

# Avaliação eletroquímica e espectrofotométrica de soluções de rutina submetidas a ultrassom terapêutico

*Paula Bianchetti<sup>1,2</sup>*

*João Alberto F. Tassinari<sup>1</sup>*

*Débora G. Urnau Cerutti<sup>3</sup>*

*Dênis Barnes<sup>3</sup>*

*Eduardo Miranda Ethur<sup>4</sup>*

*Simone Stülp<sup>4</sup>*

## Resumo

Atualmente, a potencialização transdérmica de fármacos vem sendo utilizada pelos fisioterapeutas através de uma técnica denominada fonoforese, que se constitui na utilização de ultrassom (US) terapêutico na migração de moléculas de medicamentos através da pele. Contudo, o US pode apresentar efeitos oxidativos, sendo utilizado, por exemplo, na aceleração de reações químicas, bem como, em processos que envolvem limpeza de sistemas contaminados com compostos orgânicos. O presente trabalho teve o objetivo de realizar a avaliação eletroquímica e espectrofotométrica de soluções de rutina submetidas a aplicações de US terapêutico. Foram utilizadas técnicas tais como, voltametria cíclica, análise amperométrica, medidas de pH, condutividade, potencial de circuito aberto, bem como a espectrofotometria UV/Vis para avaliação do sistema. A partir do estudo realizado, verificou-se uma possível degradação das moléculas de rutina, quando submetidas ao US terapêutico nos modos contínuo e pulsado 5%, ambos com intensidade de 1,5Wcm<sup>-2</sup>.

**Palavras-chave:** Fisioterapia. Ultrassom. Rutina.

## Abstract

*Currently, the enhancement of transdermal drug has been used by physiotherapists through the phonoforesis which consists in the therapeutic ultrasound (US) use in the drug molecules migration of through the skin. However, the US can shows oxidative effects, and is used, for example, in chemical reactions acceleration and in organic compound contaminated systems clean. The present study aimed to perform the electrochemical and spectrophotometric evaluation of rutin solutions submitted to therapeutic US applications. It has been used techniques as cyclic voltammetry, amperometric analysis, pH, conductivity, open circuit potential, as well as spectrophotometry UV/Vis to evaluate this system.*

<sup>1</sup> Acadêmicos do Curso de Fisioterapia do Centro Universitário Univates, Lajeado, RS. E-mail: <pbianchetti@gmail.com, tassinary@gmail.com>

<sup>2</sup> Bolsista de Iniciação Científica do Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos.

<sup>3</sup> Professores do curso de Fisioterapia e Tecnologia em Estética e Cosmetologia do Centro Universitário Univates, Lajeado, RS. E-mail: <debyucerutti@yahoo.com.br, dbarnes@bol.com.br>

<sup>4</sup> Professores Doutores do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento do Centro Universitário Univates, Lajeado, RS. E-mail: <eduardome@univates.br, stulp@univates.br>

Recebido em 27/05/09 e aceito em 16/08/09.

*From the study done, it has been verified that there was a possible degradation of the rutin molecules, when subjected to US treatment in continuous and pulsed modes 5%, both with 1.5 Wcm<sup>-2</sup> intensity.*

**Keywords:** *Physiotherapy. Ultrasound. Rutin.*

## 1 Introdução

Na prática clínica da fisioterapia, observa-se o crescente uso de recursos eletrotermofototerápicos pelos profissionais. Esses recursos vêm sendo utilizados como uma importante ferramenta na reabilitação dos mais diferentes tipos de lesões, objetivando acelerar o processo de cura nos tecidos moles e aliviar a dor (PRENTICE, 2002; PRENTICE, 2004; GUIRRO; GUIRRO, 2002). Dentre esses recursos, destaca-se o ultrassom (US) terapêutico, o qual Kitchen e Bazin (1998) caracterizam como peça fundamental no tratamento dos distúrbios músculos-esqueléticos e no reparo tecidual de lesões musculares.

Descoberto por Langevin em 1917, o US foi inicialmente produzido através de um cristal de quartzo vibrante, submetido a uma corrente de alta frequência. Atualmente, são utilizados cristais cerâmicos sintéticos na fabricação do US. Desses materiais, a liga Pb-Zr-Ti apresenta excelente desempenho devido a sua durabilidade e eficiência em converter a corrente elétrica em vibrações mecânicas. Tal conversão é fundamental para o funcionamento do equipamento, pois as vibrações produzidas acionam as partículas do meio, gerando ondas por efeito de compressão e de decompressão. As vibrações são produzidas a partir da contração do cristal, sob a influência de uma corrente elétrica em uma determinada direção, e de sua expansão, quando a corrente elétrica é revertida. O cristal retorna a sua forma original, assim que a corrente é desligada (FUJIRINI; LONGO, 2002).

O feixe ultrassônico carrega uma quantidade de energia produzida pelo transdutor, sendo a energia transportada em um determinado intervalo de tempo, denominada de potência e sua unidade é o Watt (W). Essa potência dividida pela área do feixe (cm<sup>2</sup>) fornece a intensidade do feixe, dada em Wcm<sup>-2</sup> (AGNE, 2004).

Quando o US penetra no corpo, pode ocasionar efeitos nas células e tecidos, essencialmente, por dois mecanismos físicos: térmico e não térmico (KITCHEN, 2003). Kitchen e Bazin (1998) concordam que o US terapêutico pode induzir respostas clinicamente significativas em células, tecidos e órgãos por meio de efeitos térmicos e biofísicos não-térmicos.

Sabe-se que muitos fisioterapeutas vêm aplicando medicamentos tópicos simultaneamente à aplicação do US, com a finalidade de aumentar a penetração dos fármacos e diminuir os efeitos adversos dos medicamentos no organismo. Essa técnica faz uso da vibração sonora de alta frequência, que Low e Reed (2001) denominam fonoforese.

A transmissão transdérmica de fármacos oferece uma opção para outras vias de administração. Contudo, esta aplicação tem sido limitada a poucos fármacos, pois a epiderme é pouco permeável (CAMPOS, 2004). Segundo Byl (1995), a propriedade de barreira da pele é atribuída à camada córnea que é composta por corneócitos, cuja bicamada lipídica dificulta o transporte de íons.

Kitchen (2003) define fonoforese como a migração de moléculas de fármacos através da pele sob a influência do US. Teoricamente, a fonoforese é possível através da utilização das forças da corrente acústica que existem no campo do US. Entretanto, é questionável se essa força é suficiente para conduzir moléculas até o tecido alvo. Além disso, geralmente, é difícil determinar se o efeito biológico de uma onda aplicada topicamente é resultado de sua ação direta no tecido alvo subjacente, ou se é devido a um efeito sistêmico. Contudo, é provável que a fonoforese não dependa apenas da frequência, da intensidade, do ciclo líquido ou da duração do tratamento do US, mas também da natureza da molécula do medicamento propriamente dito. Dessa forma, são necessárias pesquisas de fármacos que possam ser usados de forma

mais efetiva nesta técnica (MITRAGOTRI; KOST, 2004; MARTINES; DAVOLO; JAFELICCI, 2000).

O método baseia-se na perturbação dos tecidos, gerando um movimento mais rápido das partículas e, assim, encorajando a absorção da droga (LOW; REED, 2001). Prentice (2004) ressalta que a técnica utiliza, normalmente, moléculas de medicação tópica, geralmente analgésicos ou anti-inflamatórios. A técnica mais difundida da fonoforese é a permeação de hidrocortisona, que tem efeito anti-inflamatório, sendo usada no tratamento de bursite, ponto gatilho e tendinite. Observa-se, ainda, que na fonoforese utiliza-se tanto o US contínuo, quanto o pulsátil, sendo que o contínuo, com intensidade suficiente para produzir efeitos térmicos, pode induzir a resposta pró-inflamatória.

É importante referir, que alguns estudos em animais foram realizados, dentre os quais se destaca o de Hsieh (2006) que, a partir de pesquisas experimentais com a utilização de diclofenaco em ratos, relatou uma diminuição dos sintomas da artrite nestes animais, quando da aplicação de US terapêutico associado ao diclofenaco.

Assim como estudos envolvendo a aplicação de US com a utilização de fármacos são importantes, também a avaliação da condutividade dos diferentes meios utilizados nestas aplicações torna-se necessária. Recentemente, Ferreira e colaboradores (2006) mediram a condutividade de trinta e sete meios condutores, comumente utilizados nas aplicações de US terapêutico, com a finalidade de facilitar sua escolha durante a prática clínica dos fisioterapeutas. O estudo mostrou, de forma geral, que os produtos fabricados especificamente para este tipo de utilização (géis) registraram condutividades elevadas. Da mesma forma, os fármacos de aplicação tópica, com denominações de gel ou emulgel, registraram valores igualmente elevados, contrastando, assim, com os cremes, loções e pomadas que apresentaram valores de condutividade muito baixos ou mesmo nulos.

É importante ressaltar que são extremamente escassos artigos, pesquisas ou estudos

que descrevam o efeito do US sobre a estrutura química dos medicamentos usados na fonoforese. Ainda que exista a sugestão de que o US, raramente, promove mudanças químicas em moléculas de fármacos (BARNES, 2008), há relatos de que produza alguns efeitos químicos importantes. Fuirini e Longo (2002) destacaram que o US pode produzir alterações nas estruturas moleculares, podendo ser utilizado na condução de reações químicas ou, ainda, na limpeza de superfícies, dependendo da frequência e intensidade empregados (GARBELLINI; SALAZAR-BANDA; AVACA, 2008).

Sobre os medicamentos que vêm sendo agregados à onda sônica, a literatura pouco refere. Dentre eles, destaca-se a rutina, um flavonóide da classe dos flavonóis que pode ser empregado como antioxidante na prevenção ou no tratamento de insuficiência venosa e linfática (VELASCO *et al.*, 2008). A rutina é um pigmento amarelo sólido, semelhante à quercetina (MELOS *et al.*, 2007), sendo que a molécula de rutina é a molécula de quercetina ligada a um dissacarídeo (GENG *et al.*, 2008).

Cabe destacar, ainda, que os compostos fenólicos podem apresentar, em determinadas situações, atividade anti e pró-oxidante, pois conseguem inibir o processo redox em certos sistemas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Barnes (2008) utilizou a espectrofotometria para sugerir a ausência de degradação das moléculas testadas (o diclofenaco sódico, a dexametasona e a rutina), pelo efeito do emprego do US. O efeito da exposição do US sobre a estrutura de moléculas é importante, uma vez que a atividade biológica e a absorção percutânea das mesmas são diretamente dependentes da ausência de degradação nas condições empregadas.

Recentemente, Cerutti (2009) sugeriu, em sua obra, que a ação física e química do US promove alteração no substrato de *Arnica montana*, que contém em sua composição isoquercetina, estruturalmente semelhante às moléculas de rutina. Cabe ressaltar, ainda, que os resultados demonstraram a possibilidade de

detecção da degradação da isoquercetina através do emprego da voltametria cíclica e/ou da cronoamperometria. Tais técnicas fornecem uma possibilidade para a determinação semi-quantitativa da alteração ou modificação estrutural de moléculas, como constatado para o caso da malationa, princípio ativo do pesticida Malathion (STÜLP; SILVA; MARMITT, 2008).

Com o propósito de contribuir com as pesquisas ainda muito escassas na área da fisioterapia relacionada à eletroterapia associada a fármacos, o presente trabalho estuda a possível degradação química da rutina (figura 1), sob efeito do US terapêutico contínuo e pulsado.

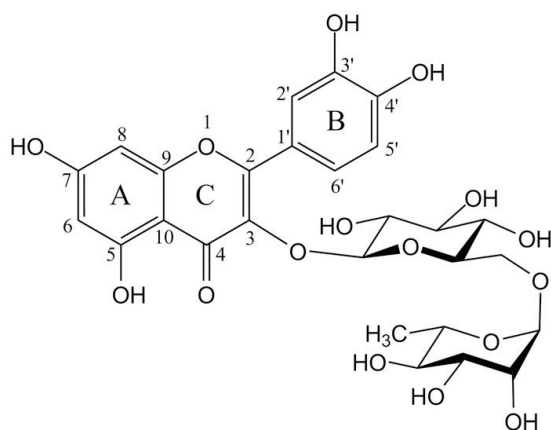


Figura 1 – Fórmula estrutural da rutina

## 2 Procedimento experimental

### 2.1 Reagentes

Nos ensaios de incidência de onda sônica, as amostras utilizadas para a análise foram obtidas a partir de rutina 94% SIGMA-ALDRICH, lote 128K1177, com validade até 28/02/2014. Para possibilitar que a solução se tornasse homogênea e próxima do limite de solubilidade, a rutina foi diluída em água na concentração de  $0,125 \text{ gL}^{-1}$ , sendo esta a concentração limite em termos de solubilidade. As amostras foram preparadas a partir de diluições empregando água deionizada.

### 2.2 Tratamento com US terapêutico

O aparelho de US terapêutico utilizado foi da marca HTM, modelo sonic compact. O transdutor do US foi imerso na solução de

rutina, sendo aplicado nos modos pulsado e contínuo nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20 minutos.

Foram usados os seguintes parâmetros: no modo pulsado, ciclo de 5% (indica o tempo de emissão da onda), intensidade de  $1,5 \text{ Wcm}^{-2}$ , frequência de 1 MHz no transdutor e de 100 Hz no pulso; no modo contínuo, intensidade de  $1,5 \text{ Wcm}^{-2}$  e frequência de 1 MHz no transdutor.

### 2.3 Análises

As avaliações analíticas foram realizadas com o auxílio de um *pHmetro Digimed DM-20*, um espectrofotômetro marca *Varian*, modelo *Cary 100 B* e um condutivímetro *Digimed DM-32*.

As análises eletroquímicas foram realizadas empregando potenciostato da *Autolab/Ecochemie PGSTAT 128N*, a janela eletroquímica foi de  $-400 \text{ mV}$  a  $+1400 \text{ mV}$ , com velocidade de varredura de  $10 \text{ mVs}^{-1}$ . Nas análises amperométricas foi utilizada uma fonte de tensão Cidepe EQ030 e um multímetro digital ET-2081 Minipa. Empregou-se uma célula eletroquímica de um compartimento com três eletrodos (figura 2).

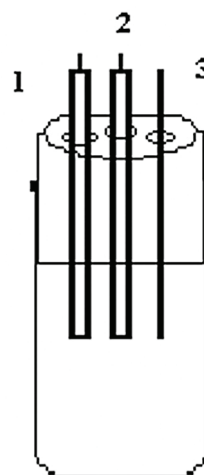


Figura 2 – Esquema da célula utilizada nos experimentos eletroquímicos, sendo 1 o eletrodo de carbono vítreo; 2 o eletrodo de referência (Ag/AgCl) e 3 o contra-eletrodo de platina

Como eletrodo de referência, empregou-se o eletrodo de Ag/AgCl, ao qual todos os potenciais no texto são referidos, o eletrodo de trabalho foi um eletrodo de carbono vítreo da *Analion* (área de  $0,0314 \text{ cm}^2$ ), e como contra

eletrodo, foi empregado um fio de platina. Nas análises amperométricas, foram aplicados potenciais constantes de 400; 900 e 1000 mV por 10 segundos.

As medições foram realizadas antes da exposição (tempo 0) da solução à onda sônica e durante a exposição, por intervalos de tempo de 5, 10, 15 e 20 minutos. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas, e uma média aritmética das mesmas foi feita.

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Análises eletroquímicas

Inicialmente, foram realizadas voltametrias cíclicas antes e após a aplicação de US terapêutico às soluções de rutina 0,125 gL<sup>-1</sup> durante 20 minutos, sendo os potenciais em relação ao eletrodo de Ag/AgCl.

Na figura 3, tem-se o voltamograma cíclico característico de eletrodos de carbono vítreo em soluções de rutina nas condições estudadas.

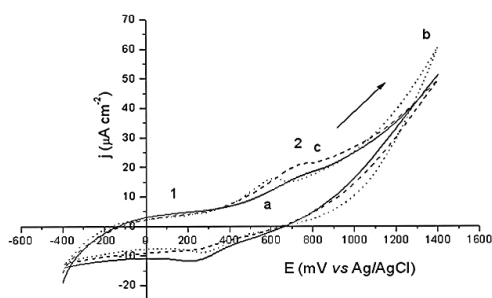


Figura 3 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em solução de rutina 0,125 g L<sup>-1</sup> antes (a) e após a aplicação do US terapêutico nos modos pulsado (b) e contínuo (c),  $v = 10 \text{ mVs}^{-1}$

Na avaliação da figura 3, pode-se verificar a presença de duas regiões de oxidação, representadas pelos números 1 e 2, a primeira região, em torno de 200 mV, é descrita na literatura como sendo relativa à oxidação das hidroxilas ligadas aos carbonos 3' e 4' do anel B da molécula de rutina, já a segunda região, em torno de 800 mV, está relacionada com reações de oxidação envolvendo hidroxilas ligadas ao anel A da molécula de rutina (TIMBOLA; SOUZA; GIACOMELLI; SPINELLI, 2006, FELÍCIO *et al.*, 2009).

Na figura 3, verifica-se que, na região de 800 mV, há um incremento dos picos de oxidação indicando que, após a aplicação do US, ocorre a oxidação da rutina de maneira mais pronunciada, devido ao efeito da radiação sônica sobre a molécula, sendo que a carga dos voltamogramas também é alterada de 18 mCcm<sup>-2</sup> sem a exposição ao US, para valores em torno de 20 mCcm<sup>-2</sup> após a exposição ao US. Além disso, podem ser observadas alterações nos valores de potencial de pico (Ep), essas alterações estão relacionadas a variações dos valores de pH observados durante os experimentos (CABRAL; SOUZA; ALVES; MACHADO, 2003, TIMBOLA; SOUZA; GIACOMELLI; SPINELLI, 2006), demonstrando que as reações de oxidação ocorridas são dependentes das condições da solução, podendo acarretar inclusive uma maior ou menor visibilidade dos picos durante a avaliação voltamétrica, já que os produtos são extremamente instáveis, havendo possibilidade de reversibilidade do sistema. Além disso, variações na velocidade de varredura igualmente modificam o comportamento observado, reforçando a hipótese dos produtos instáveis formados (TIMBOLA; SOUZA; GIACOMELLI; SPINELLI, 2006). Já em regiões de potenciais próximos a 200 mV, o pico referente aos processos de oxidação não está tão evidente, novamente pela ausência de estabilidade dos produtos formados (=O ligada aos carbonos do anel B da molécula de rutina).

Após a avaliação voltamétrica, foram realizadas medidas amperométricas antes e após a aplicação de US terapêutico às soluções de rutina 0,125 gL<sup>-1</sup> (após 20 minutos de aplicação do US). Os potenciais avaliados foram 400 mV, 900 mV e 1000 mV sendo todos referenciados ao eletrodo de Ag/AgCl. Estes potenciais foram escolhidos, pois são característicos da rutina (FELÍCIO *et al.*, 2009, SIMIC; MANOJLOVIC; SEGAN; TODOROVIC, 2007).

Na figura 4, tem-se a relação entre a corrente desenvolvida pelo sistema e o potencial aplicado para os sistemas em estudo.



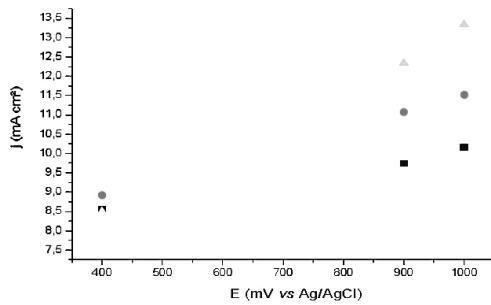


Figura 4 – Densidade de corrente versus Potencial para as soluções de rutina 0,125g L<sup>-1</sup>; sem (■) e com submissão ao US pulsado (●) e contínuo (▲) por 20 minutos

Na avaliação da figura 4, verifica-se que as amostras submetidas ao US pulsado tiveram seus valores de densidade de corrente aumentados, podendo indicar alteração eletroquímica nos sistemas após aplicação do US. Em termos estatísticos, as diferenças nas análises não são significativas, sendo em 400 mV ( $p = 0,66032$ ;  $f = 0,22452$ ); 900 mV ( $p = 0,22685$ ;  $f = 2,03521$ ) e 1000 mV ( $p = 0,22457$ ;  $f = 2,05965$ ).

O mesmo fenômeno pode ser observado para as amostras submetidas ao US contínuo, sendo que, para este sistema, os valores de densidade de corrente são superiores, com exceção ao potencial de 400 mV. Tal resultado pode ser devido ao fato de, no modo contínuo, a onda sônica ser aplicada continuamente, diferentemente da aplicação no modo pulsado, onde há períodos de “off time” (PRENTICE, 2004). Estatisticamente, para as análises efetuadas no modo contínuo, as mesmas também não apresentaram significância estatística, sendo em 400 mV ( $p = 0,30985$  e  $f = 1,3502$ ); 900 mV ( $p = 0,2933$  e  $f = 1,46105$ ) e em 1000 mV ( $p = 0,24258$  e  $f = 1,87664$ ).

A figura 5 refere-se à variação da condutividade elétrica da solução de rutina 0,125 gL<sup>-1</sup>, ao longo do tempo, sob incidência de onda sônica terapêutica nos modos pulsado e contínuo.

A figura 5 mostra que, no modo contínuo, ocorreu um rápido incremento inicial da condutividade, tendendo à estabilidade em função do tempo de exposição à onda sônica. O mesmo comportamento foi observado para o sistema sob ação do modo pul-

sado, porém, neste caso, o aumento não foi tão pronunciado. Estatisticamente, a variação da condutividade no modo pulsado não apresenta significância ( $p = 0,89019$ ;  $f = 0,53179$ ), assim como no modo contínuo onde  $p = 0,08589$  e  $f = 2,7879$ .

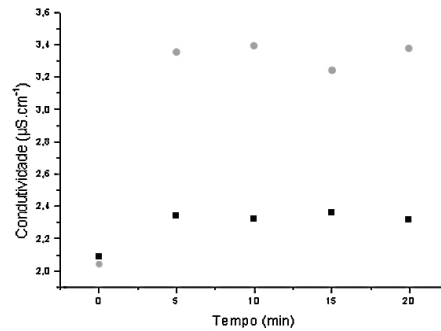


Figura 5 – Variação da condutividade elétrica ao longo do tempo de incidência da onda sônica no modo pulsado (■) e contínuo (●)

O aumento de condutividade nos dois sistemas estudados, indica alterações ocorridas na molécula de rutina após esta ser submetida à onda sônica, comportamento este mais pronunciado quando da aplicação do US no modo contínuo. Uma das hipóteses é a liberação de hidrogênios da molécula da rutina, hidrogênios estes ligados inicialmente aos grupamentos -OH do flavonóide estudado (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SIMIC; MANOJLOVIC; SEGAN; TODOROVIC, 2007).

A tabela 1 apresenta a variação do potencial do circuito aberto (PCA) em função do tempo de aplicação do US em diferentes modo (pulsado e contínuo) na solução de rutina, bem como os valores de pH e temperatura destes sistemas.

Na avaliação da tabela 1, verifica-se que, no modo pulsado, o potencial de circuito aberto manteve-se constante ao longo do tempo observado. No modo contínuo, contudo, observa-se um rápido aumento desta variável. Este deslocamento de potenciais para valores maiores pode indicar, por exemplo, a adsorção da molécula de rutina sobre a superfície do eletrodo, devido à saída dos hidrogênios dos grupamentos -OH concordante com os resultados obtidos nas medidas de condutividade efetuadas antes e após a aplicação de US terapêutico.

Tabela 1 – Variação da temperatura, pH e Potencial de Circuito Aberto (PCA) da solução de rutina, em relação ao tempo de exposição à onda sônica nos modos contínuo e pulsado 5%

Tempo de aplicação (minutos)	Temperatura (°C)		pH		PCA (mV)	
	US Contínuo	US Pulsado	US Contínuo	US Pulsado	US Contínuo	US Pulsado
0	26,2	25,7	5,64	5,63	70	70
5	27,4	25,6	5,02	5,63	101	68
10	28,5	25,5	5,02	5,54	104	70
15	29,5	25,5	5,02	5,49	105	75
20	30,4	25,5	5,02	5,43	107	78

Em relação ao pH, verifica-se que a solução, quando submetida ao US no modo contínuo, apresenta redução do pH nos primeiros cinco minutos, mantendo-se constante pelo restante do período avaliado. No modo pulsado 5%, a solução apresentou um decréscimo do pH gradual até o tempo de incidência de 20 minutos, porém o decréscimo não foi tão pronunciado em comparação ao contínuo. Isto pode ser devido a maior liberação de hidrogênios da rutina, quando a solução é submetida ao US contínuo concordante, novamente, com os resultados de condutividade obtidos, indicando um aumento no número de cargas presentes em solução. Os resultados do modo contínuo não apresentaram variância significativa na estatística ( $p= 0,90772$ ;  $f= 0,24255$ ) assim como no modo pulsado ( $p= 0,93513$ ;  $f= 0,19554$ ).

Quanto à temperatura, a solução de rutina, quando submetida ao US no modo pulsado, mantém sua temperatura constante com um pequeno decréscimo ao longo do período observado, em contraste ao modo contínuo que acarretou uma elevação da temperatura da solução durante o mesmo período. No modo pulsado, a variância na temperatura não apresentou significância estatística ( $p= 0,85369$ ;  $f= 0,32692$ ), ao contrário do modo contínuo que apresentou significância estatística, com ( $p= 0,04657$  e  $f= 3,57373$ ).

No modo pulsado, não há aumento significativo da temperatura, sendo que os efeitos que fundamentam o tratamento clínico de fisioterapia são caracterizados como físicos. Supõe-

se que alguns destes mecanismos físicos estejam envolvidos na produção destes efeitos atômicos, como correntes acústicas e ondas estacionárias (LOW; REED, 2001). No modo contínuo, a temperatura da solução aumentou linearmente cerca de 5°C ao longo dos 20 minutos de terapia ( $y= 1,06333x + 25,24333$  e  $R= 0,99893$ ), esse efeito é determinado por diversos fatores, como o tempo de irradiação local; a técnica de aplicação (estacionária ou móvel); as dimensões do corpo aquecido e a presença de superfícies refletoras (GUIRRO *et al.*, 1996).

O modo contínuo pode acarretar aumento da temperatura se a intensidade do feixe for alta o suficiente (LOW; REED, 2001), já que na prática clínica não há uma dose padronizada. Sabe-se, porém, que doses superiores a 1,0 Wcm<sup>-2</sup> são caracterizadas como altas e podem ser lesivas (GUIRRO *et al.*, 1996), em contrapartida na fisioterapia dermatofuncional, Borges (2006) sugere doses de 1,2 a 1,5 Wcm<sup>-2</sup>. Por outro lado, o modo pulsado, na mesma intensidade instantânea, terá média temporal de intensidade muito mais baixa e, assim, um aquecimento insignificante (LOW; REED, 2001), uma vez que, nesse modo, a intensidade é interrompida periodicamente, sem produção de energia ultrassônica durante o intervalo “off time” (PRENTICE, 2004).

Os resultados evidenciam que, no modo contínuo, ocorrem alterações eletroquímicas no sistema, podendo-se sugerir uma possível degradação (alteração estrutural) da rutina. Essa alteração, maior no modo contínuo, é

reforçada pelos resultados obtidos por voltametria cíclica, medidas amperométricas e de condutividade elétrica. Tais alterações ocorrem, possivelmente, devido às forças da corrente acústica existentes no campo do US (KITCHEN, 2003), fenômeno fundamental na fonoforese.

Provavelmente, a corrente acústica é a responsável pela alteração da estrutura química da rutina, que Koeke *et al.* (2005) denominaram de cavitação, o qual provoca mudanças no arranjo da camada córnea da epiderme quando da aplicação terapêutica *in vivo* do US. Mitragotri e Kost (2004) citam que a cavitação é o principal mecanismo para o fonoforese, pois induz uma desordem na bicamada lipídica da camada córnea, aumentando o transporte através da membrana. Os mesmos autores ainda relatam a ação do US sobre os tecidos devido ao efeito tixotrópico, facilitando assim a absorção de fármacos. A cavitação tem por consequência a formação de cavidades (GARBELLINI; SALAZAR-BANDA; AVACA, 2008) com dimensões de micrômetros em fluidos contendo gases. Dependendo da amplitude da onda sônica, essas bolhas podem ser benéficas ou lesivas (PRENTICE, 2004). Tal fenômeno pode inclusive ocasionar a quebra de interações intermoleculares, bem como ligações duplas também podem ser afetadas pela agitação do sistema (PÉRES *et al.*, 2006).

### 3.2 Análises espectrofotométricas

A figura 6 apresenta os espectros de absorvância na região UV/Vis da solução de rutina  $0,125\text{gL}^{-1}$  ao longo do tempo de exposição

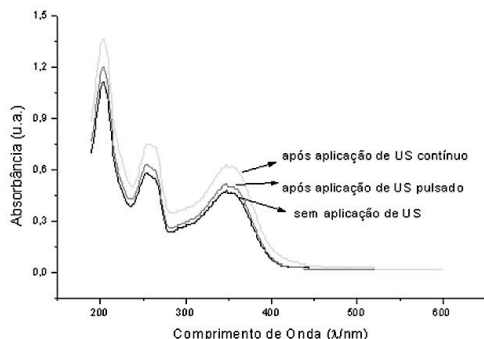


Figura 6 – Espectro UV/Vis de soluções de rutina  $0,125\text{gL}^{-1}$  sem aplicação de US e após 20 minutos de exposição no modo pulsado 5% e modo contínuo

ção ao US (tempo 0 e 20 min) nos modos pulsado e contínuo.

Avaliando a figura 6, pode-se verificar que ocorrem incrementos de absorvância nas bandas características da rutina, em regiões de 257 nm e 357 nm (VERZA *et al.*, 2007).

O incremento das bandas características pode estar relacionado com o aumento da solubilidade da rutina, devido à ação do US e, ainda, devido ao processo oxidativo ocorrido por meio da incidência da onda sônica. A figura 7 apresenta o processo oxidativo proposto por Souza e Giovani (2004) para a molécula da rutina, envolvendo a liberação de hidrogênios (nos carbonos 3' e 4' do anel B), além desta reação, ainda pode ser mencionada a liberação de hidrogênios no anel A da molécula de rutina, também descrito na literatura (TIMBOLA; SOUZA; GIACOMELLI; SPINELLI, 2006).

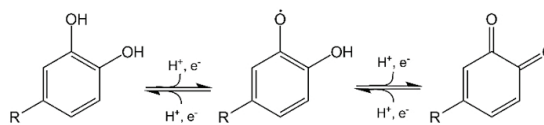


Figura 7 – Mecanismo de oxidação da molécula de rutina.

Em termos de aplicabilidade clínica, considerando-se o aumento da quantidade de espécies condutoras verificado, a partir do aumento da condutividade, sugere-se que há um aumento da transmissibilidade da onda sônica (OLSSON *et al.*, 2008), já que a transmissão ocorre através da vibração das moléculas do meio pelo qual a onda se propaga, sendo transmitida para as moléculas adjacentes (MARTINES; DAVOLO; JAFELICCI, 2000).

Outro fator relevante é o aumento da mobilidade iônica, já sugerido por trabalho realizado por Cerutti (2009), em estudo eletroquímico de amostras de extrato de *Arnica montana* submetidas ao US terapêutico. Além disso, a liberação de hidrogênios das moléculas de polifenóis constitui uma das formas de ação antioxidante dos flavonóides (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006), podendo ser este um aspecto positivo em termos de aplicação fisioterapêutica.



## 4 Conclusões

Os resultados das análises realizadas sugerem uma possível degradação das moléculas de rutina, quando submetidas ao US terapêutico nos modos contínuo e pulsado 5%, ambos com intensidade de  $1,5\text{Wcm}^{-2}$ , por meio da liberação de hidrogênios da estrutura do flavonóide para a solução, sendo no modo contínuo a alteração mais significativa.

É importante ressaltar que esta provável alteração no sistema pode implicar modificações na permeabilidade e na ação antioxidante da rutina no momento do tratamento clínico. Portanto, o referido estudo ainda evidencia a importância da realização de futuras pesquisas acerca dos inúmeros fármacos combinados à onda sônica utilizados na medicina regenerativa.

## Referências

- AGNE, J. E. **Eletrotermoterapia: teoria e prática**. Santa Maria: Pallotti, 2004. 365p.
- BARNES, D. **Efeito do Ultra-som sobre a nocicepção e o processo inflamatório em modelos animais e sobre a estrutura química de fármacos**. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) - PPGAD. Centro Universitário Univates, Lajeado, RS, Brasil 2008, p. 365. Disponível em: <<http://www.univates.br/bdv/handle/369146285/56>>.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 113-123, 2006. Disponível em: <<http://quimicanova.sbp.org.br>>.
- BORGES, F. S. **Dermato-funcional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. São Paulo: Phorte, 2006.
- BYL, N. N. The use of ultrasound as an enhancer for transcutaneous drug delivery: phonophoresis. **Physical Therapy**, Alexandria, VA, v.75, n.2, p. 90-103, fev. 1995. Disponível em: <<http://www.ptjournal.org/archive/1995.dtl>>.
- CABRAL, M.F; SOUZA, D. de; ALVES, C.R.; MACHADO, S.A.S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, **Eclética Química**, Araraquara, SP, v. 28, n. 2, p. 41-47, 2003.
- CAMPOS, M. S. M. P. de. **Influência do ultrassom na permeação da cafeína: Estudo em fragmentos de pele e em adipócitos isolados de suíno**. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2004. Disponível em: <<http://libdigi.unicamp.br>>.
- CERUTTI, D.G.U. **Estudo dos efeitos do ultrassom na veiculação de fitoterápicos através da análise da degradação da *Arnica montana***. Dissertação (Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento) – PPGAD, Centro Universitário Univates, Lajeado, RS, 2009. Disponível em: <<http://www.univates.br/edu>>
- FELÍCIO, N. H. *et al.* Estudo eletroanalítico de rutina utilizando eletrodo de diamante dopado com boro. *In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA (SIBEE)*, 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, SIBEE, 2009.
- FERREIRA, L. *et al.* Ultra-som e meios de contacto: medição das condutibilidades específicas. **Arquivos de Fisioterapia**. v, 1, p. 14-22, 2006.
- FUIRINI N. JR.; LONGO, G. J. **Ultra-som guia didático**. 2. ed. Amparo: KLD – Biossistemas Equipamentos Eletrônicos, 2002. 57p.
- GARBELLINI, G. S.; SALAZAR-BANDA, G. R.; AVACA, L. A. Aplicação do ultra-som em sistemas eletroquímicos: Considerações teóricas e experimentais, **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 123-133, 2008.
- GENG, C. H. *et al.* Determination of active ingredients in hawthorn and hawthorn piece by capillary electrophoresis with electrochemical detection, **Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 63, n. 1, p. 75–81, fevereiro de 2008.
- GUIRRO, R. *et al.* As variáveis físicas do ultrassom terapêutico: uma revisão. **Revista de Ciência e Tecnologia**, Recife, p. 31-41, 1996.

- GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos, recursos, patologias**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2002. 560p.
- HSIEH, Y. L. Effects of ultrasound and diclofenac phonophoresis on inflammatory pain relief: suppression of inducible nitric oxide synthase in arthritic rats. **Physical Therapy**. Alexandria, VA, v. 86, n. 1, p. 39-49, janeiro de 2006.
- KITCHEN, S. **Eletroterapia: Prática baseada em evidências**. 11. ed. São Paulo: Manole, 2003. 348p.
- KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998. 350p.
- KOEKE, P.U.; PARIZOTTO, N.A.; CARRINHO, P.M.; SALETE, A.C.B. Comparative study of the efficacy of the topical application of hydrocortisone, therapeutic ultrasound and phonophoresis on the tissue repair process in rat tendons. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 31, n. 3, p. 345-350, março de 2005.
- LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia explicada princípios e prática**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2001. 472p.
- MARTINES, M.U.; DAVOLOS, M. R.; JAFELICCI Jr, M. O efeito do ultra-som em reações químicas. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 23, n. 2, p. 251-256, mar./abr. 2000.
- MELOS, J. L. R. *et al.* Constituintes químicos e avaliação do potencial alelopático de *Adiantum Tetraphyllum* Humb. & Bonpl. Ex. Willd (Pteridaceae). **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 30, n. 2, p. 292-297, mar./abr. 2007.
- MITRAGOTRI, S.; KOST, J. Low-frequency sonophoresis. A review. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 56, n. 5, p. 589-601, março de 2004.
- OLSSON, D. C. *et al.* Ultra-som terapêutico na cicatrização tecidual. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, 4, p. 1199-1207, julho de 2008. Disponível em <<http://www.scielo.br>>
- PÉRES V. F. *et al.* Comparison of soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Journal of Chromatography A**, v. 1105, n. 1/2, p. 115-118, fev. 2006.
- PRENTICE, W. E. **Modalidades terapêuticas para fisioterapeutas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 612p.
- PRENTICE, W. E. **Técnicas de reabilitação em Medicina Esportiva**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2002.
- STÜLP, S.; SILVA, C. P. da; MARMITT, S. Avaliação eletroquímica e degradação fotoquímica do pesticida Malathion. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, RS, v. 9, n. 12, p. 7-12, 2008.
- SIMIC, A. MANOJLOVIC, D.; SEGAN, D.; TODOROVIC, M. Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics. **Molecules**, v. 12, p. 2327-2340, 2007. Disponível em: <<http://www.mdpi.com>>
- SOUZA, R. F. V.; GIOVANI W. F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report**, v. 9, n. 2, p. 97-104, abril de 2004. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com>>
- TIMBOLA, A. K.; SOUZA, C.D. de; GIACOMELLI, C; SPINELLI, A. Electrochemical oxidation of quercetin in hydro-alcoholic solution. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 139-148, 2006. Disponível em <<http://www.scielo.br>>
- VELASCO, M. V. R. *et al.* Associação da rotina com p-metoxicinamato de octila e benzeno-3: avaliação in vitro da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 1, p. 23-27, 2008. Disponível em <<http://www.latamjpharm.org>>
- VERZA, S. G. *et al.* Avaliação das variáveis analíticas do método de folin-ciocalteu para determinação do teor de taninos totais utilizando como modelo o extrato aquoso de folhas de *Psidium guajava* L., **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 30, n. 4, p. 815-820, jul./ago. 2007. Disponível em <<http://www.scielo.br>>