

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"



AÇÃO MIORRELAXANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Dysphania ambrosioides* (L.) MOSYAKIN & CLEMANTS E SEU CONSTITUINTE MAJORITÁRIO α -TERPINENO EM TRAQUÉIA ISOLADA DE RATO WISTAR

Luís pereira de Moraes¹, Carla Mikevely de Sena Bastos², Andressa de Alencar Silva³, Renata Evaristo Rodrigues da Silva⁴, Débora de Menezes Dantas⁵, Thais Amorim de Sousa⁶, Paulo Ricardo Batista⁷, Francisco Assis Bezerra da Cunha⁸, Roseli Barbosa⁹

Resumo: *Dysphania ambrosioides* é usado na medicina popular como agente antiespasmódico, bem como no tratamento de doenças associadas ao sistema respiratório (asma e pneumonia). Este estudo teve como objetivo investigar a ação miorelaxante do óleo essencial de *Dysphania ambrosioides* (OEDa) e seu principal constituinte α -terpineno no músculo liso traqueal isolado de ratos Wistar. O músculo liso traqueal de ratos Wistar foi dissecado, cortado em anéis e montado em banhos de órgãos, foram realizadas gravações de contrações isométricas para avaliar o efeito de OEDa (1-1000 μ g/mL) e α -terpineno (1-3000 μ g/mL) nos seguintes parâmetros: contrações evocadas por potássio (KCl 60mM), acetilcolina (ACh 10 μ M) ou serotonina (5-HT 10 μ M). O OEDa e seu constituinte α -terpineno induziram efeitos miorelaxantes sobre as contrações induzidas por KCl e 5-HT. Por outro lado os estudo realizados na presença de ACh, o OEDa mostrou uma tendência de relaxamento da contração. Esse estudo demonstrou que o α -terpineno contrai o músculo liso da traqueia em altas concentrações. Os resultados deste estudo sugerem que o OEDa têm um potencial terapêutico para relaxar o trato respiratório.

Palavras-chave: *Dysphania ambrosioides*. α -terpineno. traqueia.

1. Introdução

A espécie *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants anteriormente conhecida como *Chenopodium ambrosioides* é denominada popularmente de "mastruz" ou "menstruço". Essa espécie caracteriza-se como erva nativa da América do Sul sendo cultivada em regiões subtropical e subtemperada, principalmente para consumo das folhas para uso na culinária, além de ser uma planta amplamente conhecida na medicina popular como anti-

1 Universidade Regional do Cariri, email: luispereira256@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri, email: mikevallybastos@gmail.com

3 Universidade Regional do Cariri, email: andressaalencar17@hotmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: renata_ers@hotmail.com

5 Universidade Regional do Cariri, email: debora_fdj@hotmail.com

6 Universidade Regional do Cariri, email: thaissamorim2015@gmail.com

8 Universidade Regional do Cariri, email: cunha.urca@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"



helmíntico, vermífugo e emenagogo (JABBAR et al., 2007; PEREIRA et al., 2010).

Estudos investigando a composição química e as atividades biológicas e de *D. ambrosioides* também são descritos, demonstrando que, ao realizar análises químicas do óleo essencial o α -terpineno, ascaridol, p-cimeno são detectados como principais compostos ativos encontrados nesse óleo essencial (CAVALLI et al., 2004; HU et al., 2015). Quanto as atividades biológicas sugere-se que a espécie é um potente inibidor dos nematoides gastrintestinais, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis* (DE ALMEIDA et al., 2007), a infusão de *Chenopodium ambrosioides* e o seu constituinte ascaridol promoveram a morte de nematoides e não demonstraram atividade tóxica sobre a muscula lisa intestinal (MACDONALD et al., 2004); além disso, o trabalho de ASSAIDI et al., (2019) atribui efeito vasodilatador dependente de endotélio ao extrato de *Chenopodium ambrosioides*.

Os fitoterápicos que atuam no aparelho respiratório ainda são raros. As doenças que afetam o trato respiratório causando brococonstricção (asma e bronquites) ainda tem sido um problema crescente, principalmente na população de crianças. Com isso observamos a importância de elucidar o efeito miorreaxante do óleo essencial de *D. ambrosioides*, e seu constituinte α -terpineno sobre a musculatura lisa traqueal de ratos Wistar.

2. Objetivo

Investigar a atividade miorreaxante do óleo essencial de *Dysphania ambrosioides* (L.) mosyakin & clemants e seu constituinte majoritário α -terpineno em traquéia isolada de rato wistar, mostrando o seu potencial efeito em diferentes vias de contração.

3. Metodologia

3.1 Animais e preparação da amostra tecidual

Este trabalho foi submetido para apreciação da Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA), da Universidade Regional do Cariri (URCA), sendo aprovado com o número de parecer 24/2012.2 /2012 . Os animais utilizados para os experimentos foram ratos albinos machos da linhagem Wistar, com massa corpórea entre 200-300 g mantidos com acesso a água e ração *ad libitum*, provenientes do Biotério Central da Universidade Regional do Cariri – URCA. Os animais foram eutanasiados por câmara de CO₂, e em seguida foi promovida a abertura da face ventral do tórax, para remoção da traqueia. Após removida, a traqueia foi transferida para uma placa de Petri contendo Tyrode modificado (TM). Foi realizada a limpeza do material para eliminação dos tecidos anexos e feito a secção de segmentos transversos circulares de 4-5 mm de comprimento.

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"



Os tecidos foram mantidos em câmara de banho de órgão isolado com capacidade para 10 mL da solução nutritiva Tyrode, mantidos sob contínua aeração por borbulhamento de ar e temperatura de 37 °C. As medidas da atividade contrátil foram mensuradas através de uma haste conectada a um transdutor de força e este a um amplificador diferencial instalada em um computador, cujos dados coletados foram convertidos em traçados e armazenados em arquivos. Os anéis de tecidos isolados foram submetidos a uma tensão de 1 gF, e mantido por um período de estabilização de 1 h. Todos os protocolos iniciaram com duas contrações subseqüentes, reproduzidas pela adição de 60 mM de KCl (K60), de modo hipertônico nos anéis, e após atingir valores estáveis, um platô, a resposta máxima obtida foi considerada a contração máxima do anel. Apenas os experimentos com contrações reproduzíveis foram considerados viáveis para as séries experimentais.

4. Resultados

Nos estudos realizados com OEDa e o α -terpineno para avaliar o efeito sobre a musculatura lisa traqueal em contração mantida por 60 mM de KCl (N=6), verificou-se que ambas as substâncias relaxou 100 % a musculatura lisa traqueal de forma concentração dependente. Foi visto que, para o OEDa o efeito miorelaxante ocorreu de forma estatisticamente significativa a partir da concentração de 1 μ g/mL relaxando totalmente em 1000 μ g/mL, enquanto que o α -terpineno passou a ser significativo na concentração de 3 μ g/mL inibindo totalmente a contração na concentração de 3000 μ g/mL (OELs $P < 0,007$ e α -terpineno $P < 0,001$, ANOVA, método *Holm-Sidak*) (Figura 1 A). Os valores de IC_{50} obtidos foram os seguintes, para OEDa e α -terpineno, respectivamente: $50,92 \pm 1,25$, μ g/mL, $43,73 \pm 4,46$ μ M. Corroboram com nossos achados, LIMA et al., (2010), demonstram que o óleo essencial de *Eucalyptus tereticornis* relaxou de forma significativa contrações em traqueia de rato induzidas por K^+ , mostrando seu potencial farmacológico assim como o OEDa. Da mesma forma, RIBEIRO et al., (2017), comprovou que, o óleo essencial de *Lippia alba* reverte as contrações promovidas por K^+ (60 mM) em traqueia isolada de rato.

Já no acoplamento farmacomecânico pela via colinérgica (ACh 10 μ M), observou-se que o OEDa foi capaz de relaxar a musculatura lisa traqueal em 100 % da contração mantida por 10 μ M de acetilcolina (N=6) de forma concentração dependente, enquanto que o α -terpineno apresentou efeito contrátil, potencializando o efeito da acetilcolina (N=8). Foi visto que o OEDa teve um efeito relaxante que ocorreu de forma estatisticamente significativa a partir da concentração de 1000 μ g/mL, relaxando totalmente na concentração de 3.000 μ g/mL e com IC_{50} obtida de: $956,33 \pm 2,83$, μ g/mL. Por outro lado, o α -terpineno promoveu uma contração que passou a ser significativa a partir de 600 μ g/mL, e alcançou uma contração de 20 % a partir da concentração de 3000 μ g/mL em presença de ACh (OEDa $P < 0,001$ e α -terpineno $P < 0,002$, ANOVA, método *Holm-Sidak*) (Figura 1 B). Pinho-da-Silva et al., (2012), demonstraram que o terpeno trans-cariofileno assim como o α -terpineno, diminuiu de forma concentração dependente as contrações em traqueia de

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"



ratos induzidas por KCl; porém, quando as contrações foram induzidas por ACh, o trans-cariofileno também apresentou potência reduzida nesta via.

Nos estudos onde a contração da musculatura lisa traqueal foi evocada por 5-HT (10 μ M), o OEDa, na concentração 1000 μ g/mL, promoveu um relaxamento que foi estatisticamente significativo chegando a $98,27 \pm 8,94$ %. Enquanto que 3000 μ g/mL de α -terpineno relaxou apenas $28,1 \pm 9,47$ %, contudo, mesmo apresentando significância, ele possui baixa eficácia nesta via farmacológica, o que evidencia mais uma vez sua baixa potencia relaxante ($P < 0,001$, ANOVA, *Holm-sidak*) (Figura 1 C). Segundo Jarvis et al., (2016), o óleo essencial de *Lippia alba* relaxou de forma dependente da concentração as contrações evocadas de 5-HT (10 μ M), em músculo liso de traqueia de rato e íleo de cobaia, corroborando assim com nossos achados.

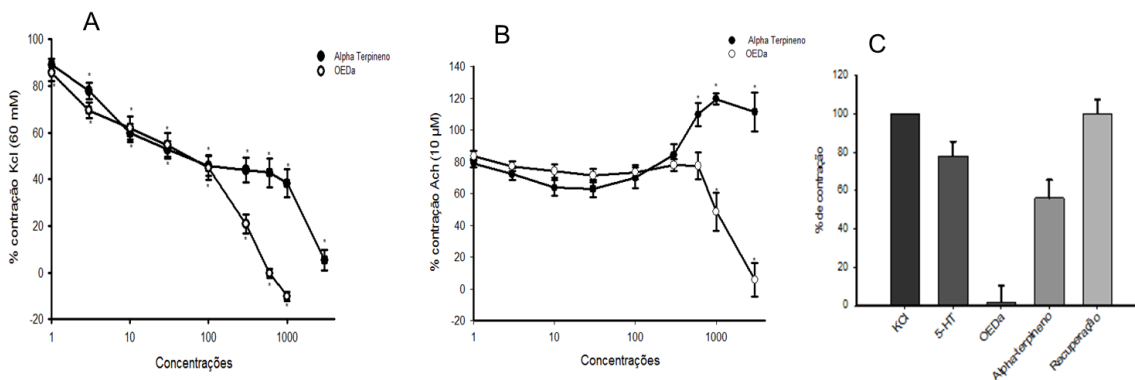


Figura 1: Gráfico mostrando o relaxamento produzido pelo EODa e α -terpineno em preparações de tecido traqueal de rato pré-contraídas com: (A) 60 mM de potássio, 10 μ M de Acetilcolina (B) e 10 μ M de Serotonina (C).

5. Conclusão

Estes resultados mostram que tanto o OEDa como os seu constituinte α -terpineno, têm efeito miorelaxante em tecido traqueal nas vias do potássio e serotonina, contudo, na via colinérgica o OEDa continua com seu efeito miorelaxante, enquanto que, o α -terpineno age potencializando o efeito da acetilcolina e contraindo a musculatura lisa traqueal. Tanto o OEDa e seu constituinte α -terpineno possuem um potencial para o desenvolvimento de futuros agentes terapêuticos no tratamento de doenças envolvendo contrações de músculo traqueal, como no caso de asma ou bronquite.

6. Referências

ASSAIDI, A. et al. *Chenopodium ambrosioides* induces an endothelium-dependent relaxation of rat isolated aorta. **Journal of integrative medicine**, v. 17, n. 2, p. 115–124, 2019.

CAVALLI, J. et al. Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium*

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"



ambrosioides by GC, GC-MS and ^{13}C -NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 15, n. 5, p. 275–279, 2004.

DE ALMEIDA, M. A. et al. Effects of aqueous extracts of *Mentha piperita* L. and *Chenopodium ambrosioides* L. leaves in infective larvae cultures of gastrointestinal nematodes of goats. **Revista brasileira de parasitologia veterinária= Brazilian journal of veterinary parasitology: Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria**, v. 16, n. 1, p. 57, 2007.

HU, X. et al. Simultaneous determination of ascaridole, p-cymene and α -terpinene in rat plasma after oral administration of *Chenopodium ambrosioides* L. by GC-MS. **Biomedical Chromatography**, v. 29, n. 11, p. 1682–1686, 2015.

JABBAR, A. et al. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against trichostrongylid nematodes of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 1, p. 86–91, 2007.

JARVIS, G. E.; BARBOSA, R.; THOMPSON, A. J. Noncompetitive Inhibition of 5-HT₃ Receptors by Citral, Linalool, and Eucalyptol Revealed by Nonlinear Mixed-Effects Modeling. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 356, n. 3, p. 549–562, 2016.

LIMA, F. J. B. et al. The essential oil of *Eucalyptus tereticornis*, and its constituents α - And β -pinene, potentiate acetylcholine-induced contractions in isolated rat trachea. **Fitoterapia**, v. 81, n. 6, p. 649–655, 2010.

MACDONALD, D. et al. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide (s) that is (are) not toxic to mammalian smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, n. 2–3, p. 215–221, 2004.

PEREIRA, W. S. et al. Evaluation of the subchronic toxicity of oral treatment with *Chenopodium ambrosioides* in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 602–605, 2010.

PINHO-DA-SILVA, L. et al. trans-Caryophyllene, a natural sesquiterpene, causes tracheal smooth muscle relaxation through blockade of voltage-dependent Ca^{2+} channels. **Molecules**, v. 17, n. 10, p. 11965–11977, 2012.

RIBEIRO, T. F. et al. Effect of the *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its main constituents, citral and limonene, on the tracheal smooth muscle of rats. **Biotechnology Reports**, v. 17, n. July 2017, p. 31–34, 2017.