

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

AVALIAÇÃO INIBITÓRIA *in vitro* DA MONOAMINA OXIDASE DE ALCALOIDES INDOL
MONOTERPENOS OBTIDOS DE *Psychotria vellosiana* Benth.

Juliana Salton

Porto Alegre, junho de 2015.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

AVALIAÇÃO INIBITÓRIA *in vitro* DA MONOAMINA OXIDASE DE ALCALOIDES INDOL
MONOTERPENOS OBTIDOS DE *Psychotria vellosiana* Benth.

Trabalho apresentado como requisito parcial
para aprovação na Disciplina de Trabalho de
Conclusão do Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aluno: Juliana Salton

Professor Orientador: Amélia Teresinha Henriques

Co-orientador: Luiz Carlos Klein Júnior

Porto Alegre, junho de 2015.

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Farmácia (Anexo I) na qualidade de “Artigo Original”.

**AVALIAÇÃO INIBITÓRIA *in vitro* DA MONOAMINA OXIDASE DE
ALCALOIDES INDOL MONOTERPENOS OBTIDOS DE *Psychotria
vellosiana* BENTH.**

Juliana Salton¹, Luiz Carlos Klein Júnior¹ & Amélia T. Henriques^{1*}

¹Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*Autor para correspondência: Amélia T. Henriques- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre-RS, Brasil - CEP 90610-000. E-mail: amelia.henriques@ufrgs.br

RESUMO

O gênero *Psychotria* L. é caracterizado quimicamente pela presença de alcaloides, com destaque para o grupo dos indol monoterpênicos (MIAs). Estudos anteriores demonstraram que estes alcaloides são capazes de inibir enzimas, tais como colinesterases e monoamina oxidases (MAOs), relacionadas com doenças neurodegenerativas (DNs). Este estudo tem como objetivo o isolamento do principal alcaloide presente nas folhas de *P.vellosiana* e avaliação da sua atividade inibitória sobre a enzima monoamina oxidase. O extrato obtido de folhas de *P.vellosiana* foi submetido a partição ácido-base para obtenção da fração alcaloídica. Esta fração foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência e detector de arranjos de diodo (CLAE-DAD), sendo o composto majoritário isolado por CLAE preparativa. Os ensaios de inibição das enzimas monoamina oxidases foram realizados por método de fluorescência, utilizando kinuramina como substrato não-seletivo para MAO-A e MAO-B. A fração alcaloídica mostrou-se mais seletiva para MAO-A. As análises espectroscópicas realizadas sugerem para o composto isolado, estrutura de um alcaloide glicosilado. Quanto a sua atividade inibidora de MAO, o IC₅₀ do composto isolado (29 µM) é menor que de outros MIAs glicosilados. Esses resultados sugerem que este metabólito isolado de *P.vellosiana* pode ser uma importante fonte para a obtenção de inibidores de MAOs visando o tratamento de DNs.

Palavras chave: *Psychotria*, Alcaloides, Indol monoterpênicos, Monoamina oxidase.

ABSTRACT

Psychotria L. genus is chemically characterized by the presence of alkaloids, especially monoterpene indole alkaloids (MIAs). Previous studies have shown that these alkaloids are able of inhibiting enzymes such as cholinesterase, and monoamine oxidases (MAOs), related to neurodegenerative diseases (DNs). This study aims at isolating the principal alkaloid present in the leaves of *P. vellosiana* and evaluating their inhibitory activity on monoamine oxidases. The extract obtained from leaves *P. vellosiana* was subjected to acid-base partitioning to obtain the alkaloid fraction. This fraction was analyzed by high-performance liquid chromatography coupled to diode arrangements detector (HPLC-DAD), and the main compound was isolated by preparative HPLC. Inhibitory assay of monoamine oxidase enzymes was performed by fluorescence method using kynuramine as non-selective substrate for MAO-A and MAO-B. The alkaloid fraction was more selective for MAO-A. Spectroscopic analyzes suggest that the compound isolated is a glycosylated alkaloid. Regarding its inhibitory activity in MAO, the IC_{50} of the isolated compound (29 μ M) is lower than other glycosylated MIAs. These results suggest that this *P. vellosiana* isolated metabolite can be an important source for MAOs inhibitors aiming the treatment of DNs.

Keywords: *Psychotria*, Alkaloids, Indole monoterpenes, Monoamine oxidase.

INTRODUÇÃO

O gênero *Psychotria* L. pertence à família Rubiaceae, a sexta maior família presente nas Angiospermas, compreendendo cerca de 630 gêneros e 13000 espécies, com ampla distribuição, especialmente em regiões tropicais (Karou *et al.*, 2011). Apresenta taxonomia complexa e é representado por um grande número de espécies produtoras de alcaloides bioativos (Moraes *et al.*, 2011). A espécie mais conhecida desse gênero é a *Psychotria viridis*, componente da bebida alucinógena Ayahuasca, utilizada por índios da região amazônica (Pitol *et al.*, 2015). *P. viridis* possui o alcaloide indólico chamado N,N-dimetiltriptamina (DMT), semelhante à serotonina que possui a capacidade de se ligar ao mesmo sítio receptor e produzir efeito alucinógeno (Osório *et al.*, 2015).

A família Rubiaceae é caracterizada pela presença de alcaloides, com destaque para os alcaloides indol monoterpênicos (MIAs) isolados de espécies neotropicais de *Psychotria* (subg. *Heteropsychotria*) (Cordell, Quinn-Beattie & Farnsworth, 2001). Uma das principais características dos alcaloides indólicos, é a atividade sobre o sistema nervoso central (SNC) (Prevatt-Smith & Prisinzano, 2010; Klein-Júnior *et al.* 2014), porém diversas outras atividades farmacológicas foram descritas: analgésicas, anti-inflamatória (Both *et al.*, 2002); antitumoral e antioxidante (Fragoso *et al.*, 2008; Both *et al.*, 2005).

Estudos anteriores demonstram que os MIAs são capazes de inibir enzimas, tais como colinesterases e monoamina-oxidases (MAOs), relacionadas com doenças neurodegenerativas (DNs), como a doença de Alzheimer (DA) e a Doença de Parkinson (DP) (Passos *et al.*, 2013). A MAO é uma enzima mitocondrial que catalisa a desaminação oxidativa de aminas biogênicas e neurotransmissores (Herraiz *et al.*, 2010). Ela existe como duas isoformas, MAO-A e MAO-B, que diferem quanto à seletividade para diferentes substratos, sensibilidade a inibidores e distribuição nos tecidos (Yodium, Edmondson & Tipton, 2006). Inibidores de MAO-A são utilizados

cl clinicamente como antidepressivos e ansiolíticos, enquanto que inibidores da MAO-B são utilizados em associação com levodopa e/ou agonistas dopaminérgicos para o tratamento sintomático da DP (La Regina *et al.*, 2008) e sintomas associados com a DA (Cai, 2014). MAO-A apresenta maior afinidade por metabolizar serotonina, adrenalina e noradrenalina, enquanto que β -feniletilamina e benzilamina são predominantemente metabolizadas pela MAO-B (Khattab *et al.*, 2015).

A DA é a forma mais comum de demência em adultos, sendo caracterizada pela perda progressiva de aprendizagem, memória e outras funções cognitivas (Querfurth, LaFerla & Engl, 2010). Os IMAOs podem ser considerados agentes terapêuticos promissores na DA, conduzindo a uma diminuição do metabolismo de neurotransmissores, resultando em diminuição na produção de peróxido de hidrogênio, e conseqüente diminuição dos danos neuronais (Sterling *et al.*, 2002). Apesar dos recentes avanços relatados, nenhuma terapia eficaz foi implementada para o tratamento da DA, isto é possivelmente devido à sua complexa e multifatorial natureza (Bautista-Aguilera *et al.*, 2014).

A DP é uma doença idiopática caracterizada pela destruição dos neurônios dopaminérgicos da substância negra (Terao *et al.*, 2013). Inibidores da MAO-B demonstram ter efeito neuroprotetor, podendo prevenir a degeneração dos neurônios dopaminérgicos e diminuir os sintomas parkinsonianos (Kong *et al.*, 2015). No Brasil, o Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da DP estabelece a combinação de fármacos de diferentes classes para melhor controle dos sintomas. Dentre as combinações mais utilizadas está o uso de selegelina (IMAO) associado à levodopa para aumentar a biodisponibilidade da levodopa na presença de flutuações motoras (Beltrame, 2010).

Nesse contexto, considerando a presença de MIAs em espécies do gênero *Psychotria* e às atividades biológicas atribuídas às substâncias pertencentes à esta classe, torna-se relevante a investigação de compostos capazes de interagir com alvos enzimáticos relacionados com DN. No presente trabalho é relatado a avaliação *in vitro* da fração de alcaloides obtidos a partir de folhas de *P. vellosiana* sobre as enzimas MAO-A e MAO-B, isolamento do principal alcaloide presente na

fração e avaliação da sua atividade inibitória sobre a enzima MAO-A. Esta espécie foi escolhida com base na sua distribuição e ineditismo dos estudos com seus alcaloides.

METODOLOGIA

Material vegetal

Folhas da espécie *Psychotria vellosiana* foram coletadas entre março e abril de 2013 em Blumenau (SC) e o material foi identificado por Dr. Sergio L. Bordignon (Fundação La Salle, RS, Brasil).

Preparação da fração de alcaloides e estudo químico

O material vegetal seco e moído foi submetido à extração por maceração estática com etanol (3 x 48h). O extrato obtido foi concentrado em evaporador à pressão reduzida e, após, ressuspenso com solução aquosa de HCl 1M. Em seguida, o extrato acidificado foi exaustivamente lavado com diclorometano para a remoção de compostos apolares e resinas. Subsequentemente, a fase aquosa foi alcalinizada com solução de NH₄OH a pH 9,0-10,0 e, em seguida, foi realizada extração, por partição com diclorometano, até reações negativas para Mayer e Dragendorff. Esta fração foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).

Análise química

A fração de alcaloides foi analisada em equipamento Waters Alliance e2695 integrado de detector PDA 2998, utilizando coluna XBridgeTM C₁₈ (250 mm x 4.6 mm, tamanho partícula 5 µm). A fase móvel utilizada foi: água ultrapura com 0,1 % v/v ácido fórmico (solvente A) e 100% acetonitrila (solvente B) em sistema de eluição gradiente linear (Tabela1). O fluxo foi igual a 0,7 mL/min, e a quantidade de amostra injetada foi 20 µL (concentração: 1mg/mL). A detecção foi realizada em um λ de 280 nm, buscando a visualização de espectros de UV característicos de MIAs.

Tabela 1. Sistema gradiente utilizado para análise da fração de alcaloides por CLAE-DAD.

Tempo (minutos)	A(%)	B(%)
0	80	20
15	80	20
16	75	25
40	75	25
70	0	100
75	0	100

Isolamento do composto majoritário

O isolamento do composto majoritário presente na fração de alcaloides foi realizado através de CLAE preparativa em equipamento Perkin Elmer Series 200 (Perkin Elmer, EUA), utilizando coluna preparativa C18 Waters XBridge™ (250 mm x 10 mm, tamanho partícula 5 µm). A fase móvel utilizada foi: 85% água ultrapura com 0,1 % v/v ácido fórmico (solvente A), e 15% acetonitrila com 0,1 % v/v ácido fórmico, em sistema de eluição isocrático. O fluxo foi igual a 2 mL/min e a quantidade de amostra injetada foi 100 µL (concentração: 30 mg/mL) a cada análise. A coleta do composto foi monitorada por um detector de ultravioleta, com comprimento de onda selecionado igual a 280 nm, e pelo programa Total Chrom V6.2.0 (Perkin Elmer, EUA). Sucessivas injeções foram realizadas, sendo o pico de interesse recolhido para posterior evaporação do solvente orgânico e liofilização da porção aquosa.

Análise por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR)

Os espectros foram obtidos em espectrômetro de massas microTOF-Q II (Bruker Scientific®) no modo positivo (ESI(+)-MS) por infusão direta, sob as seguintes condições: tensões capilares e cone foram definidos em + 3500 V e + 40 V, respectivamente, com uma temperatura de solvatação de 100 °C. Aproximadamente 2mg do composto isolado foram solubilizados em metanol grau HPLC e 30 µL de água ultrapura Milli Q® foram adicionados. A solução foi infundida diretamente na fonte de ionização por electrospray (ESI) por meio de seringa (Harvard Apparatus) em injetor automático, a uma taxa de fluxo de 10 uL/min. Para a aquisição e processamento de dados obtidos no analisador de massas (Q-TOF) um software de análise de dados (Data Analysis - Bruker® Scientific) foi utilizado. O equipamento foi programado para monitorar os íons na faixa m/z 90-1000.

Avaliação da atividade da fração de alcaloides e do composto majoritário sobre a MAO

Os ensaios de inibição das enzimas monoamino-oxidases foram realizados por método de fluorescência (ponto final de leitura), utilizando kinuramina como substrato não seletivo para MAO-A e MAO-B. As reações ocorreram em microplacas (96 poços; poliestireno escuro; fundo plano) nas quais foram adicionados tampão fosfato de potássio (158 µL), solução aquosa de kinuramina 0,5 mM (20 µL), e solução dos testes preparada em DMSO. A fração de alcaloides foi testada em concentrações variando de 1,56 à 100 µg/mL e o composto isolado as concentrações variaram de 1,56 à 100 µM. Para cada amostra foram avaliadas 7 concentrações diferentes, em triplicata. Esta mistura foi incubada a 37 °C , e depois diluída em 20 µL de MAO-A e MAO-B recombinante humana (BD Gentest™) (500 uM). A incubação ocorreu a 37 °C, e as reações foram interrompidas por adição de 75 µl de uma solução de NaOH 2M.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O material vegetal submetido a extração (22,91g) resultou em uma fração rica em alcaloides (0,2677g, 1,17% (m/m). Através de análise por CLAE-DAD, foi possível observar a

presença de diferentes MIAs na fração alcaloídica de *Psychotria vellosiana*, entrando em contraponto com os resultados obtidos anteriormente por Moreno *et al* (2014) que demonstraram a ausência de alcaloides em *P. vellosiana*. Sabe-se que diversos fatores podem influenciar a produção dos metabólitos secundários presentes nas plantas, tais como variações de estação e local de coleta, estágio de desenvolvimento, constituição do solo, entre outros (Gobbo-Neto & Lopes, 2007). Tais fatores podem explicar essa divergência de resultados.

A fração de alcaloides de *P. vellosiana* avaliada neste estudo, mostrou-se capaz de inibir as enzimas MAO-A e MAO-B recombinante humana (BD Gentest™), apresentando maior seletividade para MAO-A. O valor de IC₅₀ para MAO-A calculado para fração de alcaloides foi de 33 µg/mL, indicando bom potencial inibitório frente à esta isoforma da enzima. Na concentração de 100 µg/mL, a fração de alcaloides apresentou 39% de inibição para MAO-B.

No cromatograma da fração de alcaloides obtido por CLAE-DAD (Figura 1) se destacam um total de quatro picos principais, sendo o pico do composto majoritário utilizado como foco de isolamento deste estudo. O pico apresenta um máximo de absorção λ_{max} em 220 nm e 280 nm, característicos de MIAs de *Psychotria*. O espectro de massa do composto isolado mostrou um pico do íon pseudo-molecular de m/z 561.2508 [M + H]⁺ (Figura 2). Essa massa sugere a presença de um composto glicosilado, pois é consideravelmente maior que a de outros MIAs agliconas descritos para espécies de *Psychotria*, como a angustina (m/z 314.11 [M + H]⁺), valesiacotamina lactona (m/z 365.14 [M + H]⁺) e E/Z-valesiacotamina (m/z 351.16 [M + H]⁺).

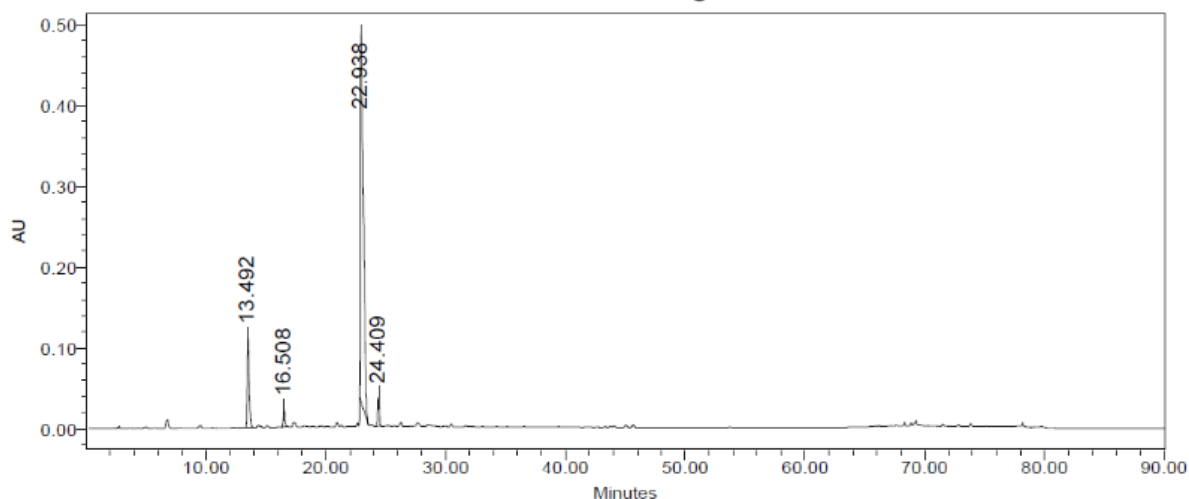


Figura 1. Cromatograma da fração de alcaloides de *P. vellosiana* obtido por CLAE-DAD

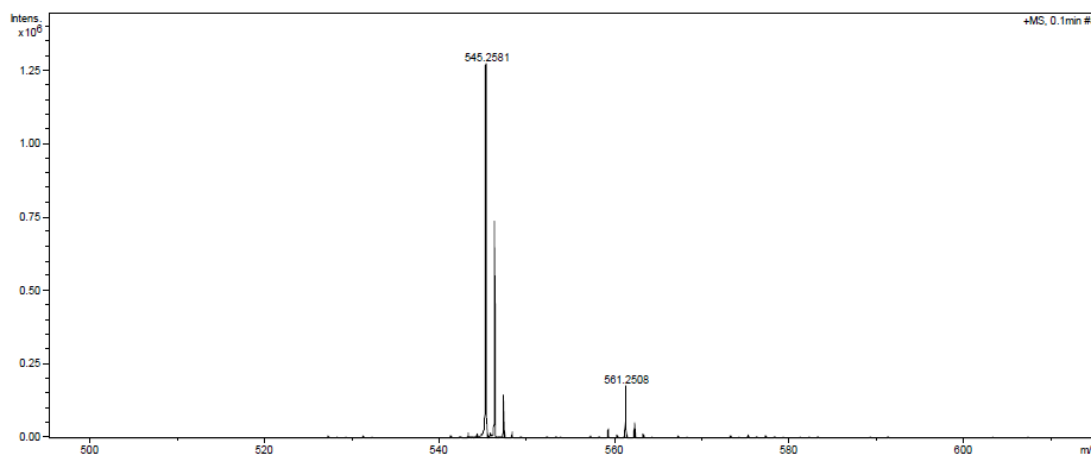


Figura 2. Espectro de massa do composto majoritário obtido por espectroscopia de massas.

O valor de IC_{50} frente à MAO-A obtido para o composto isolado foi de 29 μM , mostrando importante inibição sobre esta isoforma da enzima. Os resultados obtidos sugerem que o composto isolado é um dos responsáveis pela atividade inibidora de MAO-A na fração de alcaloides.

Ao comparar os resultados obtidos com os valores de IC_{50} determinados por Passos *et al* (2013), observa-se que a inibição da MAO-A pelo alcaloide majoritário da *P. vellosiana* foi inferior aos MIAs não glicosilados de *Psychotria*: angustina (MAO-A IC_{50} = 1,10 μM), valesiacotamina lactona (MAO-A IC_{50} = 0,87 μM), *E*-valesiacotamina (MAO-A IC_{50} = 2,14 μM), *Z*-

valesiacotamina (MAO-A $IC_{50} = 0,85 \mu M$). Todavia, em comparação a outros MIAs glicosilados, como psicolatina (MAO-A 27,25% de inibição-100 μM), braquicerina (MAO-A 57,32% de inibição-100 μM) e outros, o IC_{50} do composto isolado foi consideravelmente menor, indicando uma maior inibição enzimática. Esses resultados reforçam a importância de avaliar a atividade deste composto frente a outros alvos enzimáticos associados ao SNC, como a butirilcolinesterase e acetilcolinesterase, uma vez que os MIAs obtidos de *Psychotria* têm demonstrado ser uma classe promissora de compostos multifuncionais, atributo desejado na busca de estruturas com potencial no tratamento de DNs.

CONCLUSÕES

Este é o primeiro trabalho que descreve a presença de alcaloides em *Psychotria vellosiana* e os seus efeitos sobre a atividade da MAO-A e MAO-B *in vitro*. Os resultados sugerem que MIAs de *P.vellosiana* podem consistir uma fonte interessante para o desenvolvimento de inibidores de MAO visando o tratamento de distúrbios psiquiátricos, tais como a depressão e ansiedade, bem como de DNs.

REFERÊNCIAS

- Bautista-Aguilera OM, Esteban G, Bolea I, Nikolic K, Agbaba D, Moraleda I, Iriepa I, Samadi A, Soriano E, Unzeta M, Marco-Contelles M. Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and ADMET of novel donepezileindolyl hybrids as multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Med Chem.* 75(1):82-95, 2014.
- Beltrame A. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas- Doença de Parkinson. 2010.
- Both FL, Farias FM, Nicoláo LL, Misturini J, Henriques AT, Elisabetsky E. Avaliação da atividade analgésica de extratos alcaloídicos de espécies de *Psychotria*. *Rev Bras Pl Med.* 5(1): 41-45, 2002.

Cai Z. Monoamine oxidase inhibitors: promising therapeutic agents for Alzheimer's disease (Review). *Med Rep.* 9(5): 1533-41, 2014.

Cordell GA, Quinn-Beattie ML, Farnsworth NR. The potential of alkaloids in drug discovery. *Phytother Res.* 15(3): 183-205, 2001.

Fragoso V, Nascimento NC, Moura DJ, Silva ACR, Richter MF, Saffi J, Fett-Neto AG. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. *Toxicol In Vitro.* 22(3): 559-566, 2008.

Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas Medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova.* 30(2): 374-381, 2007.

Herraiz T, González D, Ancín-azpilicueta C, Arán VJ, Guillén H. Beta-carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food Chem Toxicol.* 48(3): 839-845, 2010.

Karou SD, Tchacondo T, Ilboudo DP, Simpore J. Sub-Saharan Rubiaceae: a review of their traditional uses, phytochemistry and biological activities. *Pak J Biol Sci.* 14 (3): 149-69, 2011.

Klein LC Jr, Passos CS, Moraes AP, Wakui VG, Konrath EL, Nurisso A, Carrupt PA, de Oliveira CM, Kato L, Henriques AT. Indole alkaloids and semisynthetic indole derivatives as multifunctional scaffolds aiming the inhibition of enzymes related to neurodegenerative diseases--a focus on *Psychotria* L. Genus. *Curr Top Med Chem.* 14(8):1056-1075, 2014.

Kong P, Zhang B, Lei P, Kong X, Zhang S, Li D, Zhang Y. Neuroprotection of MAO-B inhibitor and dopamine agonist in Parkinson disease. *Int J Clin Exp Med.* 8(1): 431-439, 2015.

Khattab SN, Abdel Moneim SA, Bekhit AA, El Massry AM, Hassan SY, El-Faham A, Ali Ahmed HE, Amer A. Exploring new selective 3-benzylquinoxaline-based MAO-A inhibitors: design, synthesis, biological evaluation and docking studies. *Eur J Med Chem.* 93(1): 308-20, 2015.

La Regina G, Silvestri R, Gatti V, Lavecchia A, Novellino E, Befani O, Turini P, Agostinelli E. Synthesis, structure-activity relationships and molecular modeling studies of new indole inhibitors of monoamine oxidases A and B. *Bioorg Med Chem.* 16(22): 9729-9740, 2008.

Moraes TMS, Rabelo GR, Alexandrino CR, Silva SJ, Da Cunha M. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. *Acta Botanica Brasilica.* 25(1): 178-190, 2011.

Moreno BP, Fiorucci LLR, do Carmo MRB, Sarragiotto MH, Baldoqui DC. Terpenoids and a coumarin from aerial parts of *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). *Biochem System Ecol.* 56(1): 80-82, 2014.

Osório, F. L.; Sanches, R.F.; Macedo, L. R.; Dos Santos, R. G.; Maia-de-Oliveira, J.P.; Wichert-Ana L, De Araujo DB, Riba J, Crippa JA, Hallak JE. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a preliminary report. *Rev Bras Psiquiatr.* 37(1): 13-20, 2015.

Passos CS, Simões-Pires CA, Nurisso A, Soldi TC, Kato L, de Oliveira CM, de Faria EO, Marcourt L, Gottfried C, Carrupt PA, Henriques AT. Indole alkaloids of *Psychotria* as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. *Phytochemistry.* 86(1): 8-20, 2013.

Pitol DL, Siéssere S, Dos Santos RG, Nunes ML, Cecilio Hallak JE, Scalize PH, Pereira BF, Iyomasa MM, Semprini M, Riba J, Hallak Regalo SC. Ayahuasca alters structural parameters of the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015.

Prevatt-Smith KM, Prisinzano TE. New therapeutic potential for psychoactive natural products. *Nat Prod Rep.* 27(1): 23–31, 2010.

Querfurth HW, LaFerla FM, Engl N. Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 362(1): 329-344, 2010.

Sterling J, Herzig Y, Goren TN, Finkelstein N, Lerner D, Goldenberg W, Miskolczi I, Molnar S, Rantal F, Tamas T, Toth G, Zagyva A, Zekany A, Finberg J, Lavian G, Gross A, Friedman R, Razin M, Huang W, Kraus B, Chorev M, Youdim MB, Weinstock M. Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease. *J. Med. Chem.* 45(24): 5260-5279, 2002.

Terao Y, Fukuda H, Ugawa Y, Hikosaka O. New perspectives on the pathophysiology of Parkinson's disease as assessed by saccade performance: a clinical review. *Clin Neurophysiol.* 124(8): 1491–1506, 2013.

Youdim MBH, Edmondson D, Tipton KF. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nat Rev Neurosci.* 7(4): 295-309, 2006.

ANEXO I

REVISTA BRASILEIRA DE FARMÁCIA (RBF)

BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACY (BJP)

ISSN 2176-0667 (online)

ESCOPO E POLÍTICA

A Revista Brasileira de Farmácia (RBF) (Brazilian Journal of Pharmacy - BJP) é um periódico da Associação Brasileira de Farmacêuticos que se mantém desde 1920, atualmente com periodicidade trimestral. O periódico é voltado para a publicação da produção científica dos diversos segmentos do campo das Ciências Farmacêuticas em manuscritos que poderão ser submetido em português, inglês ou espanhol adequado às normas de publicação descritas a seguir.

A linha editorial desse periódico enfatiza não só a inovação tecnológica, mas principalmente os possíveis diálogos interdisciplinares viáveis dentro da abordagem científica, e, portanto priorizam tanto os estudos qualitativos quanto os quantitativos que possam contribuir de forma inovadora e crítica para o desenvolvimento da arte de curar plena. Para tanto, o periódico poderá contemplar seções de **Artigos de Revisão** (sistemática, exaustiva ou não) que contribuam sobre temas de relevância ao campo das Ciências Farmacêuticas, e ainda a proposição de **Artigos Originais** resultados de pesquisas ou experimentos, **Resumos de Teses ou Dissertações** defendidas a pelo menos dois anos.

O Conselho editorial poderá propor temas específicos, considerados relevantes, com texto de autores convidados, com inserção no debate sobre temas de interesse da comunidade farmacêutica, que igualmente serão submetidos ao processo de revisão por pares.

Os autores devem indicar, em nota de fim de texto após a conclusão do manuscrito, se a pesquisa é financiada, resultado de dissertação de mestrado ou tese de doutorado, e ainda se há conflitos de interesse envolvidos na mesma. Como condução do processo de submissão caberá aos autores o preenchimento e envio dos APENDICES apresentados ao final desse texto. 2

No caso de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos ou animais, os autores devem explicitar na seção de Metodologia que a pesquisa foi conduzida dentro de padrões éticos exigidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde (CONEP/CNS/MS). Deve-se atentar, sobretudo, ao disposto na Resolução CONEP nº 196/96. No caso de experimento com animais deverá atender aos padrões éticos da Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002, publicada pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária. **O parecer do CEP deve seguir anexado ao processo de submissão.**

Antes de enviar seu manuscrito para a **RBF confira as etapas para a submissão** para garantir a agilidade ao processo que será dividida em duas etapas: A primeira a partir da avaliação inicial da Comissão editorial quanto a identidade do artigo com a política do periódico e adequação as normas de publicação. A segunda etapa prevê a avaliação por pares de revisores.

A revisão final dos trabalhos e adequação às normas ortográficas é de inteira responsabilidade dos próprios autores. O Comitê Editorial não aprovará manuscritos incompletos, fora do escopo da revista e das instruções para os autores.

INSTRUÇÕES GERAIS

Todos os manuscritos devem ser originais e não publicados anteriormente. Cabe salientar que submissão simultânea implicará em sua recusa nesse periódico. As publicações em inglês e espanhol devem ser revisadas por um profissional de edição de língua estrangeira e não garantem o aceite do artigo. **O custo da revisão do texto em inglês ou espanhol é de responsabilidade dos autores que são encorajados a buscar profissionais ou empresas qualificados.**

A RBF reserva os direitos de submeter todos os manuscritos para revisores *ad hoc*, cujos nomes serão confidenciais e com autoridade para decidir a aceitação ou declínio da submissão. Nos casos de conflito de avaliações entre os pares, não se compromete a seguir com uma terceira avaliação, a decisão contará com avaliação dos pareceres pelo Conselho Editorial.

FORMA E APRESENTAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A RBF aceita artigos para as seguintes seções:

a) **Artigos originais ou de revisão (até 7.000 palavras, incluindo notas e referências, e exclui o Resumo/Abstract. Máximo de 5 figuras, quadro/gráfico ou tabela):** textos inéditos provenientes de pesquisa ou análise/revisão bibliográfica. A publicação é decidida pelo Conselho Editorial, com base em pareceres - respeitando-se o anonimato tanto do autor quanto do parecerista (*double-blind peer review*) - e conforme disponibilidade de espaço.

b) **Artigos originais por convite (até 8.000 palavras, incluindo notas e referências, e exclui o Resumo/abstract. Máximo de 5 figuras, quadro/gráfico ou tabela):** textos inéditos de temas previamente solicitados pelo editor (a) Chefe ou Conselho Editorial a autores/pesquisadores de reconhecida experiência no campo das Ciências Farmacêuticas, que poderão resultar em artigos resultado de pesquisa ou de revisão. Os artigos originais serão publicados com base em pareceres (*double-blind peer review*). Apenas artigos que, devido a seu caráter autoral, não podem ser submetidos anonimamente a um parecerista, serão analisados, com ciência do autor, com base em pareceres em que só o parecerista é anônimo (*single-blind peer review*).

c) **Resumo de Tese de Doutorado ou Dissertações de Mestrado (até 1500 palavras, incluindo notas e referências. Máximo de 3 figuras, tabela ou quadro/gráfico):** Trata-se de um Resumo ampliado de estudos acadêmicos que tenham relevância no campo das Ciências farmacêuticas. Serão aceitos os Resumos de pesquisas que tenham sido defendidas até dois anos antes da publicação da RBF. O número de Resumos não poderá ultrapassar 15% do total de artigos apresentados por edição, e deverá contemplar as seções Introdução, Metodologia, Resultados e Discussão e Conclusão de forma resumida.

ALGUMAS CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS

a) Deverá ser adotado o **Sistema Internacional (SI)** de medidas.

b) As equações necessárias a compreensão do texto deverão ser editadas utilizando *software* compatível com o editor de texto. As variáveis deverão ser identificadas após a equação.

c) Recomenda-se que os autores realizem a análise de regressão ou outro teste estatístico aplicável para fatores quantitativos, mas que a utilização de programas específicos para o tratamento dos dados estatísticos deve constar da seção de Metodologia.

d) **ATENÇÃO: QUADROS/ TABELAS, GRÁFICOS E FIGURAS devem ter largura de no máximo 8,25 cm, com alta resolução e enviados em arquivo separado. Nesse caso, sua posição deve ser identificada no texto. CASO CONTRÁRIO, O MANUSCRITO SERÁ DEVOLVIDO AOS AUTORES, que acarretará em nova submissão.**

e) A RBF recomenda a utilização de Referencias Bibliográficas atualizada, salvo aquelas consagradas em trabalhos de autores seminais de cada área específica, ou ainda em textos que necessitam de informações históricas relevantes na compreensão da argumentação apresentada. Consideraremos atualizadas aquelas com data de publicação em periódicos indexados a pelo menos 5 anos da data de envio do manuscrito.

f) **TODAS** as correções sugeridas durante o processo de submissão deverão ser destacadas em **VERMELHO, e devolvida a comissão editorial pelo endereço:** revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br.

FORMATÇÃO DO TEXTO

Os manuscritos deverão utilizar aplicativos compatíveis com o **Microsoft Word**. Devem ser escritos em página formato A4 com margens de 2 cm, espaçamento duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12, justificado. As linhas e páginas devem ser numeradas a partir do Título até a página final.

Deve-se adotar no texto apenas as **abreviações padronizadas**. Por exemplo: Kg (quilograma)

A primeira citação da abreviatura entre parênteses deve ser precedida da expressão correspondente por extenso. Por exemplo: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)

O **recurso de itálico** deverá ser adotado apenas para realmente destacar partes importantes do texto, como por exemplo, citações *ipsis literis* de autores consultados, partes de depoimentos, entrevistas transcritas, nomes científicos de organismos vivos e termos estrangeiros.

As ilustrações, figuras, esquemas, tabelas e gráficos deverão ser identificadas no texto, conforme apresentação desejada pelo autor, e **apresentadas em arquivo separado**.

Os manuscritos deverão seguir a seguinte estrutura:

Título: deverá ser conciso e **não** ultrapassar 30 palavras, informativo, digitado em negrito com letras minúsculas utilizando a fonte *Times New Roman* (tamanho 14), com exceção da primeira letra, dos nomes próprios e/ou científicos.

Autores: deverão ser adicionados a um espaço abaixo do título, centralizados, separados por vírgula. O símbolo “&” deve ser adicionado antes do último autor (Ex.: Paulo da Paz, João de Deus

& Pedro Bondoso). Inserir os nomes completos dos autores, por extenso, com letras minúsculas com exceção da primeira letra de cada nome.

Afiliação do autor: cada nome de autor deverá receber um **número arábico** sobrescrito indicando a instituição na qual ele é afiliado. A lista de instituições deverá aparecer imediatamente abaixo da lista de autores. O nome do autor correspondente deverá ser identificado com um asterisco sobrescrito. O e-mail institucional, endereço completo, CEP, telefone e fax do autor correspondente deverão ser escritos no final da primeira página.

Resumo (Abstract): deverá ser escrito na **segunda página** do manuscrito, não deverá exceder 200 palavras, deverá conter informações sucintas que descrevam **objetivo da pesquisa, metodologia, discussão/resultados e a conclusão**. Os manuscritos escritos em português ou em espanhol devem ter um Resumo traduzido para o inglês (Abstract). O Abstract deve ser digitado na **terceira página** do manuscrito e deve ser revisado por um profissional de edição de língua inglesa. **Os manuscritos em inglês deverão apresentar um Resumo em português.**

Palavras-chave (Keywords): são fundamentais para a classificação da temática abordada no manuscrito em bancos de dados nacionais e internacionais. Serão aceitas entre 3 e 5 palavras-chave. Após a seleção, sua existência em português e inglês deve ser confirmada pelo(s) autor (es) do manuscrito no endereço eletrônico <http://decs.bvs.br> (Descritores em Ciências da Saúde - Bireme). As palavras-chave (Keywords) deverão ser separadas por **vírgula** e a **primeira letra** de cada palavra-chave deverá maiúscula.

Introdução: Situa o leitor quanto ao tema que será abordado e apresenta o problema de estudo, destaca sua importância e lacunas de conhecimento (justificativa da investigação), e inclui ainda os objetivos (geral e específico) a que se destina discutir.

Metodologia ou Percurso Metodológico: Nessa seção o autor (es) deve (m) apresentar o percurso metodológico utilizado que apresente o tipo de estudo (se qualitativo ou quantitativo), de base empírica, experimental ou de revisão de forma que identifique a natureza/tipo do estudo. São fundamentais os dados sobre o local onde foi realizada a pesquisa; população/sujeitos do estudo e seus critérios de seleção (inclusão e exclusão) e cálculo amostral. Nos casos de pesquisa experimental cabe a identificação do material, métodos, equipamentos, procedimentos técnicos e métodos adotados para a coleta de dados.

Na apresentação do tratamento estatístico/categorização dos dados cabe informar a técnica ou programa utilizado no tratamento e análise. Nos casos de investigação com humanos ou animais cabe informar a data e o número do protocolo da aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Quanto ao estudo de espécies vegetais deve ter a indicação do seu local de coleta (dados de GPS), o país de origem, o responsável pela identificação da espécie e o depósito da exsicata.

Resultados e Discussão: devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica, utilizando ilustrações (figuras, quadros e tabelas) quando necessário. Deve-se comparar com informações da literatura sobre o tema ressaltando-se aspectos novos e/ou fundamentais, as limitações do estudo e a indicação de novas pesquisas. Nessa seção cabe a análise e discussão crítica da pesquisa.

Conclusões: apresentar considerações significativas fundamentadas nos resultados encontrados e vinculadas aos objetivos do estudo.

Agradecimentos: opcional e deverá aparecer antes das referências.

Figuras, Quadro/Tabelas ou Gráficos: Todas as ilustrações devem apresentar um título breve na parte superior e numerada consecutivamente com algarismos arábicos, conforme a ordem em que forem citadas no manuscrito e a legenda com fonte em Times New Roman, tamanho 12, justificado e com largura máxima de 8,25 cm.

As Tabelas devem apresentar dados numéricos como informação central, e não utilizar traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé da tabela, com os seus respectivos símbolos. **Se houver ilustração extraída de outra fonte, publicada ou não, a fonte original deve ser mencionada abaixo da tabela.** Não é permitida a utilização de Figura, gráfico, quadro/tabela publicada em outro periódico **sem antes pedir autorização prévia dos autores e/ou da revista.**

Qualquer uma dessas ilustrações com baixa resolução poderá ser excluída durante o processo de diagramação da RBF, ou ainda comprometer o aceite do manuscrito.

As fotos deverão garantir o anonimato de qualquer indivíduo que nela constar. Caso os autores queiram apresentar fotos com identificação pessoal, deverão apresentar permissão específica e escrita para a publicação das mesmas.

Referências:

As citações bibliográficas deverão ser adotadas de acordo com as exigências da RBF. Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (2005) ou (Lopes, 2005); para dois autores (Souza & Scapim, 2005); três autores (Lima, Pereira & Silva, 2008), para mais do que quatro autores, utilizar o primeiro autor seguido por *et al.* (Wayner *et al.*, 2007), porém na lista de referências deverão aparecer ordenadas alfabeticamente pelo **sobrenome do primeiro autor**. A citação de mais que uma referência por parágrafo requer a ordenação em ordem decrescente cronológica e cada grupo de autores separados por “ponto e vírgula”. Por exemplo: (Gomes & Souza, 2012; Mendez, 2010; Lima, Pereira & Silva, 2008).

A veracidade das referências é de responsabilidade dos autores. Os exemplos de referências citados abaixo foram adaptados, em sua maioria, do documento original da ABNT (NBR 6023, agosto de 2002).

a) Artigos de periódicos:

A abreviatura do periódico deverá ser utilizada, em itálico, definida no Chemical Abstracts Service Source Index (<http://www.cas.org/sent.html>) ou na Base de dados PubMed, da US National Library of Medicine (<http://www.pubmed.gov>), selecionando Journals Database. Caso a abreviatura autorizada de um determinado periódico não puder ser localizada, deve-se citar o título completo.

Autor (es)*. *Título do periódico em itálico*, volume (a indicação do fascículo é entre parênteses): páginas inicial - final do artigo, ano de publicação.

Galato D & Angeloni L. A farmácia como estabelecimento de saúde sob o ponto de vista do usuário de medicamentos. *Rev. Bras. Farm.* 90(1): 14 – 18, 2009.

Fonseca VM, Longobuco P, Guimarães EF, Moreira DL, Kaplan MAC. Um teste do formato de nome. *Rev. Bras. Farm.* 90(1): 14 – 18, 2009.

b) Livros:

Com 1 autor

Autor. Título. Edição (a partir da 2a). Cidade: Editora, ano de publicação. Número total de páginas.

Casciato DA. Manual de oncologia clínica. São Paulo: Tecmed, 2008. 1136 p.

Com 2 autores

Lakatos EM & Marconi MA. Metodologia científica. 2. ed. São Paulo: Atlas, 1991. 231 p.

Com autoria corporativa

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. I Fórum Nacional de Educação Farmacêutica: O farmacêutico de que o Brasil necessita (Relatório Final). Brasília, DF, 2008. 68p.

Capítulos de livros (o autor do capítulo citado é também autor da obra):

Autor (es) da obra. Título do capítulo. *In:* _____. Título da obra. Cidade: Editora, Ano de publicação. Capítulo. Paginação da parte referenciada.

Rang HP, Dale MM & RITTER JM. *In:* Quimioterapia do câncer. Farmacologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 50, p. 789-809.

Capítulos de livros (o autor do capítulo citado não é o autor da obra):

Autor (es) do capítulo. Título da parte referenciada. *In:* Autor (es) da obra (ou editor) Título da obra. Cidade: Editora, Ano de publicação. Capítulo. Paginação da parte referenciada.

Schenkel EP, Gosmann G & Petrovick PR. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *In:* Simões CMO. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003. cap. 15, p. 371-400.

Citação indireta

Utiliza-se *apud* (citado por) nas citações que foram transcritas de uma obra de um determinado autor, mas que na verdade pertence a outro autor.

Helper CD & Strant LM. Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. *Am. J. Hosp. Pharm.* 47: 533-543, 1990. *Apud* Bisson MP. Farmácia Clínica & Atenção Farmacêutica. 2. ed. Barueri: Manole, 2007. p. 3-9.

c) Teses, Dissertações e demais trabalhos acadêmicos:

Autor. *Título* (inclui subtítulo se houver). Ano. Cidade. Total de páginas. Tipo (Grau), Instituição (Faculdade e Universidade) onde foi defendida.

Sampaio IR. *Etnofarmacologia e toxicologia de espécies das famílias Araceae e Euphorbiaceae*. 2008. Rio de Janeiro. 45 p. Monografia (Especialização em Farmacologia), Associação Brasileira de Farmacêuticos. Rio de Janeiro.

d) Eventos científicos (Congressos, Seminários, Simpósios e outros):

Autor (es). Título do trabalho. *Nome do evento*, nº do evento. Página. Cidade. País. Ano.

Marchioretto CT, Junqueira MER & Almeida ACP. Eficácia anestésica da neocaína (cloridrato de bupivacaína associada a epinefrina) na duração e intensidade da anestesia local em dorso de cobaio. *Reunião anual da SBPC*, 54, Goiânia, Brasil, 2002.

e) Patentes: Devem ser identificadas conforme modelo abaixo e na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado.

Ichikawa M, Ogura M & Lijima T. 1986. Antiallergic flavone glycoside from *Kalanchoe pinnatum*. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 61,118,396, apud* Chemical Abstracts 105: 178423q.

f) Leis, Resoluções e demais documentos

Conforme o modelo:

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) no 44, de 17 de agosto de 2009.

g) Banco/Base de Dados

Conforme o modelo

BIREME. Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. Lilacs - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&base=LILACS&lang=p>>. Acesso em: 27 ago. 2009.

h) Homepage/Website

Conforme o modelo:

WHO *Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other Influenza Viruses*. 91 p. Disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_guidelines_pharmaceutical_mngt.pdf>. Acesso em agosto de 2009.

SUBMISSÃO

Todos os manuscritos deverão ser submetidos **exclusivamente** por e-mail: revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br e deverá enviar o texto em programa compatível com *word*, e com todos os apêndices preenchidos.

Os autores deverão informar a área de concentração (**Apêndice 1**), a categoria do manuscrito (Artigo Original, Artigo de Revisão ou Resumo de Tese/ Dissertação); apresentar carta de encaminhamento ao Editor (a) Chefe (**Apêndice 2**) e declaração de originalidade e cessão de direitos autorais (**Apêndice 3**). É responsabilidade dos autores reconhecerem e informar ao Conselho Editorial da existência de conflitos de interesse que possam exercer qualquer influência em seu manuscrito. Desta forma, as relações financeiras ou de qualquer outra ordem deverão ser comunicadas por cada um dos autores em declarações individuais (**Apêndice 4**).

Quanto a Confirmação da submissão: O autor receberá por e-mail um documento com o número do protocolo, confirmando o recebimento do artigo pela RBF. Caso não receba este e-mail de confirmação dentro de 48 horas, entre em contato com o Conselho Editorial da RBF (e-mail: revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br).

A Revista Brasileira de Farmácia submeterá os manuscritos recebidos à análise por dois consultores *ad hoc*, acompanhado de um formulário para a avaliação e que terão a autoridade para decidir sobre a pertinência de sua aceitação, podendo inclusive, reapresentá-los ao(s) autor (es) com sugestões, para que sejam feitas alterações necessárias e/ou para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da revista. Solicita-se aos autores que, na eventualidade de reapresentação do texto, **o façam evidenciando as mudanças através da cor vermelha** como forma de identificação rápida e facilitação do processo de avaliação. Caso necessário poderá o autor dispor de argumentação teórica em carta anexa resumando as alterações realizadas ou não, que poderão ser aceitas ou não pelos revisores.

Os nomes dos autores e dos avaliadores dos manuscritos permanecerão em sigilo.

O trabalho aceito para publicação só poderá seguir para diagramação caso TODOS os autores tenham assinado o termo de publicação (**Apêndice 3**). **Qualquer tipo de solicitação ou informação quanto ao andamento ou publicação do artigo poderá ser solicitado através do e-mail: revistabrasileiradefarmacia@yahoo.com.br baseado no número do protocolo recebido pelo autor correspondente.**

O Conselho Editorial da RBF reserva-se o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa. O Conselho Editorial da Revista tem plena autoridade de decisão sobre a publicação de manuscritos, quando os mesmos apresentem os requisitos adotados para a avaliação de seu mérito científico, considerando-se sua **originalidade**, ineditismo, qualidade e clareza. Toda ideia e conclusão apresentadas nos trabalhos publicados são de total responsabilidade do(s) autor (es) e não reflete, necessariamente, a opinião do Editor Chefe ou dos membros do Conselho Editorial da RBF.

ITENS DE VERIFICAÇÃO PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores deverão verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as

normas serão devolvidas aos autores. Somente receberão número de protocolo os artigos que estiverem em conformidade com as Normas para Publicação na RBF:

1. O manuscrito encontra-se no escopo da Revista Brasileira de Farmácia.
2. A contribuição é original, inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
3. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word ou equivalente.
4. O e-mail para envio do manuscrito está disponível.
5. O texto está em espaçamento duplo; fonte tamanho 12, estilo *Times New Roman*; com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
6. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em **Crítérios** para preparação dos manuscritos (**Atenção às citações no texto e referências bibliográficas**).
7. Todos os apêndices estão preenchidos (**Atenção especial ao preenchimento dos apêndices**).
8. Ao submeter um manuscrito, os autores aceitam que o *copyright* de seu artigo seja transferido para a Revista Brasileira de Farmácia, se e quando o artigo for aceito para publicação. Artigos e ilustrações aceitos tornam-se propriedade da **Revista Brasileira de Farmácia**.

APÊNDICE 1 - Áreas temáticas

APÊNDICE 2 - Modelo de carta de responsabilidade

APÊNDICE 3 - Declaração de originalidade e cessão de direitos

APÊNDICE 4 - Modelo de declaração de conflitos de interesse ANEXO - LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998 BRASIL. Lei 9.610, de 19 de fevereiro de 1998