|  |
| --- |
| ***Trabalho completo*** |

**ESTUDO COMPARATIVO DA AÇÃO ESPASMOLÍTICA DE EXTRATOS OBTIDOS DAS FLORES E FOLHAS DE *Arrabidaea brachypoda* DC. EM JEJUNO DE RATO**

***Jhone Robson da Silva COSTA[[1]](#footnote-0)\*; Jordan Rocha ARAUJO[[2]](#footnote-1); Lenivaldo Jorge Alves MARTINS[[3]](#footnote-2); Cláudia Quintino da ROCHA[[4]](#footnote-3); Antonio Carlos Romao BORGES[[5]](#footnote-4); Marilene Oliveira da Rocha BORGES[[6]](#footnote-5); Fabio de Souza MONTEIRO[[7]](#footnote-6)***

# RESUMO

**INTRODUÇÃO:** *Arrabidaea brachypoda* pertence à família Bignoniaceae e ao gênero *Arrabidaea*. As plantas desse gênero são descritas na literatura com efeito terapêutico para tratar diarreias e cólicas intestinais, diante disso decidiu-se avaliar a atividade espasmolítica dessa planta. **OBJETIVO:** Investigar uma possível atividade espasmolítica dos extratos hidroalcoólicos obtidos das folhas e flores de *A. brachypoda*. **METODOLOGIA:**  Todos os métodos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA (Processo – 23115.004440/2017-09). Após o período de estabilização, o jejuno era pré-contraído com 10-6Mde carbacol (CCh) e 75 mm de KCl e sob o componente tônico da contração sustentada (12 a 15 min) o EH-FAB E EH-FLAB eram adicionados, isoladamente, de maneira cumulativa. **RESULTADOS:** Observou-se que ambos os extratos das folhas e das flores relaxaram o jejuno de rato pré-contraído por 10-6 M de CCh (Emax = 91,9 ± 4,7 e 100%, respectivamente) ou pré-contraído por KCl (93,3 ± 3,1 e 86,8 ± 17,3%, respectivamente). Além disso, os valores de CE50 do EH-FAB e do EH-FLAB, quando o jejuno foi contraído por CCh (CE50 = 71,8 ± 3,6 e 91,2± 7,1 µg/mL, respectivamente), mostrou que não houve diferença significante e, portanto, foi equipotente; por outro lado, quando pré-contraído por KCl (CE50 = 72 ± 9,6 e 167,6 ± 6,5 µg/mL, respectivamente), apresentou diferença significante entre os valores de CE50, e portanto, o EH- FAB foi mais potente. **CONCLUSÃO:** O EH-FAB e o EH-FLAB possuem atividade espasmolítica em jejuno isolado de rato, provavelmente por bloqueio do influxo de cálcio.

**PALAVRAS-CHAVE:** Canais de cálcio; Jejuno de rato; *Arrabidaea brachypoda*;

# INTRODUÇÃO

A espécie *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau, pertencente ao gênero Arrabidaea e à família Bignoniaceae, é conhecida popularmente no Brasil como “cervejinha do campo”, “cipó-una” ou “tintureiro”. É considerada um arbusto nativo do cerrado brasileiro, que mede entre 1,0 e 2,0 m de altura, abundantemente ramificado, com folhas simples e flores róseas-roxas em inflorescências terminais (ALCERITO et al., 2002; GARCIA, 2008).

Dentre as principais atividades farmacológica descritas para *A. brachypoda* encontra-se a ação anti-inflamatória, antinociceptiva (ROCHA et al., 2011), leishmanicida para as formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* (ALVES et al*.,* 2011) e antiviral (BRANDÃO et al.*,* 2010).

As plantas do gênero *Arrabidaea* são descritas na literatura com efeito terapêutico para tratar diarreias e cólicas intestinais na medicina popular; por exemplo, *Arrabidaea chica* apresenta atividade espasmolítica (CARTAGENES et. al., 2014). Diante disso, decidiu-se investigar e comparar o efeito espasmolítico dos extratos hidroalcoólicos obtidos das folhas e flores de *A. brachypoda* sobre a musculatura lisa intestinal. Substâncias que atuam modulando a atividade da musculatura lisa possuem uma vasta aplicação em vários processos fisiopatológicos, como diarreia e cólicas intestinais (KIM et al., 2008). Desse modo, o presente estudo pode contribuir com informações relevantes à Farmacologia de *A*. *brachypoda*, assim como intensificar a descoberta de drogas potencialmente terapêuticas.

**MATERIAL E MÉTODOS**

**Material biológico**

As folhas e flores de *A. brachypoda* foram coletadas na fazenda Sant’Ana da Serra em João Pinheiro, Minas Gerais, Brasil (Localização: 17◦44’45 ”S, 46◦10’44” W). Um exemplar de comprovante (nº 17935) foi depositado no Herbário da Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. A planta foi coletada de acordo com a legislação brasileira referente à proteção da biodiversidade (SISGEN n ° A451DE4).

As folhas e flores foram secas em estufa com temperatura controlada a 60 ºC, posteriormente trituradas em moinho de facas dotado de agitação mecânica para obtenção de um pó fino (1,5 kg). A extração foi realizada por meio de percolação exaustiva usando álcool etílico 70% v/v.  Após extração a evaporação do solvente foi realizada em evaporador rotativo com pressão reduzida e temperatura máxima de 40 ºC, e posteriormente liofilizado. O extrato hidroalcoólico obtido das folhas foi denominado de EH-FAB e das Flores foi denominado de EH-FLAB.

**Triagem farmacológica**

Os ratos eram mantidos em jejum por cerca de 12 horas (dando-lhes somente água). Após esse período eram eutanasiados através da câmara de gás a CO2. O abdômen era aberto e um segmento do jejuno de aproximadamente 15 cm de comprimento era retirado e colocado em uma placa de Petri contendo solução nutritiva de Tyrode a 37°C sob aeração com oxigênio. Após a dissecação, o segmento do jejuno era seccionado em fragmentos de 1,0 cm de comprimento, suspensos individualmente em cubas de vidro e deixados em repouso por 60 minutos, durante esse período a solução nutritiva era trocada a cada 15 min. Após o período de estabilização, era induzida uma contração com 75 mM de KCl ou 10-6 M de CCh, e sob o componente tônico da contração, o EH-FAB ou o EH-FLAB era adicionado de maneira cumulativa em diferentes preparações. O relaxamento produzido pelo extrato foi expresso como a percentagem reversa da contração inicial produzida pelos agentes contráteis. Os valores de efeito máximo (Emax) e da concentração do extrato que produz 50% do seu efeito máximo (CE50) foram expressos como a média e o erro padrão da média (e.p.m.) e calculados pelo uso de regressão não linear. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA (Processo – 23115.004440/2017-09).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As cólicas intestinais e diarreias estão entre as principais afecções do trato gastrointestinal, que podem ser assintomáticas ou estarem relacionadas a sintomas que variam de toleráveis a incapacitantes (FIRMAN et al., 2000). Na busca de produtos naturais com efeito sobre a musculatura lisa do intestino, investigou-se uma possível ação espasmolítica dos extratos EH-FLAB e EH- FAB em jejuno isolado de rato.

O extrato EH-FAB (9, 27, 81, 243 e 729 µg/mL) relaxou de maneira significante e dependente de concentração, o jejuno de rato pré-contraído com 75 mM de KCl (CE50 = 72 ± 9,6 µg/mL e Emax = 93,3 ± 3,1%) ou com 10-6 M de carbacol (CE50 = 71,8 ± 3,6 µg/mL e Emax = 91,9 ± 4,7%) (Gráfico 1).

 Já o extrato EH-FLAB relaxou de maneira significante e dependente de concentração, o jejuno de rato pré-contraído com 75 mM de KCl (CE50 = 167,6 ± 6,5 µg/mL e Emax = 86,8 ± 17,3%) ou com 10-6 M de carbacol (CE50 = 91,2± 7,1 µg/mL e Emax = 100%) (Gráfico 2), e observou-se que o EH-FLAB foi mais potente em relaxar o jejuno quando pré-contraído por CCh.

 Quando comparados os valores de CE50 produzido pelos dois extratos sobre as contrações induzidas por KCl ou CCh, notou-se que houve diferença estatística entre eles e que o extrato EH–FAB foi mais potente que o EH-FLAB.

**Gráfico 1.** Efeito relaxante do EH-FAB sobre as contrações tônicas induzidas por 75 mM de KCl (●) ou 10-6 M de CCh (◻) em jejuno isolado de rato.



Fonte: Próprio autor

**Legenda**: Os símbolos e as barras verticais representam a média e o erro padrão da média, respectivamente (n = 3).

**Gráfico 2**. Efeito relaxante do EH-FLAB sobre às contrações tônicas induzidas por 75 mM de KCl (●) ou 10-6 M de CCh (◻) em jejuno isolado de rato.



Fonte: Próprio autor

**Legenda**: Os símbolos e as barras verticais representam a média e o erro padrão da média, respectivamente (n = 3), \*p < 0,05, teste “t” não pareado (diferença entre os valores de CE50).

No presente trabalho, investigou-se uma possível ação relaxante dos extratos EH-FAB ou EH-FLAB sobre às contrações induzidas por CCh, um agonista muscarínico não seletivo e resistente à ação das colinesterases e KCl, um agente despolarizante, onde observou-se que os extratos em diferentes concentrações foram capazes de relaxar as contrações induzidas por esses agentes contráteis (BRUNTON *et al.,* 2006).

Além disso, o EH-FAB se mostrou mais potente que o EH-FLAB para relaxar as respostas contráteis induzidas por CCh ou KCl. Essa diferença pode estar associada a diversos fatores como a concentrações dos constituintes químicos presentes nos dois órgãos da planta e aos métodos de processamento, que pode haver alterações na composição dessa espécie (MORAIS et al., 2009).

 Considerando que o jejuno é um órgão dependente de variação do potencial de membrana (NOUAILHETAS et al., 1985) e uma vez que o componente tônico da contração induzida por KCl ou por CCh é mantido quase que exclusivamente por influxo de cálcio através dos CaV (BOLTON, 1979; REMBOLD, 1996; BOLTON et al., 2006), levantou-se a hipótese de que os extrato podem estar agindo em um passo comum da via de sinalização desses agentes contráteis para promover seus efeitos, que pode ser, por exemplo, um bloqueio dos Canais de cálcio ativados por voltagem. Mas também, não se pode descartar a hipótese de antagonista dos receptores muscarínicos pois ambos os extratos relaxaram o jejuno pré-contraído por CCh.

 O efeito espasmolítico demonstrado para os extratos podem ser explicados pela composição fitoquímica das folhas e flores da espécie, como por exemplo pela presença de compostos fenólicos, como os flavonoides e os polifenóis (ROCHA et al., 2017; MONTEIRO et al.*,* 2020). Vários compostos fenólicos apresentam atividade espasmolítica, como flavonóides: hispidulina e apigenina (ABDALLA, 1988, CHEN; KO, 2017).

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Com os dados aqui apresentados pode-se afirmar que os objetivos propostos foram alcançados, uma vez que se presta uma grande contribuição à farmacologia do gênero *Arrabidaea*, através da demonstração que o EH-FAB e o EH-FLAB possuem atividade espasmolítica em jejuno isolado de rato, provavelmente por bloqueio do influxo de cálcio, mas não pode-se descartar um possível antagonismo dos receptores muscarínicos.

**AGRADECIMENTOS**

 Os autores agradecem a Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo financiamento da pesquisa.

**REFERÊNCIAS**

ABDALLA, S.; ABU-ZARGA, M.; AFIFI, F.; AL-KHALIL, S.; SABRI, S. Effects of hispidulin, a flavone isolated from Inula viscosa, on isolated guinea-pig smooth muscle. **General Pharmacology**, v. 19, n. 4, p. 559-563, 1988.

ALCERITO, T.; BARBO, F.E.; NEGRI, G. Foliar epicuticular wax of Arrabidaea brachypoda: flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 7, p. 677-683, 2002.

ANDRÉS-LACUEVA, Cristina et al. Phenolic compounds: chemistry and occurrence in fruits and vegetables. **Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability**, p. 53-80, 2010.

BRANDÃO, G.C.; KROON, E.G.; DOS SANTOS, J.R.; STEHMANN, J.R. LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Antiviral activity of Bignoniaceae species occurring in the State of Minas Gerais (Brazil). **Letters in Applied Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 469-476, 2010.

BRUNTON, L. L.; LAZON, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman e Gilman’s the phamacological basis of therapeutics** 11th, Ed. McGraw-Hill, 2006.

CARTAGENES, MARIA DO SOCORRO, S. et al. avaliação da atividade anti-hipertensiva do extrato de arrabidaea chica verlot em ratos espontaneamente hipertensos. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 2, 2014.

CHEN, J. L.; KO, W. C. Relaxation of isolated guinea-pig trachea by apigenin, a constituent of celery, via inhibition of phosphodiesterase. European Journal of Pharmacology, v. 811, p. 129-133, 2017.

GARCIA, F. **Estudo fitoquímico da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de Arrabidaea brachypoda (DC) Bureau – Bignoniaceae e atividades antioxidante e inibitória da enzima mieloperoxidase das substâncias isoladas**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química na Área de Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraqura, 2008.

KIM, H. R.; APPEL, S.; VETTERKIND, S.; GANGOPADHYAY, S. S.; MORGAN, K. G. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 12, n. 6a, p. 2165-2180, 2008.

MONTEIRO, F. S. et al. Hydroalcoholic extract of leaves of Arrabidaea brachypoda (DC.) Bureau present antispasmodic activity mediated through calcium influx blockage. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 41, p. 1-13, 2020.

MORAIS, LILIA APARECIDA SALGADO. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso** (ALICE). Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302,ago. 2009.

OLIVA, K. R. S. **Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com Hibiscus esculentus L. no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. – Botucatu, 2018.

PREMEDIKASYON ILACLARI. (2010). Acessado em: 12 de novembro de 2020. Disponível em: <http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Premedikasyon%20%C4%B0la%C3%A7lar%C4%B1.pdf>

ROCHA, C. Q., DE-FARIA, F. M., MARCOURT, L., EBRAHIMI, S. N., KITANO, B. T., GHILARDI, A. F., WOLFENDER, J.-L. (2017). Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of Arrabidaea brachypoda: Evidences of cytoprotection and isolation of unusual glycosylated polyphenols. Phytochemistry, 135, 93–105. https://doi:10.1016/**j.phytochem**.2016.12.002

ROCHA, C.Q.; VILELA, F.C.; CAVALCANTE, G.P.; SANTA-CECÍLIA, F.V.; SANTOS-E-SILVA, L.; SANTOS, M.H.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of Arrabidaea brachypoda (DC.) Bureau roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 396-401, 2011.

1. \* autor correspondente; Universidade Federal do Maranhão; jhonecosta001@gmail.com; [↑](#footnote-ref-0)
2. Universidade Federal do Maranhão; [↑](#footnote-ref-1)
3. Universidade Federal do Maranhão; [↑](#footnote-ref-2)
4. Universidade Federal do Maranhão; claudiarocha3@yahoo.com.br; [↑](#footnote-ref-3)
5. Universidade Federal do Maranhão; romao.antonio@ufma.br;

6 Universidade Federal do Maranhão; morborges@yahoo.com.br

7 Universidade Federal do Maranhão; fabiodesouza8@gmail.com [↑](#footnote-ref-4)
6. [↑](#footnote-ref-5)
7. [↑](#footnote-ref-6)