

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"



ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA TÓPICA DOS COMPOSTOS (+)-NOOTKATONE E (+)-VALENCENE EM CAMUNDONGOS

Cicero Pedro da Silva Júnior¹, Lindaiane Bezerra Rodrigues Dantas², Kaio Jefte Santos de Oliveira Dias³, Renata Torres Pessoa⁴, Isabel Sousa de Alcântara⁵, Isis Oliveira Menezes⁶, Maria Rayane Correia de Oliveira⁷, Anita Oliveira Pereira Brito Martins⁸, Irwin Rose Alencar de Menezes⁹

Resumo: A inflamação é conceituada como a resposta natural do organismo frente aos agentes infecciosos, antígenos e lesões teciduais. A inflamação pode ser aguda ou crônica dependendo do grau lesado no tecido, com isso, observa-se a necessidade de novos fármacos fitoterápicos oriundos de plantas medicinais. O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade anti-edematogênica tópica dos compostos nootkatone e valencene em camundongos, no modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton. Os camundongos foram tratados por via tópica, o nootkatone e o valencene nas concentrações de 1, 10 e 30 mg/mL. Após 1 hora os animais foram induzidos com o óleo de cróton, sendo aplicado 20µL, 10µL na face externa e 10 µL na face interna das orelhas. Obtendo resultados significativos nas concentrações de 1, 10 e 30 mg/mL com uma redução de 30,99%, 21,13% e 32,39% do nootkatone e nas concentrações do valencene de 1 e 30 mg/mL reduziu em 21,43%, e 42,86% respectivamente. Em conclusão os compostos obtiveram resultados significativos na atividade anti-inflamatória aguda.

Palavras-chave: (+)-Nootkatone. (+)-Valencene. Inflamação.

1. Introdução

Durante a inflamação, diversas células são envolvidas, incluindo monócitos/macrófagos, neutrófilos e linfócitos, no tecido afetado. (SERHAN *et al* 2005). A resposta de um processo inflamatório envolve uma série de eventos, vasculares e celulares, e pode ser classificado como agudo ou crônico, dependendo da persistência da lesão e sinais clínicos. (HENSON *et al* 2005).

1 Universidade Regional do Cariri, email: juninhocatolico@hotmail.com

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

3 Universidade Doutor Leão Sampaio, email: kjftek@gmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: trabalho.renata18@gmail.com

5 Universidade Regional do Cariri, email: isabel-alcantara-@hotmail.com

6 Universidade Regional do Cariri, email: isiso.menezes@outlook.com

7 Universidade Estadual do Ceará, email: rayaneoliveirabio@gmail.com

8 Universidade Regional do Cariri, email: anitaoliveira24@yahoo.com.br

9 Universidade Regional do Cariri, email: irwinalencar@yahoo.com.br

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”



A busca por novas moléculas para o tratamento de patologias cresce cada vez mais. Muito se descobre ao estudar constituintes metabolitos provenientes de plantas com o auxílio da identificação química dos compostos, onde boa parcela apresenta relevância farmacológica. Com crescente necessidade de se buscar novos fármacos, a ciência busca a união do que a natureza oferece com a evolução das pesquisas científicas. (CARTAXO, *et al* 2010)

A partir do metabolismo secundário dos vegetais, substâncias complexas são produzidas apresentando características voláteis, comumente em sua forma líquida e com forte odor (MILLEZI *et al.*, 2014), também conhecidos como óleos essenciais, que em sua composição existem monoterpenos, sesquiterpenos, além de conter ésteres e outras moléculas com atividades bioativas (VIZZOTTO *et al*, 2010).

O Nootkatone é uma substância de origem orgânica que foi obtida inicialmente a partir do interior do Cedro do Alaska da classe das cetonas fazendo parte do grupo dos terpenoides e uma grande subclasse denominada de sesquiterpeno (LEONHARDT *et al*, 2014). Esse composto é obtido por meio da metabolização do Valencene, um precursor imediato e presente em grande quantidade no óleo obtido da casca da laranja, também é encontrada no suco de toranja (SOWDEN *et al.*, 2005). Assim como o valenceno o nootkatone é utilizado como aromatizante para bebidas, estando em meio aos terpenos como os mais usados em escala industrial, sendo o valenceno extraído por meio de destilação a vapor (BEEKWILDER *et al.*, 2014). O metabolismo do Valencene em Nootkatone pode ser dado pelo conjunto de enzimas citocromo P450 que podem ser encontrados tanto nos eucariontes como nos procariontes, no entanto os métodos de bioconversão executados não mostraram resultados satisfatórios. (GAVIRA *et al.*, 2013).

2. Objetivo

Avaliar a atividade anti-edematogênica tópica dos compostos (+)nootkatone e (+)-valencene em camundongos induzido pelo óleo de cróton.

3. Metodologia

3.1 Animais

Para realização dos experimentos foram utilizados camundongos *Swiss* (*Mus musculus*) (20-25g) de ambos os sexos que foram mantidos no Biotério Experimental da Universidade Regional do Cariri – URCA, sob condições de temperatura controlada (22 ± 2 °C), respeitando uma fase claro/escuro de 12 horas e com livre acesso a água mineral e ração padrão Labina®. Antes do início dos experimentos os animais foram mantidos no laboratório por um período de 24 horas para adaptação (CEUA nº 100/2019.2).

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

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



3.2 Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

Os camundongos *Swiss* (n=6) tiveram as orelhas direitas pré-tratadas topicamente com salina 0,9%, dexametasona 4mg/mL e as concentrações de 1, 10 e 30 mg/mL dos compostos (+)-Nootkatone e (+)-Valencene (aplicações de 20µL: 10µL face externa e 10µL face interna das orelhas). Após 1 h aplicou-se 20µL do agente flogístico óleo de cróton 5% (v/v) diluído em acetona nas orelhas direitas e 20 µL do veículo acetona nas orelhas esquerdas. Decorridas 4 h, os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical para posterior retirada das orelhas, cortadas em discos de 6 mm de diâmetro (com perfurador de couro metálico) e pesadas em balança analítica (NOGUEIRA, 2005).

3.3 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos a análise pelo programa GraphPad Prism v. 6.0. ANOVA de duas vias (Two-way), aplicando-se como post hoc o teste de *Tukey*. Para todas as análises foi considerado significativo $p < 0,05$.

4. Resultados

O nootkatone apresentou atividade anti-edematogênica causado por óleo de cróton, nas concentrações de 1, 10 e 30 mg/mL com uma redução de 30,99%, 21,13% e 32,39% respectivamente as suas concentrações, a qual mostraram significância em comparação ao controle negativo. O controle positivo utilizado a dexametasona promoveu uma inibição significativa de 90,2%. (figura 1 A)

O valencene foi utilizado no teste de aplicação tópica com óleo de cróton na orelha dos camundongos como meio de avaliar a atividade de agentes anti-inflamatórios esteroidais ou não esteroidais com possível atividade tópica ou sistêmica. O valencene teve uma significância quando comparados com o grupo controle negativo, nas concentrações de 1 e 30 mg/mL inibiu o efeito do óleo de cróton em 21,43%, e 42,86% respectivamente. O grupo controle positivo, mostrou sua eficácia inibido em 90,2% o edema de orelha. (figura 1 B)

O óleo de cróton é responsável pelo processo inflamatório agudo, causando um edema na orelha dos animais com uma infiltração de neutrófilos, produção de prostaglandinas e um aumento da permeabilidade vascular. (Pawlaczyk *et al.*, 2013) Cuja inflamação ocorre por indução da fosfolipase A2 agindo sobre a enzima ciclooxigenase formando importantes mediadores químicos que ira agir no metabolismo do ácido araquidônico, como leucotrienos e prostaglandinas (Garg *et al.*, 2008).O principal agente irritante que compõe o óleo de cróton é o acetato de tetradecanoil-forbol (TPA) (Puigneró *et al.*, 1998)

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

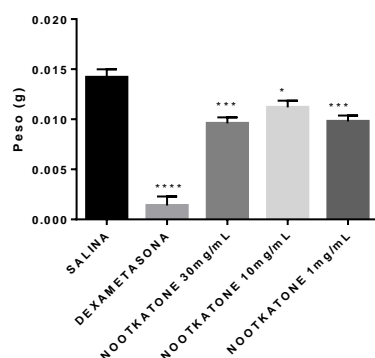
21 a 25 de outubro de 2019

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

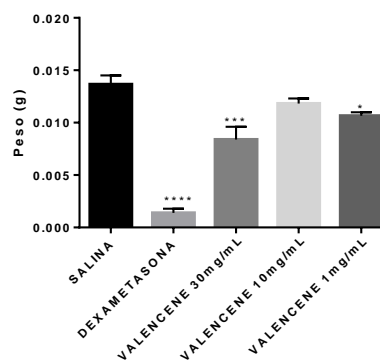


Figura 1- Efeito tópico do nootkatone (A) e valencene (B) nas concentrações de 1, 10 e 30 mg/mL sobre influência da aplicação única de óleo de cróton.

A)



B)



Percentual médio referente à massa final (peso em gramas) das orelhas de camundongos. a4 = p < 0,0001 vs salina; a3=p<0,001 vs salina; a1=p< 0,05 vs salina. ANOVA seguida do Teste de Tukey.

5. Conclusão

Diante dos resultados, conclui que tanto o nootkatone nas concentrações de 1mg/mL; 30mg/mL; e o valencene na concentração de 30mg/mL, respectivamente, foram estatisticamente significantes no processo anti-inflamatório agudo, sendo assim o presente estudo sugere a realização de novos ensaios a fim de avaliar os mecanismos de ação, e assim observar em qual desses os compostos estão atuando.

6. Referências

BEEKWILDER, Jules et al. Valencene synthase from the heartwood of Nootka cypress (*C. allitropis nootkatensis*) for biotechnological production of valencene. **Plant biotechnology journal**, v. 12, n. 2, p. 174-182, 2014.

CARTAXO, SARAHBELLE LEITTE; DE ALMEIDA SOUZA, MARTA MARIA; DE ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010.

GARG, Rachana; RAMCHANDANI, Asha G.; MARU, Girish B. Curcumin decreases 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced protein kinase C translocation to modulate downstream targets in mouse skin. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 6, p. 1249-1257, 2008.

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"



GAVIRA, Carole et al. Challenges and pitfalls of P450-dependent (+)-valencene bioconversion by *Saccharomyces cerevisiae*. **Metabolic engineering**, v. 18, p. 25-35, 2013.

HENSON, Peter M. Dampening inflammation. **Nature immunology**, v. 6, n. 12, p. 1179, 2005.

LEONHARDT, Robin-Hagen; BERGER, Ralf G. Nootkatone. In: **Biotechnology of Isoprenoids**. Springer, Cham, 2014. p. 391-404.

MILLEZI, A. F. et al. Caracterização e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Rev. bras. plantas med**, v. 15, n. 3, p. 373-379, 2013.

NOGUEIRA, F. L. P. et al. Atividade analgésica e antiedematogênica de *Polygala paniculata* L.(Polygalaceae) selvagem e obtida por micropropagação. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 15, p. 310-315, 2005.

PAWLACZYK, Izabela et al. Effects of extraction condition on structural features and anticoagulant activity of *F. vesca* L. conjugates. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 1, p. 741-750, 2013.

PUIGNERÓ, V.; TURULL, A.; QUERALT, J. Arachidonic acid (AA) and tetradecanoylphorbol acetate (TPA) exert systemic effects when applied topically in the mouse. **Inflammation**, v. 22, n. 3, p. 307-314, 1998.

SERHAN, Charles N.; SAVILL, John. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. **Nature immunology**, v. 6, n. 12, p. 1191-1197, 2005.

SOWDEN, Rebecca J. et al. Biotransformation of the sesquiterpene (+)-valencene by cytochrome P450 cam and P450 BM-3. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 3, n. 1, p. 57-64, 2005.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.