

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA ALBA* (MILL.) N. E. BROWN E SEUS CONSTITUINTES MAJORITÁRIOS CITRAL E LIMONENO EM ARTÉRIAS UMBILICAIS HUMANAS

Maria Franciele Lima Gomes¹, Cícera Georgia Brito Milfont², Nayane de Sousa Almeida³, Thaís de Souza Amorim⁴, Carla Mikevely de Sena Bastos⁵; Débora de Menezes Dantas⁶; Renata Evaristo Rodrigues da Silva⁷; Luís Pereira de Moraes⁸; Roseli Barbosa⁹

Resumo: A *Lippia alba*, o citral e o limoneno possuem propriedade vasorrelaxante comprovada cientificamente em modelos animais, mas ainda não existem relatos em artérias umbilicais humanas (AUH), além disso o uso do cordão umbilical na pesquisa visa implantação de métodos que venham reduzir o uso de animais. Objetivou-se avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (OELa) e seus constituintes majoritários Citral e Limoneno em AUH. Após coleta do cordão umbilical, as AUH foram dissecadas e montadas no banho de órgãos contendo solução de Krebs *Henseleit*, sob tensão inicial de 3gF a 37°C. Após a estabilização, induziu-se uma contração com a solução de Krebs *Henseleit* modificada com KCl (60 mM). Posteriormente foi evocada uma nova contração e adicionadas concentrações crescentes e cumulativas do OELa (30-1000 µg/mL), Limoneno (1-5000 µM/mL) e Citral (1-1000 µM/mL). Todas as substâncias testadas apresentaram efeito vasorrelaxante em AUH, com as CE₅₀ de ± 424,72 ± 8,72 µg/mL, ± 762, 67 µM/mL e 398,56 ± 9,48 µM/mL, respectivamente. Conclui-se que o OELa, Citral e Limoneno foram capazes de relaxar a musculatura lisa de AUH, demonstrando assim que AUH pode ser utilizada como um método alternativo.

Palavras-chave: Artéria umbilical. *Lippia alba*. vasorelaxante

-
- ¹ Universidade Regional do Cariri, email: francyellegomess@gmail.com
 - ² Universidade Regional do Cariri, email: georgia.milfont@hotmail.com
 - ³ Universidade Regional do Cariri, email: nayanealmeida1@gmail.com
 - ⁴ Universidade Regional do Cariri, email: thaissamorim2015@gmail.com
 - ⁵ Universidade Regional do Cariri, email: mikevellybastos@gmail.com
 - ⁶ Universidade Regional do Cariri, email: debora_fdj@hotmail.com
 - ⁷ Universidade Regional do Cariri, email: renata_ers@hotmail.com
 - ⁸ Universidade Regional do Cariri, email: luispereira256@gmail.com
 - ⁹ Universidade Regional do Cariri, email: roselibarbo@gmail.com

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



1. Introdução

A *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é uma planta com propriedade vasorrelaxante comprovada cientificamente, assim como seus constituintes citral e limoneno (SILVA et al., 2018). Apesar da literatura relatar vários estudos com esses produtos utilizando animais de laboratório (DE FREITAS, 2018; SILVA et al., 2018; TEIXEIRA, 2013), ainda não existem trabalhos que demonstrem seus efeitos em musculatura lisa de artérias umbilicais humanas (AUH), uma vez que existem diferenças relacionadas a fisiologia dos vasos de humanos comparando a roedores. Sendo assim, visando à implantação de métodos que venham reduzir o uso de animais e os gastos em ensaios pré-clínicos o cordão umbilical se constitui como uma fonte viável de material biológico.

2. Objetivo

Avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown e seus constituintes majoritários citral e limoneno em artérias umbilicais humanas.

3. Metodologia

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da URCA com o parecer: 1.962.667. Foram coletados segmentos de 10 cm do cordão umbilical com o consentimento prévio das parturientes submetidas a parto cesáreo ou normal, com faixa etária acima de dezoito e abaixo de quarenta anos, ausência de complicações médicas e idade gestacional entre trinta e sete a quarenta e uma semanas. As mesmas participaram do estudo perante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Posteriormente, as artérias umbilicais humanas (AUH) foram dissecadas e seccionadas em anéis de 3 - 5 mm, podendo ser utilizados até 48 h após a coleta. Decorrido 24 h depois da coleta, os anéis arteriais foram transferidos para cubas do equipamento banho de órgãos contendo 10 mL da solução nutritiva Krebs *Henseleit*, cujo pH foi ajustado para 7,4, mantida a uma temperatura de 37°C, continuamente gaseificada com uma mistura de 95% de O₂ e 5% CO₂ sob uma tensão inicial de 3gF. Após a estabilização com duração de 2h30min, induziu-se uma contração com a solução de Krebs *Henseleit* modificada com KCl (60 mM) para validar a viabilidade do tecido. Os anéis de artéria umbilical foram considerados viáveis quando o delta das contrações foi superior a 2 g. Após isso, foi realizada uma lavagem Krebs *Henseleit* normal, esperou-se 30 min para evocar uma nova contração com a mesma solução. No tônus da contração, adicionou-se concentrações crescentes e cumulativas do óleo essencial de *Lippia alba* (OELa) (30-1000 µg/mL) e os constituintes

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Limoneno (1-5000 $\mu\text{M}/\text{mL}$) e Citral (1-1000 $\mu\text{M}/\text{mL}$), para obtenção de uma curva concentração-resposta.

4. Resultados

O óleo essencial de *Lippia alba*, e seus constituintes limoneno e citral foram capazes de relaxar as preparações de AUH. O OELa (30-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) nas preparações de artéria umbilical humana foi capaz de alterar significativamente a contração induzida pelo agonista K^+ com uma IC_{50} de $424,72 \pm 8,72 \mu\text{g}/\text{ml}$. Observa-se que as concentrações utilizadas proporcionaram um relaxamento de 100% da musculatura lisa das artérias umbilicais humana, sendo estatisticamente significativa a partir da concentração de 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ onde o relaxamento total foi alcançado na concentração de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. As concentrações de limoneno utilizadas (1-5000 $\mu\text{M}/\text{mL}$) alteraram $\pm 90\%$ da contração induzida na musculatura lisa arterial, $\text{CE}_{50} \pm 762,67 \mu\text{M}/\text{mL}$, sendo estatisticamente significativamente a partir da concentração 300 μM . O citral (1-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foi capaz de relaxar 100% de forma dependente da concentração, as preparações de artérias pré-contraídas por KCl (60 mM) quando comparado com o controle. Observou-se que o efeito do citral ocorreu de forma estatisticamente significativa a partir da contração de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$. O valor de IC_{50} obtido foi de $398,56 \pm 9,48 \mu\text{g}/\text{mL}$. SANTOS-SILVA et al., (2008) relata que a AUH apresenta maior responsividade vascular a fatores contracturantes do que a fatores relaxantes. Tal característica pode ter uma relação com a maior concentração de efeito e IC_{50} verificadas para o OELa em AUH do que os valores encontrados em vasos animais de roedores. Nesta pesquisa o OELa alcançou um efeito relaxante significativo a partir da concentração de 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ com uma IC_{50} de $424,72 \pm 8,72 \mu\text{g}/\text{mL}$. Em relação aos valores de IC_{50} (CI_{50} , ou CE_{50}) observados em estudos com o limoneno tem-se que em musculo liso uterino foi de $316,4 \pm 3,1 \mu\text{g}/\text{mL}$, em musculo liso traqueal foi de $581 \pm 7,0 \mu\text{g}/\text{mL}$ os quais foram inferiores ao observado no nosso estudo $762,6 \mu\text{M}/\text{mL}$, isso se explica pelo fato de que a vasoatividade da artéria umbilical é mais responsiva a substâncias contracturantes, principalmente respostas que envolvem o mecanismo de canais de Ca^{2+} dependente de voltagem (SANTOS-SILVA, et al., 2010). SILVA et al., (2018), investigaram o efeito vasorelaxante do óleo essencial de *Lippia alba* (OELa) e seus constituintes majoritários citral e limoneno em aorta isolada de ratos, corroborando com os nossos resultados, nesse estudo o citral foi capaz de relaxar na via eletromecânica os anéis de aorta contraídos com KCl (60 mM), apresentando significância nas concentrações de 300, 600 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dessa forma, demonstra-se que a AUH pode vir a ser utilizada como um método alternativo para estudos com vasculatura, no intuito de reduzir gastos e o uso de animais, uma vez que se verificou a viabilidade da utilização vasos oriundos de cordão umbilical humano. Confirmou-se ainda o efeito vasorrelaxante do OELa, citral e limoneno, em um tecido vascular humano.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



5. Conclusão

Constatou-se que o OELa, citral e limoneno foram capazes de relaxar a musculatura lisa de AUH. Tal resultado ressalta a importância desse estudo, demonstrando que AUH pode ser utilizada como um método alternativo, uma vez que grande parte das pesquisas que avaliam o efeito vasorrelaxante de determinadas substâncias utilizam modelos animais.

6. Agradecimentos

FUNCAP - Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis - LFCE.

Departamento de Química Biológica - DQB

7. Referências

DE FREITAS SOUZA, C. Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 21-34, 2018.

SILVA, R. E. R.; DE MORAIS, L. P.; SILVA, A. A.; BASTOS, C. M.S.; GONÇALVES, A. P.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; LEAL-CARDOSO, J. H.; BARBOSA, R. Vasorelaxant effect of the *Lippia alba* essential oil and its major constituent, citral, on the contractility of isolated rat aorta. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 792-798, 2018.

SANTOS-SILVA, A. J, et al. PDE4 and PDE5 regulate cyclic nucleotides relaxing effects in human umbilical arteries. **European journal of pharmacology**, v. 582, n. 1-3, p. 102-109, 2008.

SANTOS-SILVA, António José; CAIRRAO, Elisa; VERDE, Ignacio. Study of the mechanisms regulating human umbilical artery contractility. **Health**, v. 02, n. 04, p. 321–331, 2010. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/health.2010.24049>>.

TEIXEIRA, Ana Craolina Cardoso. **Efeitos dos monoterpenóides limoneno, carveol e álcool perílico no músculo liso vascular**. 2013.