

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

EFEITO VASORRELAXANTE DO COMPOSTO FENÓLICO: METIL - EUGENOL (1,2-DIMETHOXY-4-PROP-2-ENYLBENZENE) EM ARTÉRIA DO CORDÃO UMBILICAL HUMANO

Isaac Moura Araújo^{1*}, Andressa de Alencar Silva², Debora Menezes de Alencar¹, Guilherme Honor de Brito¹, Francisco Junio Dias¹, Carla Mikevely de Sena Bastos¹, Roseli Barbosa¹

Resumo: Os fenilpropanóides são metabólitos secundários de plantas sintetizados a partir da fenilalanina. Dentre eles, o metil-eugenol, usado na indústria de cosméticos, é dotado de alguns efeitos farmacológicos, entretanto, não há estudos em musculatura lisa de vasos humanos. Portanto o objetivo deste estudo é investigar a ação do metil-eugenol em vasos umbilicais humanos afim de descobrir novas substancias bioativas, com ação vasodilatadora. Os fragmentos de cordões umbilicais coletados no hospital foram levados ao laboratório onde foram isolados e seccionadas em anéis (3 a 4 mm) e colocadas nas cubetas do banho de órgão (estabilização por 1h:30 min), em solução de *Krebs Henseleit*. Foram usados os agonistas contráteis KCL, serotonina e para a avaliação do envolvimento dos canais de cálcio dependentes de voltagem utilizou-se o cloreto de bário. O composto foi capaz de relaxar totalmente as contrações evocadas pelos agentes contracturantes, possivelmente através do bloqueio dos canais de cálcio do tipo L.

Palavras-chave: Metil-eugenol. Artéria umbilical humana. Vasorrelaxante.

1. Introdução

As plantas são capazes de produzir compostos bioativos, conhecidos como metabólitos secundários, que desempenham importante papel no metabolismo da própria planta, bem como apresentam grande potencial para interagir como moléculas biológicas em organismos diversos à exemplo o organismo humano. Assim, tais metabólitos secundários facilitam o desenvolvimento de fármacos e a identificação e caracterização de novos alvos celulares (SCHMITT, 2011).

Dentre os metabólitos secundários identificados de plantas estão os fenilpropanóides, sintetizados a partir do aminoácido fenilalanina (VOGT, 2010) e que demonstraram ter efeitos bioativos já descritos na literatura. O metil-eugenol (ME) é um exemplo de fenilpropanóides que pode ser isolado de vários óleos essenciais de plantas, tais como a *Melissa officinalis* e *Ocimum basilicum* (SAKI; BAHMANI; RAFIEIAN-KOPAEI, 2014), esta molécula tem sido utilizada

1 Universidade Regional do Cariri, email*: isaac.moura@urca.br

2 Universidade Estadual do Ceará

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

como fragrância em cosméticos, sabonetes e shampoo (SCF, EUROPEAN COMMISSION, 2001).

Além dessas utilidades, alguns efeitos farmacológicos também destaca-se para o ME como: a atividade anestésica e antinociceptiva (SELL; CARLINI, 1976; YANO et al., 2006; WANG et al., 2015), antidepressiva (NORTE; COSENTINO; LAZARINI, 2005), efeito relaxante em íleo (MAGALHÃES et al., 1998; LIMA et al., 2000), traqueia (ARRIETA et al., 2018), corpos cavernosos de ratos (CABRAL et al., 2014) e aorta isolada de rato (LAHLOU et al., 2004), contudo não há estudos envolvendo a musculatura lisa humana. É importante ressaltar que os estudos com compostos bioativos como os de origem natural em vasos humanos é envolto de grande relevância uma vez que há patologias que acometem a funcionalidade dos vasos durante a gestação, como a pré-eclâmpsia, eclâmpsia e a síndrome de HELLP, bem como a escassez de fármacos.

2. Objetivo

Investigar a atividade vasorrelaxante do metil-eugenol sobre contrações de artéria do cordão umbilical humano

3. Metodologia

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA (CEP nº 3.832.881) e pelo Comitê de ética do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis.

O material foi transportado para o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis – LFCE/URCA e os anéis da artéria umbilical humana (AUH) foram limpos da geleia de *Wharton* e dos tecidos conjuntivos e adiposos, sendo suspensos individualmente com ganchos de aço inoxidável inseridos em seus lúmens, com tensão isométrica pré-estabelecida de 3 g. Essa montagem foi realizada em câmaras de vidro com 10 mL de solução de *Krebs-Henseleit* (37 °C e pH ajustado de 7,4), com borbulhamento constante com mistura carbogênica (95% O₂; 5% CO₂).

A solução foi renovada a cada 15 minutos após a suspensão dos anéis de AUH. Após um período de estabilização de aproximadamente 1h:30min, todos os protocolos começaram com uma contração produzidas pela adição de 60 mM KCl (K60) aos anéis de AUH estudados. Posteriormente, os agonistas contráteis KCl (60 mM) ou 5-HT (10 µM) foram adicionados às preparações, seguido pela adição crescente e cumulativa do metil-eugenol (30-1200 µM). Para investigar a participação dos canais de cálcio do tipo L dependentes de voltagem (VOCCs), foram realizados experimentos nos quais o tecido foi mantido despolarizado em meio livre de cálcio contendo 60 mM [K⁺]. Nessas condições, a adição de duas concentrações máximas de ME (800 e 1000 µM) foram pré-incubadas e em

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

seguida concentrações crescentes e cumulativa de Ba^{2+} (0,1 – 30 mM) foram induzidas para verificação de contrações dependentes da concentração.

A amostragem experimental para os experimentos correspondeu a n=6. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.

4. Resultados

Foram evocadas contrações nos anéis de AUH com diferentes agonistas contráteis: KCl (60 mM), 5-HT (10 μ M), bem como foram avaliadas a participação dos VOCCs, pela adição crescente de concentrações de $BaCl_2$ (0,1-30 mM). Sendo observada efeito relaxante do ME em presença de ambos os agonistas citados, para o qual atribui-se que esse efeito envolve os canais de Ca^{2+} operados por voltagem.

Em presença de solução de Krebs modificado com KCl (60 mM), o ME (30 - 800 μ M) foi capaz de relaxar em 100% (Fig. 1A) a contração induzida com por 60 mM de K^+ , tendo sua EC_{50} com valores $345,1 \pm 5,6 \mu$ M e sua concentração estatisticamente significativa a partir de 200 μ M ($p < 0,001$ *one way*).

Para as contrações evocadas por serotonina o ME (30 - 1200 μ M) também relaxou em 100% (Fig. 1B) as contrações dos anéis de AUH, sendo sua concentração estatisticamente significativa a partir de: 400 μ M ($p < 0,001$ *one way*) e seu valor de EC_{50} : $529,5 \pm 4,7 \mu$ M.

Esses dados demonstram maior potência farmacológica do ME em presença de contrações evocadas por K^+ , bem como é perceptível que uma concentração menor (800 μ M) foi necessária para relaxar as contrações evocadas pelo K^+ quando em comparação as contrações evocadas por 5-HT.

Ao avaliar o efeito do ME e seu envolvimento com canais de Ca^{2+} tipo L, escolheu-se as duas concentrações do ME (800 e 1000 μ M) com base nos experimentos com o K^+ e a 5-HT, para as quais a concentração que obteve o efeito de 100% de relaxamento foram justamente as citadas. Observou-se que as preparações incubadas com ME (800 e 1000 μ M), e conseqüentemente expostas à presença do agonista seletivo para canais de Ca^{2+} tipo L – o $BaCl_2$ (0,1 – 30 mM) – não apresentaram contrações estatisticamente significante nem mesmo na concentração máxima do $BaCl_2$ o que indica envolvimento do ME com os canais de Ca^{2+} tipo L (FIG. 1C), efeito este semelhante ao observado pelo bloqueador seletivo desses canais a Nifedipina (10 μ M). Além disso observa-se um bloqueio maior do ME (1000 μ M) do que o causado pela Nifedipina (10 μ M).

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

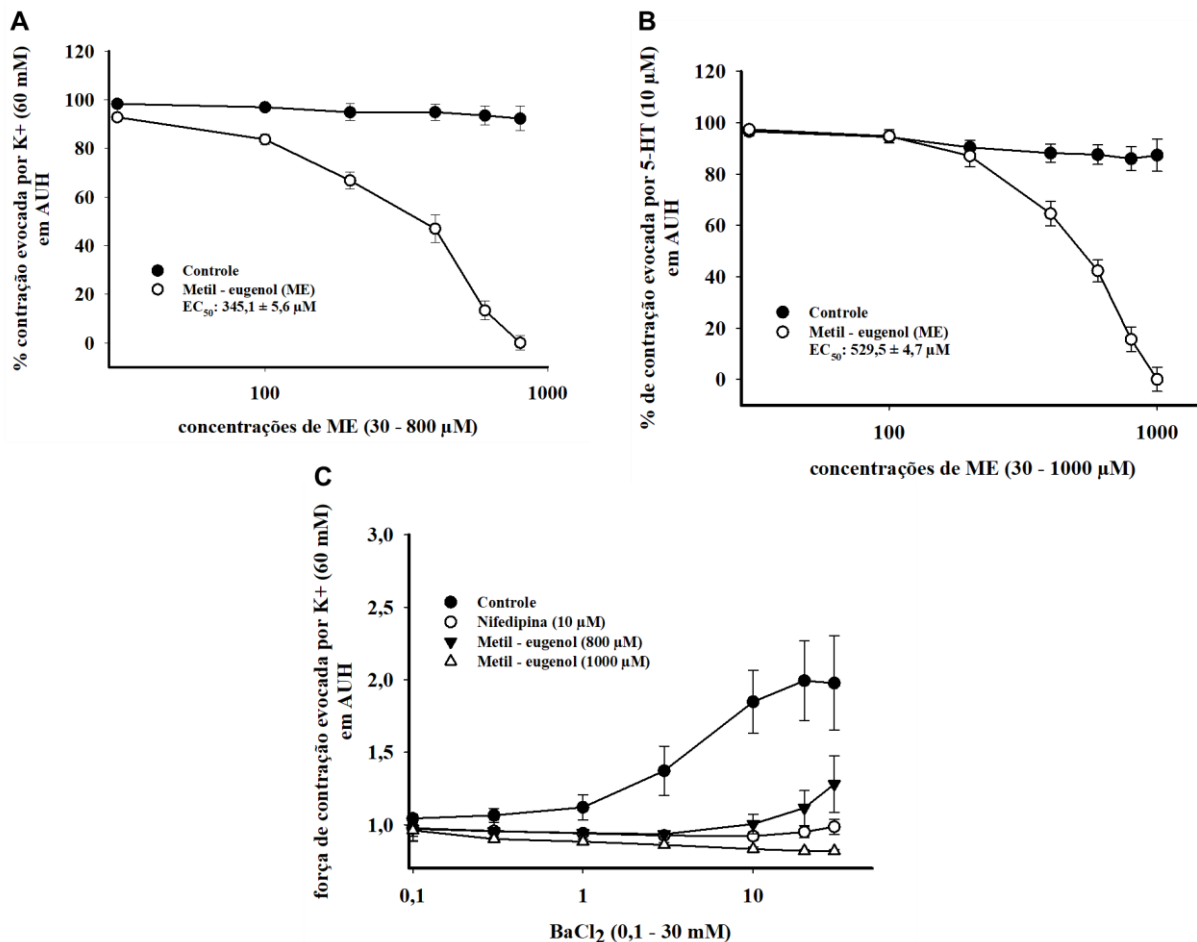


Figura 1: Efeito do metil-eugenol (ME 30-1200 μM) sobre o parâmetro contrátil do acoplamento eletromecânico (KCl 60 mM) e farmacomecânico 5-HT (10 μM) e envolvimento com canais de Ca²⁺ tipo L da musculatura lisa da artéria umbilical humana (AUH), 1A, 1B, e 1C respectivamente. Os valores são expressos como média ± S.E.M.; (p < 0,05, ANOVA unilateral p < 0,001).

5. Conclusão

Com base nos resultados pode-se concluir que o metil-eugenol foi eficaz em promover o relaxamento dos anéis de AUH no acoplamento eletromecânico (K⁺) e farmacomecânico (5-HT), sua ação provavelmente se dá pela interação com os canais de Ca²⁺ do tipo L, pois apresentou o mesmo efeito da nifedipina, um bloqueador seletivo desses canais.

6. Agradecimentos

Agradecemos as agências de Fomento: Funcap, Capes pelo apoio a pesquisa.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

7. Referências

ARRIETA, J. et al. Relaxant effects of *Peperomia hispidula* (Sw.) A. dietr. on isolated rat tracheal rings. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 17, n. 6, p. 610–618, 2018.

CABRAL, Pedro Henrique Bezerra et al. Effects of the essential oil of *Croton zehntneri* and its major components, anethole and estragole, on the rat corpora cavernosa. **Life sciences**, v. 112, n. 1-2, p. 74-81, 2014.

LIMA, C. C. et al. Relaxant and antispasmodic actions of methyleugenol on guinea-pig isolated ileum. **Planta Medica**, v. 66, n. 5, p. 408–411, 2000.

MAGALHÃES, P. J. C. et al. Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 3, p. 172–177, 1998.

NORTE, M. C. B.; COSENTINO, R. M.; LAZARINI, C. A. Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats. **Phytomedicine**, v. 12, n. 4, p. 294-298, 2005.

SAKI, Kourosh; BAHMANI, Mahmoud; RAFIEIAN-KOPAEI, Mahmoud. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, p. S34-S42, 2014.

SCF, EUROPEAN COMMISSION et al. Opinion of the Scientific Committee on Food on Methyleugenol (4-allyl-1, 2-dimethoxybenzene). **Health and Consumer Protection Directorate-General**, 2001.

SCHMITT, Esther K. et al. Natural products as catalysts for innovation: a pharmaceutical industry perspective. **Current opinion in chemical biology**, v. 15, n. 4, p. 497-504, 2011.

SELL, Ari B.; CARLINI, E. A. Anesthetic action of methyleugenol and other eugenol derivatives. **Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 367-377, 1976.

VOGT, Thomas. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010.

WANG, Ze-Jun et al. Inhibition of Na v 1.7 channels by methyl eugenol as a mechanism underlying its antinociceptive and anesthetic actions. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 36, n. 7, p. 791-799, 2015.

YANO, Shingo et al. Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice. **European journal of pharmacology**, v. 553, n. 1-3, p. 99-103, 2006.