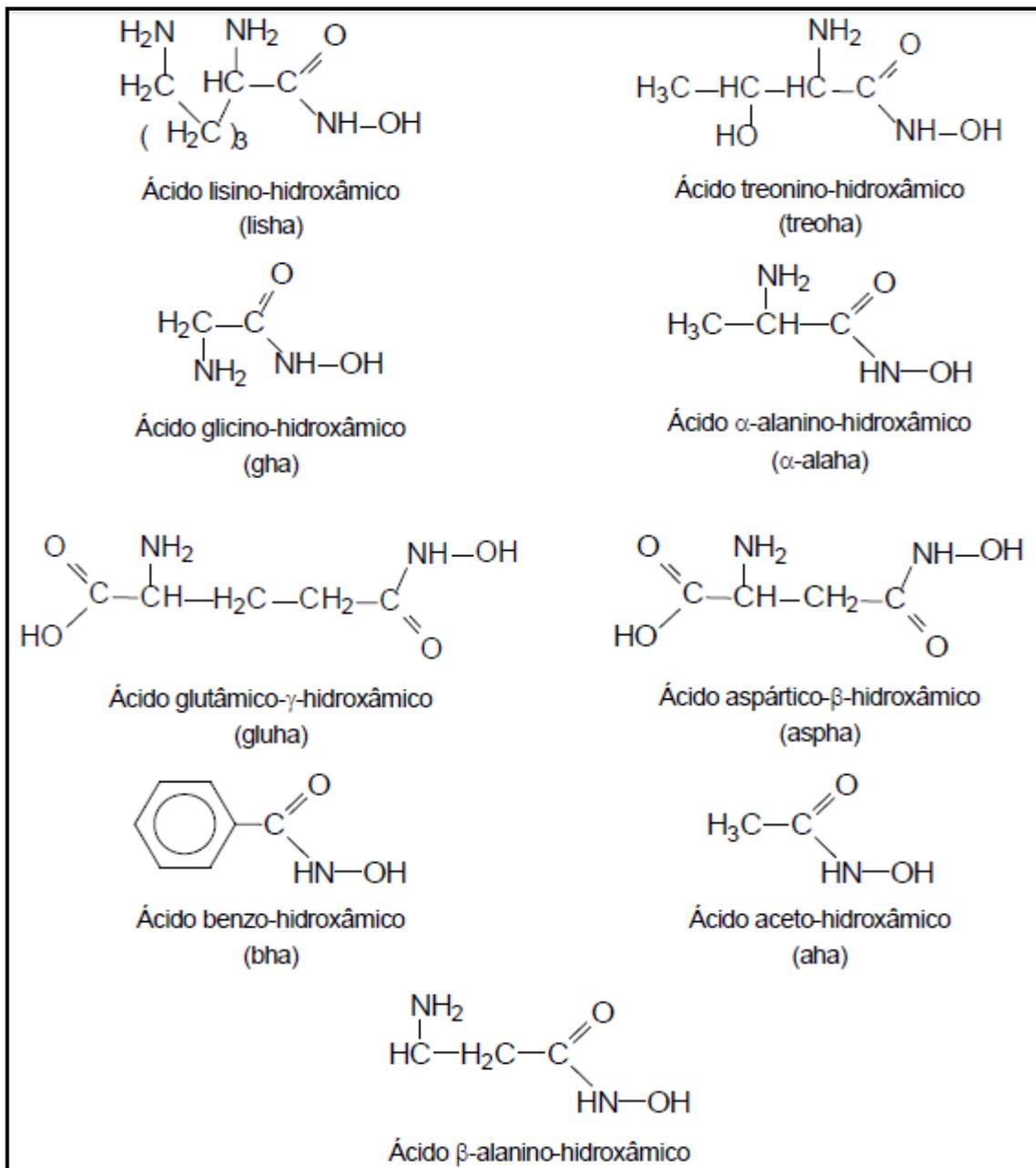


Figura 28 - Principais ácidos hidroxâmicos estudados (In: MIRANDA, 2010, p. 13).

Outro grupo de ácidos de grande interesse, no uso como ligantes são os ácidos α -hidroxicarboxílicos, pois os ânions destes ácidos estão presentes em muitos processos bioquímicos como o ciclo de Krebs, ciclo de Cori e fotorrespiração e em mediadores biológicos. A química do vanadato em solução aquosa e na presença destes ligantes se torna mais complexa que muitos outros sistemas, devido os ácidos α -hidroxicarboxílicos apresentar um estado intermediário de oxidação (GUILHERME, 2007).

Dos ácidos mais conhecidos e estudados dentro da classe dos ácidos α -hidroxicarboxílicos, pode-se citar os ácidos glicólico, láctico, málico, tartárico, cítrico e mandélico, e também o ácido oxálico, que não é um ácido α -hidroxicarboxílico típico, mas tem comportamento químico similar, sendo o aspartame também alvo de estudos (GUILHERME, 2007). Alguns destes ácidos serão mais detalhados a seguir.

5.1 ÁCIDO GLICÓLICO

O ácido glicólico (figura 29) faz parte do grupo dos ácidos α -hidroxiácido, sendo encontrado em alimentos naturais, como a cana-de-açúcar (HENRIQUES et al.; 2007). Apresenta massa molar de 76,05 g/mol, ponto de fusão de 80°C e $pK_a=3,83$ (NARDIN; GUTERRES, 1999-), podendo ser obtido industrialmente por ação de NaOH sobre o ácido monocloroacético ou por redução eletrolítica do ácido oxálico (GUILHERME, 2007).

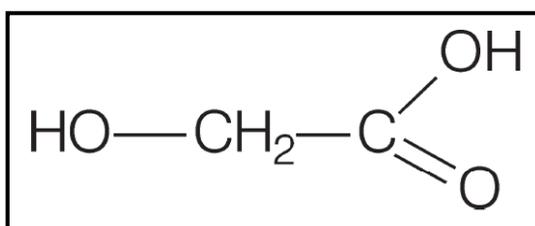


Figura 29 - Fórmula estrutural do ácido glicólico (In: FIORUCCI; SOARES; CARVALHEIRO, 2002, p. 8).

Como aplicações, pode ser citado seu emprego em cremes ou soluções para o tratamento da pele como anti-inflamatório. O polímero do ácido glicólico, o poliglicólico é classificado como um biomaterial, que se degrada *in vivo* através de hidrólise, liberando seu ácido de origem que posteriormente entra no ciclo de Krebs. Devido esta boa biocompatibilidade com organismos vivos, que vem sendo demonstrada, é comprovado que este polímero pode ser utilizado sem afetar o funcionamento do organismo vivo (GUILHERME, 2007).

5.2 ÁCIDO MÁLICO

O ácido málico (figura 30) foi isolado pela primeira vez a partir de sumo de maçã pelo químico suéco, Carl Wilhelm Scheele, em 1785. Ele simplesmente referenciava o ácido como "ácido das maçãs". Dois anos após sua descoberta, em 1787, Lavoisier e colaboradores, sugeriu em seu livro de memórias sobre a nomenclatura química, um nome alternativo como malique acide, do latim *malum* ou maçã, e este devido toda a história bíblica se generalizou como ácido málico (JESEN, 2007). Este ácido é encontrado naturalmente como isômero L(-), e é um dos ácidos orgânicos mais difundidos na natureza, estando presente em grande parte dos vegetais. Este ácido é considerado fraco e com pouca resistência à respiração oxidativa (RIZZON; SGANZERLA, 2007).

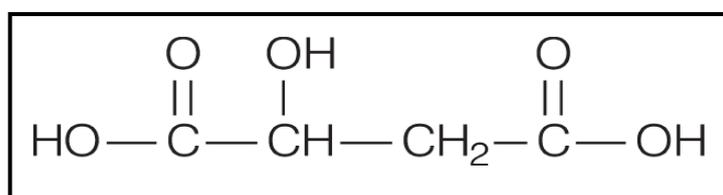


Figura 30 - Fórmula estrutural do ácido málico (In: FIORUCCI; SOARES; CARVALHEIRO, 2002, p. 8).

Algumas de suas propriedades é a massa molar de 134,09 g/mol e ponto de fusão de 131-132°C. Segundo estudos realizados com animais de laboratório

contaminados com alumínio, este ácido foi efetivo na diminuição da toxicidade. Também é efetivo no tratamento de fibromialgia, sendo utilizado na forma de sal de magnésio (GUILHERME, 2007).

5.3 ÁCIDO MANDÉLICO

Ácido mandélico (figura 31) ou hidroxibenzenoacético ou benzilglicólico, apresenta massa molar de 152,14 g/mol, ponto de fusão de 119°C e $pK_a=4,81$. Pode ser obtido a partir de amêndoas. Este é utilizado como anti-séptico urinário, pois é considerado uma substância atóxica, podendo ser ingerida oralmente e excretada pela urina. Da mesma maneira que o ácido glicólico foi utilizado para aumentar a solubilidade do complexo antitumoral N,N' -(+/-)-2-benzil-1,2-diaminobutanodichloroplatinato(II), o ácido mandélico também já foi utilizado (GUILHERME, 2007). Pode também ser utilizado como ingrediente na composição de cosméticos para tratamento de rejuvenescimento da pele humana (NIEHUES; ANDO; TAKASHIMA, 2006).

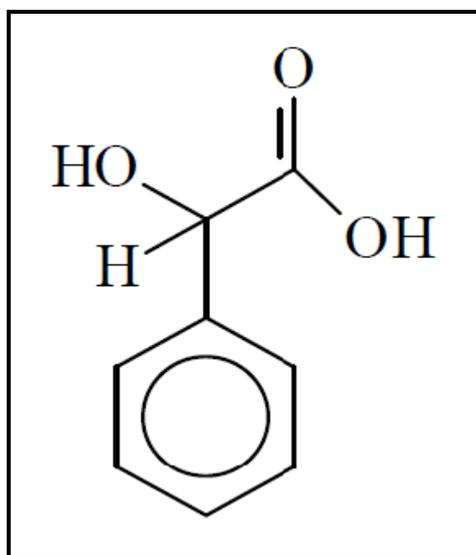


Figura 31 - Fórmula estrutural do ácido mandélico (In: NIEHUES; ANDO; TAKASHIMA, 2006, p. 184)

5.4 ÁCIDO LÁTICO

O ácido láctico (figura 32) ou ácido 2-hidroxi-propanóico foi descoberto em 1780 pelo químico sueco C. W. Scheele, que o isolou como um concentrado impuro a partir do leite ácido. Berzelius, outro químico, encontrou o ácido láctico no leite fresco, porém também na carne bovina, no sangue e em outros fluidos de origem animal (TRINDADE, 2002). Este ácido pode ser obtido através da fermentação do açúcar do leite (lactose) pelo *Bacillus lactis acidi*, e a partir do amido, açúcar da uva (glicose) ou açúcar da cana (sacarose) utilizando o *Bacillus delbrücki*, podendo também ser obtido através da reação entre etanal e uma mistura de cianeto de sódio e ácido sulfúrico (GUILHERME, 2007).

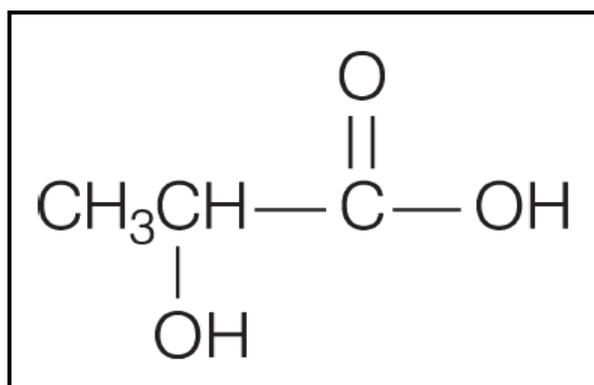


Figura 32 - Fórmula estrutural do ácido láctico (In: FIORUCCI; SOARES; CARVALHEIRO, 2002, p. 8).

Ácido láctico apresenta massa molar 90,07 g/mol e pKa= 3,83 (GUILHERME, 2007). Em relação à estrutura, este ácido é um ácido alfa-hidroxi simples com um carbono assimétrico. Dessa maneira o ácido láctico possui duas formas enantioméricas com atividade ótica (TRINDADE, 2002). Sua principal importância industrial é provocar a coagulação das proteínas do leite, promovendo a diminuição de seu pH, formando o coalho que é utilizado na fabricação de queijos (GUILHERME, 2007).

5.5 ASPARTAME

O aspartame (figura 33) ou éster metílico de N-alfa-aspartil-L-fenilalanina teve sua descoberta de forma acidental. O químico norte-americano James Schlatter em 1965 estava testando uma droga contra a úlcera, porém só foi liberado para consumo em 1981, após autorização do Food and Drug Administration (FDA), órgão norte americano responsável em testar drogas e assim garantir ausência de toxidade (MARTINS; AZOUBEL, 2006).

É um dipeptídeo sintético formado pelos aminoácidos ácido aspártico e fenilalanina (modificada por uma metilação), sua composição é em torno de 50% de fenilalanina (Phe), 40% de ácido aspártico (Asp) e 10% de metanol (sob a forma de éster) (MARTINS; AZOUBEL, 2006). O aspartame possui a capacidade de se coordenar a metais de transição, e é um α - amino ácido carboxílico, com vários pontos de coordenação (GUILHERME, 2007). Seus precursores e fórmula estrutural estão representados na figura 31.

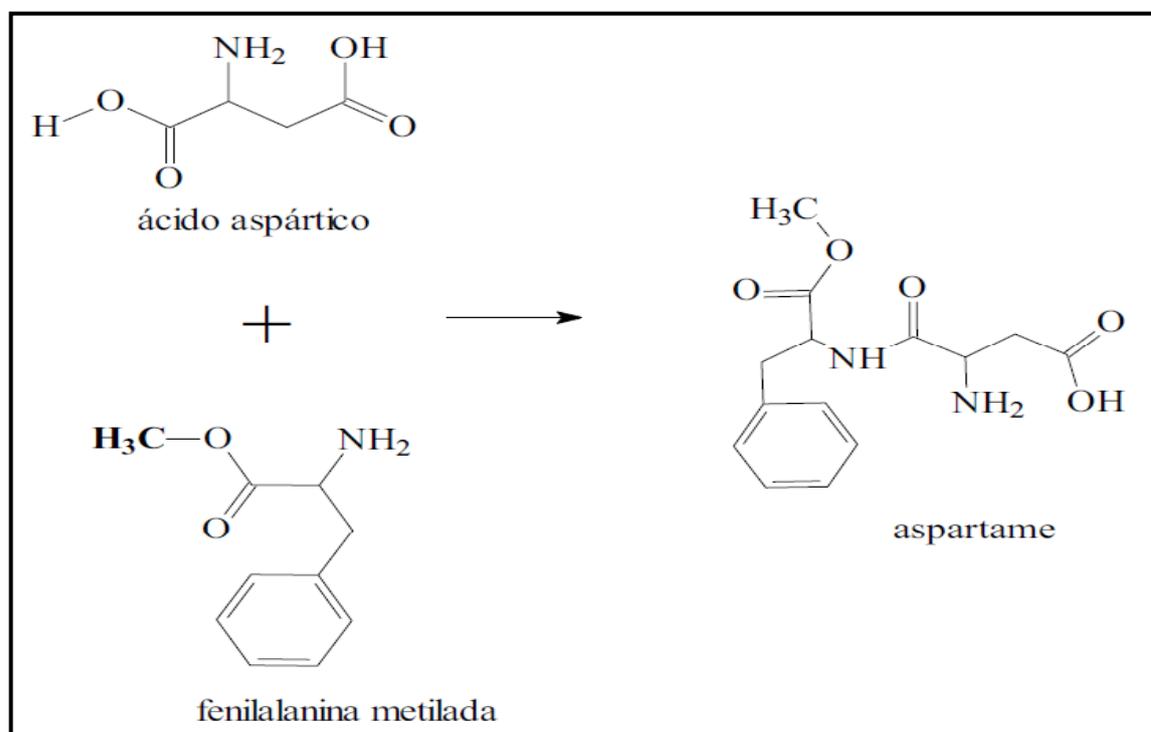


Figura 33 - Precursores e fórmula estrutural do aspartame (In: GUILHERME, Luciana Rebelo, 2007, p. 15).

Aspartame apresenta massa molar 294,30 g/mol, ponto de fusão 250°C e $pK_a=7,11$. Ele é utilizado como adoçante com o intuito de substituir o açúcar comum (GUILHERME, 2007). Tem um poder adoçante cerca de 200 vezes superior ao da sacarose, e seu sabor residual é considerado menos intenso do que outros edulcorantes como o ciclamato e a sacarina (MARTINS; AZOUBEL, 2006).

Ele é um pó branco, cristalino, inodoro, possuindo 4 cal/g, e apresenta algumas vantagens, tais como, devido sua intensa doçura tem uma redução calórica, é seguro para diabéticos, pode ser consumido por hipertensos, pois é isento de sódio, não é carcinogênico nem tóxico. Atualmente é um dos adoçantes mais comercializados no mundo, apresentando um vasto emprego em produtos diabéticos, como refrigerantes, iogurtes, refrescos em pó, gelatinas, pudins, chás e sorvetes (MEDEIROS, 2007).

6. DIABETES NO ENSINO DE QUÍMICA ORGÂNICA

6.1 FUNDAMENTOS DE AULAS PRÁTICAS NO ENSINO MÉDIO

Uma das maiores dificuldades no ensino de Química, nas escolas de nível fundamental e médio, é construir uma ponte entre o conhecimento escolar e o mundo cotidiano dos alunos. Ao se restringir o ensino a uma abordagem estritamente formal, acaba-se por não aproveitar as diversas possibilidades para tornar a química mais “palpável” e perde-se a oportunidade de associá-la com avanços tecnológicos que afetam diretamente a sociedade (BENITE; MACHADO, 2009).

A experimentação no ensino de ciências recebeu impulso nos anos 60 do século XX, onde a experimentação didática permanecia privilegiando concepções que caracterizam o empirismo e o indutivismo (BARATIERI et al., 2008). Deste modo a experimentação pode ser uma estratégia para a criação de problemas reais que permitam a contextualização e o estímulo para questionamentos do aluno (GUIMARÃES, 2009).

Ao utilizar aulas práticas, o professor poderá utilizar esta forma de ensino para:

- experimentação com ênfase em interatividade e superação
- estratégia educativa,
- integração entre teoria e prática

Assim os alunos farão descobertas instigantes e abrirá um leque de possibilidades para elucidar as dúvidas do cotidiano (PARRILHA, 2010).

Mas inicialmente, o professor deverá estar com suas idéias e métodos estruturados utilizando os seguintes fundamentos (BARATIERI et al., 2008):

- promover a compreensão dos conceitos científicos e facilitar aos alunos a confrontação de suas concepções atuais com novas informações vindas da

experimentação;

- desenvolver habilidades de organização e de raciocínio;
- familiarizar o aluno com o material tecnológico;
- oportunizar crescimento intelectual individual e coletivo.

Além dos objetivos expostos, é importante promover o bem-estar, a alegria motivando diretamente uma integração do ensino experimental e a possibilidade do aluno fazer uma leitura do mundo mais responsável e consciente (BARATIERI et al., 2008).

Os experimentos auxiliam na compreensão da natureza da ciência e dos seus conceitos, no desenvolvimento de atitudes científicas e no diagnóstico de concepções não-científicas. Além disso, contribuem para despertar o interesse pela ciência, que na maioria das vezes amedronta no primeiro contato (ALMEIDA et al., 2001).

Durante a aplicação da aula é de fundamental importância, a coleta de dados, ou até mesmo a aplicação de questionários durante o desenvolvimento do roteiro, pois assim a experimentação não é somente o instrumento para o desenvolvimento das competências, citadas anteriormente, já que na medida em que os dados são coletados dos experimentos, eles formam a palavra final sobre o entendimento do fenômeno estudado (GIORDAN, 1999).

O tema desenvolvido neste trabalho é a *Diabetes Mellitus*, uma enfermidade sistêmica, crônica e progressiva, a qual pode ser provocada pela deficiência de produção e/ou da ação do hormônio insulina, promovendo complicações agudas e crônicas nas pessoas acometidas por esta síndrome. Sendo que nos países desenvolvidos existe uma tendência de aumento na frequência do diabetes, principalmente em indivíduos jovens e sedentários, sendo que na década de 90, a síndrome predominava em indivíduos acima dos 40 anos co-relacionado com a obesidade na maioria das vezes (LIMA et al., 2011).

Como tema organizador de aprendizagem no ensino médio, o assunto será abordado para informar e alertar os alunos a respeito das causas e das consequências desta doença, promovendo a interdisciplinaridade e contextualização do ensino de química. O conteúdo específico será o carboidrato (açúcares),

desenvolvido tanto em aulas teóricas como em aulas práticas, para se trabalhar com os conceitos de funções orgânicas, solubilidade e oxirredução.

6.2 CARBOIDRATOS

Os carboidratos também chamados comumente de açúcares, são compostos orgânicos formados por átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio. Eles constituem a principal fonte de energia para os seres vivos, pois a glicose é usada como combustível das células e o cérebro é quase inteiramente dependente dela para realizar suas funções (JUNIOR, 2008).

Eles estão presentes em diversos alimentos, como frutas, leite, mel, pão, além de serem parte das estruturas do RNA (Ácido Ribonucleico) e do DNA (Ácido Desoxirribonucleico). Estes carboidratos são compostos de funções mistas de OH (álcool) com CHO (aldeído), as chamadas aldoses ou com C=O (cetona), as chamadas cetoses (JUNIOR, 2008).

O esquema a seguir apresenta fórmulas estruturais de alguns carboidratos (sacarose, glicose e frutose) em processo de hidrólise:



Figura 34 – Hidrólise da sacarose em meio ácido ou pela ação da enzima invertase (In: BRIGHENTI et al., 2011, p. 300).

Em meio ácido, a molécula de sacarose se quebra, o que resulta em uma molécula de glicose e outra de frutose livres no meio. Isso acontece também quando esse açúcar é ingerido: o suco gástrico, produzido no estômago, é capaz de provocar a quebra da ligação glicosídica, que mantinha as moléculas unidas (BRIGHENTI et al., 2011). Assim, esse glicídio de rápida absorção pode produzir altos níveis de glicose no sangue. A taxa de glicose considerada normal no sangue situa-se em torno de 90 mg de glicose por 100 mL de sangue, ou seja, 90 mg/dL (LIMA et al., 2011).

6.3 REAGENTE DE BENEDICT E SUA IMPORTÂNCIA NO DIAGNÓSTICO DO Diabetes *mellitus*.

Durante alguns anos, o reagente de Benedict, que contém os íons Cu^{2+} em solução, foi utilizado, na determinação dos níveis de glicose no sangue e na urina como diagnóstico da diabetes *mellitus*. Hoje em dia, há formas mais modernas e precisas de identificar o diabetes. Entretanto, a simplicidade desse reagente pode ajudar como instrumento didático para contextualizar o estudo dos açúcares no Ensino Médio (LIMA et al., 2011).

6.4 PREPARO DO REAGENTE BENEDICT UTILIZANDO MATERIAIS ALTERNATIVOS E TESTE COM MATERIAIS PRESENTES NO COTIDIANO

Neste experimento é possível identificar açúcares redutores por meio de oxidação da carbonila (perde elétrons), e essa reação provoca uma redução, por exemplo, do íon cúprico (Cu^{2+}) a cuproso (Cu^{+}), formando em seguida o composto Cu_2O e/ou CuOH . Esta reação de oxido-redução provoca uma mudança de coloração da solução (de amarelo a vermelho tijolo), tornando possível identificar de forma visual, a presença de aldoses ou cetoses. Esta mudança de coloração chama a atenção dos alunos, despertando maior interesse por parte dos mesmos, o que facilita o processo de aprendizagem (OLIVEIRA et al., 2006).

6.4.1 Materiais e Reagentes

- Meio copo americano de água quente
- Conta-gotas
- Pregador grande de madeira
- Tubo de ensaio
- Lamparina
- Álcool comercial
- Seringa descartável de plástico de 10 mL
- 4 colheres de chá de sal de frutas Eno® (5 g contêm: 2,3 g de bicarbonato de sódio; 2,2 g de ácido cítrico, 0,5 g de carbonato de sódio)
- ½ colher de chá de sulfato de cobre (encontrado em lojas de materiais para piscina)
- 5 mL de água quente (medidos em uma seringa)
- Uma colher de chá rasa do material a ser testado: mel, açúcar comum, Karo®, Sprite® Zero e o adoçante Finn®.

6.4.2 Procedimento Experimental

A preparação do reagente de Benedict é realizada pela solubilização completa de 4 colheres de chá de sal de fruta Eno® em meio copo americano de água quente. A essa solução adiciona-se uma solução de CuSO_4 (meia colher de chá) preparada com 5 mL de água quente (medida em uma seringa de plástico de 10 mL). A solução resultante deve ser bem homogeneizada.

Os testes são realizados em um tubo de ensaio, contendo em torno de 1 cm de altura de água e uma colher de chá rasa do material a ser testado.

Por meio de um conta-gotas, adiciona-se 10 gotas do reagente de Benedict. Se segura o tubo de ensaio com um pregador de madeira e aquece-se o fundo do tubo, com cuidado, em uma chama de lamparina (ou bico de bunsen) até que haja mudança na coloração da solução (máximo 2 min) (OLIVEIRA et al., 2006).

6.4.3 Resultados e Discussão

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos com o reagente de Benedict com produtos comerciais.

Alimento	Agente adoçante	Resultado
Finn® líquido aspartame	Aspartame	Negativo
Finn® líquido sacarina	Sacarina e ciclamato	Negativo
Finn® em pó aspartame	Aspartame e lactose	Positivo
Mel	Frutose, glicose, sacarose e maltose	Positivo
Sprite® Zero	Sacarina e ciclamato	Negativo
Açúcar comum	Sacarose	Positivo
Karo®	Glicose e frutose	Positivo

Tabela 4 – Resultados do experimento com o reagente de Benedict (OLIVEIRA et al., 2006).

A coloração inicial do reagente de Benedict é azul. Em presença de um agente redutor, após o aquecimento tem-se o aparecimento de coloração castanha opaca e/ou precipitado da mesma coloração. Esse fenômeno é justificado pela seguinte reação:

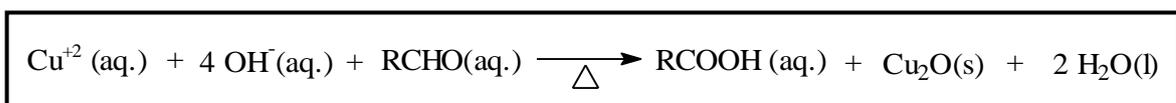


Figura 35 – Reação de oxidação do açúcar (In: OLIVEIRA et al., 2006, p.42)

O carbonato e o bicarbonato de sódio presentes no sal de frutas Eno® são hidrolisados por ação do ácido cítrico também presente na formulação do sal de frutas, liberando dióxido de carbono e produzindo assim o hidróxido de sódio necessário para a reação de oxidação mostrada acima (o pH do meio reacional fica em torno de 10).

Além disso, o íon Cu^{+2} precipita em meio alcalino na forma de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e/ou CuO , segundo a reação:

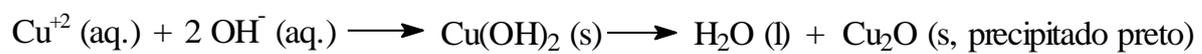


Figura 36 – Reação de formação do óxido de cobre (II) (In: OLIVEIRA et al., 2006, p.42)

Para evitar que essa reação mascare o teste de glicídios redutores, o íon cobre deve ser mantido em solução alcalina, sob a forma de um complexo com o íon citrato (OLIVEIRA et al., 2006).

7. CONCLUSÃO

Existem vários estudos sobre a atividade insulino-mimética dos sais e compostos simples de vanádio (IV) e (V), bem como sobre os complexos oxovanadatos como forma terapêutica alternativa para melhorar o controle dos quadros diabéticos. Contudo, os mecanismos que explicam os efeitos hipoglicêmicos dos complexos de oxovanádio ainda não estão bem elucidados. Acredita-se que somente o íon oxovanádio atue no metabolismo dos carboidratos. Já os ligantes têm a função de facilitar a transposição das barreiras celulares, e estabilizar o composto dentro do organismo, antes de entrar para o meio intracelular. Todos os dados de literatura indicam que em um futuro próximo novos e promissores complexos de coordenação de vanádio serão candidatos em potencial na terapia via oral, visto que alguns complexos já estão sendo utilizados via intramuscular, reduzindo a quantidade necessária de Insulina sintética e/ou semissintética.

REFERÊNCIAS

ADACHI, Yusuke; SAKURAI, Hiromu. **COMPARATIVE STUDY OF INSULIN-MIMETIC OF VANADIUM AND ZINC COMPLEXES**. 2004, 365p. University, Department of analytical and Bioinorganic Chemistry, Hyoto Pharmaceutical 5 Nakachi-cho, Misasagi, Yamashina-Ku Kyoto 607 – 8414, Japão, 2004, pg 351-353

ALMEIDA, Elba Cristina S; SILVA, Maria de Fátima Caetano; LIMA, Janaína P.; SILVA, Milca Limeira; BRAGA, Claudia; BRASILINO, Maria das Graças Azevedo. **Contextualização do ensino de química: motivando alunos do ensino médio**. Universidade Federal da Paraíba. Disponível em: <<http://www.prac.ufpb.br/anais/xenexxienid/xenex/ANAIS/Area4/4CCENDQPEX01.pdf>>. Acesso em: 19 de out. de 2011.

ALMEIDA, Patricia Berbel Leme; MELLO, Maria Alice Rostom .Desnutrição Protéica Fetal/Feonatal, Ação da Insulina e Homeostase Glicêmica na Vida Adulta: Efeitos do Jejum e do Exercício Agudo **Rev. bras. Educ. Fís. Esp**, v.18, n.1, jan./mar, 2004, p.17-30.

BALLIN, Marco Aurélio. **Síntese e análise estrutural de complexos de urânio e vanádio com ligantes derivados da piroxidina**. 2009. 108 p. . Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Santa Maria, 2009.

BARATIERI, Stela Mari; BASSO, Nara Regina de Souza; BORGES, Regina Maria Rabello; ROCHA FILHO, João Bernardes da. Opinião dos estudantes sobre a experimentação em química no Ensino Médio. **Experiências em Ensino de Ciências**, v.3(3), 2008. p.19-31.

BARBOSA, Andrey Castro. **Quelato complexos de oxovanádio(IV): potenciais mimetizadores de insulina**. 2004. p. 51. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, São Carlos, 2004.

Bem Estar. **Pré-diabetes afeta 12% da população brasileira e pode ser reversível.** Disponível em: <<http://g1.globo.com/bemestar/noticia/2012/05/pre-diabetes-afeta-12-da-populacao-brasileira-e-pode-ser-reversivel.html>>. Acesso em: 1 de jun. de 2012.

BENITE, Anna Maria Canavarro; MACHADO, Cláudio Roberto Benite. O laboratório didático no ensino de química: uma experiência no ensino público brasileiro. **Revista Iberoamericana de Education**, nº 48, janeiro, 2009, p.1-10.

BENITE, A. N. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. CONSIDERAÇÕES SOBRE A QUÍMICA BIOINORGÂNICA MEDICINAL. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, 2007, p. 131 – 142.

BORGES, Ruth H.U.; CARVALHO, Sandra; MADUREIRA, Fernando D. Especificação no sistema vanádio(V)-ácido antranil-hidroxâmico: uma contribuição para o tratamento do diabetes. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 29, 2009, Minas Gerais, Brasil. **Anais da Sociedade Brasileira de Química(SBQ)**.

BRIGHENTI, Deodoro Magno; CARVALHO, César Freire; BRIGHENTI, Carla Regina Guimarães; CARVALHO, Stephan Malfitano. Inversão da Sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de *Apis Mellifera* Linnaeus,1758. **Ciênc. Agrotec. Lavras**, v.35, n.2, março/abril, 2011. p.297-304.

BUDACH, N.; CHAGAS, K.; GEROMEL, C.; KRISTINA, K.; NUNES, J.; MIRANDA, S.; SILVA, T.; MOREIRA, V. M. MECANISMO DE AÇÃO DA INSULINA E SUA IMPORTÂNCIA NAS REAÇÕES METABÓLICAS DO ORGANISMO. **Ciência & Consciência**, v. 2, 2006.

CALDERÓN, J. P.; FERNÁNDEZ, P. S.; RIGO-RIGHI, C. G. Actividad Insulinomimética del Vanadio. **Enero**, dezembro, 2006, p. 3 – 10.

CARVALHEIRA José; ZECCHIN Henrique; SAAD Mario. Vias de Sinalização da Insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n. 4, agosto, 2002, p. 419-425.

CATAPRETA, C. A. A.; LANGE, L. C.; MURTHA, N. A. Sistema de tratamento e destinação final de resíduos sólidos industriais gerados na produção de insulina. **Trabalho apresentado no 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 1999, p. 1781 - 1788.

DIB, Sergio Atala. Heterogeneidade do Diabetes Melito Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 2, fevereiro, 2008, p. 205-218.

FABRIS, Diovane Jean. **COMPARAÇÃO DA GLICEMIA ENTRE O MÉTODO ENZIMÁTICO GLICOSE OXIDASE E GLICOSÍMETRO**. 2007. 70 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Biomedicina) - Instituto de Ciências da Saúde - Centro Universitário Feevale, Rio Grande do Sul, Novo Hamburgo, 2007.

FERNANDES, Tatiane Gomes; SERAPHIM, Patricia Monteiro. **Estudo Da Atividade Dos Compostos De Vanadio (IV) A Base De Schiff Mono Substituído Na Resistencia Insulínicas: Estabelecimento De Correlacao Físico Química Versus Atividade Fisiológica**. Projeto de Iniciação Científica - Campus Experimental Litoral Paulista – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

FERREIRA, Barbara. Biotecnologia/Fisiologia Clínica. **Figura da ação da insulina e do glucagon** Disponível em <
<http://www.univesp.ensinosuperior.sp.gov.br/preunivesp/media/upload/insulina.swf>>. Acesso em 23 out. de 2012.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Ácidos Orgânicos: dos Primórdios da Química Experimental à Sua Presença em Nosso Cotidiano. **Química Nova na Escola**, nº. 15, maio, 2002, p. 6–10.

Fórmula estrutural do complexo niglavan. Disponível em: <<http://www.lookchem.com/cas-122/122575-28-4.html>>. Acesso em: 06. Jun. de 2012.

GIORDAN, Marcelo. O papel da experimentação no ensino de ciências. **Química Nova na Escola**, n.10, novembro, 1999. p.43-49.

GROSS, J. L.; SILVEIRA, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes Melito: Diagnostico Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n. 1, fevereiro, 2002, p. 16-26.

GROSS, Jorge Luis; FERREIRA, Sandra R.G.; OLIVEIRA, José Egídio. **Glicemia pós-prandial.** Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302003000600017&script=sci_arttext#end>. Acesso em 25 jul. de 2012.

GUILHERME, Luciana Rebelo. **SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NOVOS COMPLEXOS DE VANÁDIO:ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DOS COMPLEXOS NO TRATAMENTO DO *DIABETES MELLITUS*.** 2007. 157p. Tese Doutorado - Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Araraquara, 2007.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no Ensino de Química: Caminhos e descaminhos rumo à aprendizagem significativa. **Química Nova na Escola**, v.31, n.3, agosto, 2009. p.198-202.

HABER, Esther P.; CURI, Rui.; CARVALHO, Carla R. O.; CARPENELLI, Angelo R. Secreção da insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 45, n. 3, junho, 2001, p. 219-227.

HENRIQUES, B. G.; SOUSA, V. P.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em formulações dermocosméticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, nº. 1, jan/mar, 2007, p. 39–45.

HIGA, Karen Cristiane. **A influência da periodontite na via de sinalização da insulina em músculo e fígado de ratos machos Wistar**. 2006. p. 95. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2006.

JENSEN, Willian B. Malic, Maleic and Malonic Acid. **J. Chem. Educ.**, v. 84, 2007, p. 1–2.

JUNIOR, Wilmo E. Francisco. Carboidrato: Estrutura, Propriedades e Funções. **Química Nova na Escola**, n.29, agosto, 2008. p.8-14.

LIMA, B. D. de. A Produção de Insulina Humana por Engenharia Genética. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, nº 23, novembro/dezembro, 2001, p. 28 – 31.

LIMA, D. B.; SANTOS, D. M.; RIBEIRO L. T. R.; MATOSI, S. S. M.; FIORETTO, E. T.; ARAGÃO, J. A.; BASTOS, A. A.; BRITO, C. J.; CARVALHO, C. R. O.; RODRIGUES, T. M. A.; SANTOS, M. R. V.; AIRESI, M. B.; MARÇALI, A. C. Conhecimento dos estudantes do Ensino Médio quando ao Diabetes na cidade de Itabaiana-Se. **SCIENTIA PLENA**, v.7, nº7, 2011, p.1-8.

LINS, Thiago Viégas Gomes; BARBOSA, Georgianne Nacre; OLIVEIRA, Márcia Rosa. **Produção do Hormônio Insulina à base de Técnicas da Moderna Engenharia Genética**. Centro de Ciências Exatas e da Natureza/ Departamento de Biologia Molecular. UFPB, Paraíba, 2010.

LUCENA, Joana Bezerra da Silva. **DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2**. 2007. 74p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia) – CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS, São Paulo, 2007.

MARTINS, M. R. I.; AZOUBEL, R. Efeitos do Aspartame no Rim Fetal de Ratos- Estudo Cariométrico. **J Bras Nefro**, v. 28, nº. 3, setembro, 2006, p. 151–157.

MARZBAN, Lucy; McNEILL, John H. Insulin-Like Actions of Vanadium: Potential as a Therapeutic Agent. **The journal of trace elements in experimental medicine**, n.16, Julho, 2003. p.253-267.

MEDEIROS, Roberta Antigo. **Determinação Voltamétrica de Aspartame e Ciclamato de Sódio em Produtos Dietéticos Empregando um Eletrodo de Diamante Dopado com Boro**. 2007. p. 127. Dissertação Mestrado – Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria SAS/MS nº 710, de 17 de dezembro de 2010**. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_diabete_inspido.pdf>. Acesso em 25 jul. de 2012.

MIRANDA, Cristiano Torres. **ESPECIAÇÃO QUÍMICA DO V(V) E V (VI) NA PRESENÇA DE ÁCIDOS (AMINO)-HIDROXÂMICOS EM MEIO AQUOSO**. 2010. .128 p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

NARDIN, P.; GUTERRES, S. S. ALFA-HIDRÓXIDOS: APLICAÇÕES COSMÉTICAS E DERMATOLÓGICAS. **Caderno de Farmácia**, v.15, nº. 1, 1999, p. 7–14.

NIEHUES, E.; ANDO, R. A.; TAKASHIMA, K. Estudo do comportamento cinético de oxidação do ácido mandélico por vanádio(V) em meio de ácido sulfúrico: efeito da presença de CTAB. **Seminário: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 27, nº. 2, jul/dez, 2006, p. 183–191.

OLIVEIRA, Edilberto Antonio Souza. **Insulina e fármacos hipoglicemiantes orais**. Disponível em <www.easo.com.br>. Acesso em 04 maio de 2011.

OLIVEIRA, Éverton dos Santos Teixeira de. **A Diabetes como tema de ensino na Química Orgânica**. 2011. 49p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ensino de

Química) - Instituto de Química - Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasília, 2011.

OLIVEIRA, Rachel Ouvinha de; MARIA, Luis Claudio de Santa; MERÇON, Fábio; AGUIAR, Mônica R. Marques Palermo de Aguiar. Preparo e Emprego do reagente de Benedict na análise de açúcares: Uma proposta para Ensino de Química Orgânica. **Química Nova na Escola**, n.23, maio, 2006. p.41-42.

OLIVEIRA, W. T. P. de; MOURA, R. C. R. **Insulina uma Abordagem Terapêutica, Biotecnológica e Sanitária**. São Paulo, 2010, p.1-20.

PEIXOTO, E. Histórico do elemento Vanádio. **Química Nova na Escola**, n. 24, 2006, p.1-3.

PIMENTA, Walkirya de Paula. **Diabetes Mellitus**. Disponível em <http://www.emv.fmb.unesp.br/aulas_on_line/Endocrinologia/diabetes_mellitus/pdf/diabetesmellitus.pdf>. Acesso em: 29 maio de 2012.

PINTO, Camila Cerboni. **A HIPERTENSÃO ARTERIAL EXACERBA O ESTRESSE OXIDATIVO EM RETINA DE RATOS EXPERIMENTALMENTE DIABÉTICOS**. 2007. 135 p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Médicas - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2007.

PIRES, Antonio Carlos; CHACRA, Antonio Roberto. A evolução da Insulinoterapia no Diabetes melito tipo 1. Disciplina de Endocrinologia e metabologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 2, Novembro, 2008, p. 268-278.

RIBEIRO, Henrique Quintas Teixeira; CAMARGO, Rodolfo Gonzalez; LIMA, Waldecir Paula; CARNEVALI, Luis Carlos Junior. Adaptações agudas promovidas por exercícios no aumento da expressão gênica, conteúdo e translocação da proteína GLUT-4 no músculo esquelético e melhora na responsividade à insulina.

Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício. v.10, n.2, abril/junho, 2011. P 106-110.

RIZZON, L. A.; SGANZERLA, V. M. A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS. **Ciência Rural**, v. 37, nº 3, maio/junho, 2007, p. 911–914.

RODRIGUES, Sérgio. **Glicemia Pós-Prandial.** Disponível em <<http://www.diabete.com.br/biblio/prandial.html>>. Acesso em: 17. jun. de 2011.

SAKURAI, Hiromu.; KATOH, Akira.; YOSHIKAWA, Yutaka. Chemistry and Biochemistry of Insulin-Mimetic Vanadium and Zinc Complexes. Trial for Treatment of Diabetes Mellitus. **Bull. Chem. Soc. Jpn**, v. 79, nº 11, 84ovember, 2006, p. 1645-1664.

SAKURAI, Hiromu.; KOJIMA, Yoshitane.; YOSHIKAWA, Yutaka.; KAWABE, Kenji.; YASUI, Hiroyuki. Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes. **Elsevier Science B.V**, v. 26, 2002, p. 187 – 198.

SARTORELLI, D.; FRANCO, L. Tendências do diabetes mellitus no Brasil: O papel da transição nutricional. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, 2003, p. 29-36.

S B D. Atualização Brasileira sobre diabetes. **Sociedade Brasileira de Diabetes**, agosto, 2006, 140 p.

SCHMIDT, Maria Ines; DUNCAN, Bruce B; HOFFMANN, Juliana Feliciati; MOURA, Lenildo de; MALTA, Deborah Carvalho; CARVALHO, Rosa Maria Sampaio Vilanova de. Prevalência de diabetes e hipertensão no Brasil baseada em inquérito de morbidade auto-referida, **Rev. Saúde Pública**, 2009, p.74-82.

SCOBIE, Ian N. **Atlas of DIABETES MELLITUS**. 3. Ed. United Kingdom: Editora Informa Healthcare, 2007.

SILVA, Elizabeth Rossi da Silva. Tratamento do Diabetes Mellitus Não Dependente de Insulina. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo(USP) **Arq Bras Cardiol**, v. 67, n. 4, 1996, p. 223-227.

SILVA, Silvânia Moura da. **DIABETES MELLITUS TIPO II: repercussão na saúde periodontal**. 2010. 46p. Monografia (Especialização) – Fundação Oswaldo Cruz, Pernambuco, Recife, 2010.

TIAGO, T. P. M. **Interação de oligómeros de vanadato com miosina de músculo esquelético**. 2000. 79p. Relatório de estágio de Licenciatura em Bioquímica - Universidade do Algarve, Faro, 2000.

TRINDADE, Mauro Campos. **Estudo da Recuperação de Ácido Lático Proveniente do Soro de Queijo pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes**. 2002. p.119. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

U. S. D. H. H. S. Insulin Resistance and Prediabetes. **NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH**, n. 9, Outubro, 2008, p. 1 – 8.

WEINERT, Leticia Schwerz; SILVEIRO, Sandra Pinho. **TRATAMENTO MEDICAMENTOSO DA HIPERGLICEMIA NO DIABETE MELITO TIPO 2**. 2005. 23 p.Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade federal do Rio Grande do Sul, 2007.

VARELLA, Drauzio. **Diabetes uma doença silenciosa**. Disponível em <<http://fantastico.globo.com/Jornalismo/FANT/0,,MUL1659468-15607-428,00.html>>. Acesso em 17 abr. de 2011.

VARELLA, Drauzio. **Cetoacidose diabética.** Disponível em <<http://drauziovarella.com.br/doencas-e-sintomas/cetoacidose-diabetica/>>. Acesso em 25 jul. de 2012.

VIGGIANO, Celeste Elvira. UMA REVISÃO SOBRE DIABETES MELITO. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, nº 11, jan/mar, 2007, p. 52-62.

YAMAZAKI, Ricardo Key. **REDUÇÃO DA GLICEMIA EM RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM SAIS DE VANÁDIO PEROXIDADOS IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS INTRACELULARES ENVOLVIDAS NO MECANISMO DE AÇÃO EM MÚSCULO SÓLEO.** 2004. 51 p .Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba, 2004.

YASUI, H.; TAMURA, A.; TAKINO, T.; SAKURAI, H. Structure-dependent metallokinetics of antidiabetic vanadyl-piccolinate complexes in rats: studies on solution structure, insulinomimetic activity, and metallokinetics. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 91, n. 1,2002, p. 327-338.