

Efeito Relaxante de *Erythroxylum subrotundum* (Erythroxylaceae) em Aorta Isolada de Rato

Relaxing Effect of *Erythroxylum subrotundum* (Erythroxylaceae) in Isolated Rat Aorta

*Iury Alves Ramos¹; Henrique Ribeiro de Oliveira²,
Luciana Cavalcanti da Costa², Silvio Alan Reis³,
Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo⁴, Luciano
Augusto de Araújo Ribeiro⁵, Julianeli Tolentino
de Lima⁵*

Resumo

O objetivo deste trabalho foi investigar o possível efeito vasorrelaxante das fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila (Act) do extrato etanólico bruto das folhas de *Erythroxylum subrotundum* (EsEtOH) e iniciar a investigação do mecanismo de ação nas fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila. Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) foram eutanasiados. Anéis de aorta foram colocados no banho para órgãos isolados contendo solução Krebs, aerada com carbogênio. As contrações e os relaxamentos foram monitorados por transdutores de força acoplados a um sistema de aquisição digital. Uma contração foi induzida com fenilefrina. Sobre a fase tônica de uma segunda contração induzida com fenilefrina,

¹Bolsista FACEPE/ Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf) – Núcleo de Estudos e Pesquisa de Plantas Medicinais (Neplame), Petrolina, PE.

²Estudante de Ciências Farmacêuticas, Univasf, Petrolina, PE.

³Farmacêutico, Univasf, Petrolina, PE.

⁴Química, D.Sc. em Química Orgânica, professora adjunta da Univasf, Petrolina, PE.

⁵Farmacêutico, D.Sc. em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, professor adjunto da Univasf, Petrolina, PE, julianeli.lima@univasf.edu.br

as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila foram adicionadas cumulativamente à cuba. As fases hexânica e clorofórmica não foram capazes de promover vasorrelaxamento. Act promoveu vasorrelaxamento, de maneira dependente de concentração ($CE_{50} = 484,2 \pm 106,6 \mu\text{g/mL}$). Na presença dos bloqueadores azul de metileno e CsCl, Act teve redução de sua potência vasorrelaxante – $EC_{50} = 506,5 \pm 203,1 \mu\text{g/mL}$ e $EC_{50} = 570,26 \pm 128,7 \text{mg/mL}$, respectivamente. Nas fases hexânica e clorofórmica, não se observou efeito relaxante. Act relaxou, de maneira dependente de concentração, os anéis de artéria aorta isolada de rato. O efeito relaxante de Act envolve a participação dos canais para potássio e do óxido nítrico.

Palavras-chave: aorta de rato, efeito vasorrelaxante, extrato etanólico bruto, fase acetato de etila.

Introdução

Na flora do Nordeste brasileiro e, mais especificamente, da região semiárida do Estado de Pernambuco, localizada no Submédio São Francisco, estão presentes várias famílias de espécies vegetais, dentre elas a família Erythroxylaceae, que compreende quatro gêneros e cerca de 240 espécies com distribuição pantropical (PLOWMAN, 2001).

O gênero *Erythroxylum*, com cerca de 230 espécies, é o único representado na região Neotropical, onde aproximadamente 187 espécies são exclusivas, tendo como principal centro de diversidade e endemismo a América do Sul, especialmente o Brasil e a Venezuela. Nesses países, tais espécies, são utilizadas em práticas etnomedicinais com propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, tônica e estimulante, para o fígado, afecções renais e vesiculares, como um poderoso diurético e no tratamento de doenças venéreas, distúrbios musculares, como reumatismo, e respiratórios, tais como bronquite, pneumonia, tuberculose e asma (PLOWMAN; HENSOLD, 2004).

O interesse em investigar produtos de plantas com atividade sobre a musculatura lisa reside no fato de que substâncias espasmolíticas têm uma vasta aplicação em vários processos fisiopatológicos como a asma, hipertensão, diarreias, espasmos tanto intestinais como uterinos.

O objetivo deste trabalho foi investigar a possível atividade vasorrelaxante de produtos obtidos a partir das folhas de *E. subrotundum* e, dessa forma, dar um retorno à população quanto a sua eficácia e possíveis reações adversas nos diversos sistemas orgânicos, especialmente, as espasmolíticas.

Material e Métodos

Os ratos foram eutanasiados por deslocamento cervical. O tórax do animal foi aberto e dissecado. A aorta torácica foi cuidadosamente retirada e segmentada na forma de anéis. Para obtenção das respostas isométricas, os anéis foram suspensos individualmente em cubas de vidro, contendo solução Krebs normal, a 37 °C e aerados com carbogênio por meio de hastes de aço inoxidável que foram ligadas a transdutores de força acoplados a um amplificador tipo *bridge system*.

Após o período de estabilização, foram induzidas duas contrações de magnitudes similares com fenilefrina na concentração submáxima de 3×10^{-7} M, as quais foram consideradas como controle.

A integridade do endotélio vascular foi verificada após adição de acetilcolina (10^{-6} M) à cuba durante a fase tônica da primeira resposta induzida com fenilefrina.

Após obtenção de uma segunda contração induzida com fenilefrina e, ainda, durante a fase tônica dessa segunda resposta, as frações foram adicionadas, separadamente, de maneira cumulativa à cuba. O relaxamento é expresso como a percentagem reversa da contração inicial induzida por fenilefrina e os valores de CE_{50} (concentração do extrato ou fração capaz de promover 50% do seu efeito máximo) e E_{max} (efeito máximo). Para os experimentos com bloqueadores, após a obtenção de duas curvas controle similares concentração-resposta simples à fenilefrina, a preparação foi incubada, separadamente, por 15 minutos com os bloqueadores. Ainda na presença do bloqueador, uma nova contração com fenilefrina foi obtida. Em seguida, a fração foi adicionada cumulativamente à cuba, sobre o componente sustentado da contração. Os valores de CE_{50} foram calculados como descrito anteriormente e comparados na ausência e na presença dos bloqueadores.

Todos os resultados obtidos foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média e analisados estatisticamente empregando-se a ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

Resultados e Discussão

A fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das folhas de *E. subrotundum* não proporcionou relaxamento significativo ($E_{\max} = 5 \pm 0,5\%$). A fase hexânica do extrato etanólico bruto das folhas de *E. subrotundum* não proporcionou relaxamento significativo ($E_{\max} = 8,64 \pm 2,1\%$). A fase acetato de etila do extrato etanólico bruto das folhas de *E. subrotundum* (Act) foi adicionado cumulativamente sobre os anéis de aorta isoladas de rato ($n = 3$), pré-contraídos com fenilefrina ($3 \times 10^{-7}\text{M}$), um agonista $\alpha 1$ -adrenérgico. Foi possível observar que Act promove relaxamento dos anéis de artéria aorta pré-contraída com fenilefrina ($CE_{50} = 484,2 \pm 151,5 \mu\text{g/mL}$), de maneira dependente de concentração, apresentando $E_{\max} = 100\%$ (Figura 1).

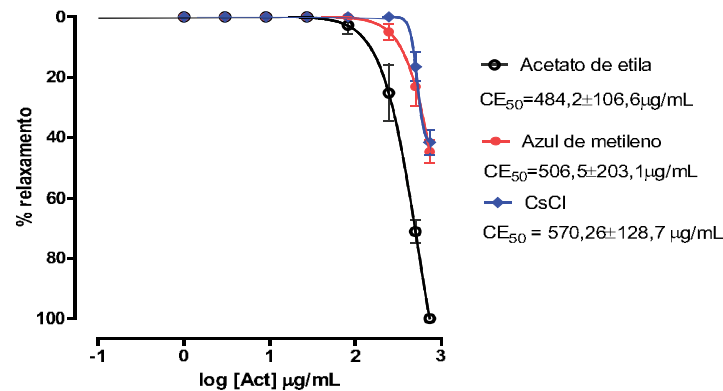


Figura 1. Efeito de *Erythroxylum subrotundum* em aorta isolada de rato: Efeito de Act em artéria aorta de rato pré-contraída com fenilefrina independente da presença de endotélio (●). Símbolos e barras verticais representam a média $\pm$ e.p.m. Efeito de EsEtOH em artéria aorta de rato pré-contraída com fenilefrina na presença (●) e na ausência (●) de azul de metileno. Símbolos e barras verticais representam a média $\pm$ e.p.m. Efeito de EsEtOH em artéria aorta de rato pré-contraída com fenilefrina na presença (●) e na ausência (●) de CsCl. Símbolos e barras verticais representam a média $\pm$ e.p.m.

Os resultados da fase clorofórmica, da fase hexânica e acetato de etila mostraram que os compostos que induzem ao relaxamento dos anéis de aorta isolada de ratos pré-contraídos com fenilefrina estão presentes na fase acetato de etila, mostrando que esses compostos que induzem ao relaxamento são majoritariamente polares.

O bloqueio à síntese do GMPC por meio de inibidores da enzima ciclase de guanilil solúvel (como o azul de metileno ou o ODQ) impossibilita a ativação da PKG e o consequente relaxamento vascular. A participação do GMPC no mecanismo de ação vasorrelaxante do Act foi investigada com a utilização do azul de metileno (LEE et al., 1997).

O Act ($0,1-729\mu\text{g/mL}$) relaxou os anéis de aorta isolada de ratos pré-contraídos com fenilefrina na presença ($\text{CE}_{50} = 506,5 \pm 203,1\mu\text{g/mL}$) de 5mM de azul de metileno (Figura 1). A potência relaxante do Act na presença de azul de metileno apresentou redução significativa de 13,53%. Na presença do bloqueador o efeito máximo foi $E_{\text{max}} = 44,72 \pm 12,5\%$ e na ausência do bloqueador, foi $E_{\text{max}} = 100\%$.

Os canais para potássio desempenham um importante papel na regulação do potencial de membrana e na excitabilidade celular, sendo a contração do músculo liso dependente do balanço entre o aumento da condutância ao íon K^+ , levando a uma hiperpolarização/repolarização, e a diminuição da condutância ao K^+ , levando a uma despolarização (KNOT et al., 1996). Por essa razão, investigou-se o envolvimento de canais de K^+ no efeito do Act.

O Act ($0,1-729\mu\text{g/mL}$) relaxou os anéis de aorta isolada de ratos pré-contraídos com fenilefrina na presença ($\text{CE}_{50} = 570,26 \pm 128,7\mu\text{g/mL}$) de 5mM de CsCl, um bloqueador inespecífico dos canais para potássio (Figura 1). A potência relaxante do Act na presença de CsCl apresentou redução significativa de 16,43%, quando comparada ao relaxamento produzido pelo Act na ausência de CsCl. Na presença do bloqueador, o efeito máximo foi $E_{\text{max}} = 41,60 \pm 13,64\%$ e, na ausência do bloqueador, foi $E_{\text{max}} = 100\%$.

Conclusão

As fases hexânica e clorofórmica não obtiveram efeito vasorrelaxante em anéis de aorta isolada de rato. O Act relaxou, de maneira dependente de concentração, os anéis de artéria aorta isolada de ratos pré-contraídos com fenilefrina. O efeito relaxante da fase acetato de etila do EsEtOH envolve a participação dos canais para potássio e a participação do óxido nítrico no efeito vasorrelaxante.

Referências

- KNOT, H.; BRAYDEN, J.; NELSON, M. Calcium channels and potassium channels, In: BARANY, M. **Biochemistry of smooth muscle contraction**. [San Diego]: Academic Press, 1996. p. 203-219.
- LEE, M. R.; LI, L.; KITAZAWA, T. Cyclic GMP causes Ca^{2+} desensitization in vascular smooth muscle by activating the myosin light chain phosphatase. **The Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 272, n. 8, p. 5.063-5.068, 1997.
- PLOWMAN, T. C. Erythroxylaceae Kunth. In: STEVENS, W. D.; ULLOA, C.; POOL, A.; MONTIEL, O. M. (Ed.). **Flora de Nicaragua**. [St. Louis]: Missouri Botanical Garden Press, 2001. p. 834-838 (Monographs Systematic Botany. v. 85).
- PLOWMAN, T. C.; HENSOLD, N. Names, types and distribution of neotropical species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae). **Brittonia**. New York, v. 56, n. 1, p. 1-53, 2004.