



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG**

Coordenadoria Geral de Pesquisa – CGP

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga

Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 215-5564 – Fone/Fax (86) 215-5560

E-mail: pesquisa@ufpi.br; pesquisa@ufpi.edu.br

**EFEITO VASORRELAXANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE
DE *Zanthoxylum rhoifolium* LAM (RUTACEAE) EM ANÉIS DE ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR ISOLADA DE RATOS**

Edson Santos Ferreira Filho (bolsista do PIBIC/UFPI), Nelma Neylanne Pinho Muniz Oliveira (colaboradora, NPPM/CCS/UFPI), José Couras da Silva Filho (colaborador, NPPM/CCS/UFPI), Daniel Dias Rufino Arcanjo (colaborador, Depto. Biofísica e Fisiologia/CCS/UFPI), Mariana Helena Chaves (colaboradora, Depto. Química/CCN/UFPI), Rita de Cássia Meneses Oliveira (co-orientadora, Depto. Biofísica e Fisiologia /CCS/UFPI), Aldeídia Pereira de Oliveira (orientadora, UFPI-CAFS)

INTRODUÇÃO.

Zanthoxylum rhoifolium Lam. (Rutaceae), uma árvore originária do Brasil, com distribuição na mata pluvial e atlântica, é popularmente conhecida como “mamica-de-cadela” ou “mamica-de-porca”¹ e utilizada como antiinflamatória, antimicrobiana, anticancerígena e antimalárica². Também se sabe que a casca do caule de espécies do mesmo gênero é utilizada na medicina tradicional, na forma de chás ou infusões, como antiespasmódico, relaxante muscular, analgésico, diurético, anti-hipertensivo, antiagregante plaquetário, antiparasitário e antiinflamatório³. Além disso, espécies do gênero *Zanthoxylum* são popularmente usadas no tratamento de doenças cardiovasculares⁴. Estudos mostram propriedades antitumorais e imunomoduladoras para o óleo essencial de *Zanthoxylum rhoifolium*². Este trabalho objetivou investigar o efeito vasodilatador induzido pelo extrato etanólico da casca do caule de *Zanthoxylum rhoifolium* (EEtOH-ZR) em anéis de artéria mesentérica de rato.

METODOLOGIA.

Todos os protocolos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI (Protocolo nº 029/09). Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*), pesando entre 250-300 gramas, provenientes do Biotério do NPPM/UFPI, mantidos sob condições controle de temperatura (24 ± 2° C) e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação e água. Após eutanásia, a artéria mesentérica superior foi retirada e seccionada em anéis (1 – 2 mm) livres de tecido conectivo e adiposo. Daí, foram mantidos em 10 mL de solução de Tyrode (pH 7,4, temperatura 37 °C), aerados por carbogênio (95% O₂ + 5% CO₂), suspensos em haste de aço inoxidável e linha de algodão e fixadas a um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição (AECAD 1604, AQCAD 1.4.6, AVS Projetos, SP) para o registro das tensões isométricas. Cada anel foi submetido a uma tensão constante de 0,75 gf por 60 minutos, trocando-se as soluções nutritivas a cada 15 minutos para evitar interferência de metabólitos⁵. Verificou-se a presença do endotélio por meio do relaxamento após a adição de acetilcolina (10 µM), sobre a pré-contracção com fenilefrina (10 µM); para um relaxamento superior a 70% foram considerados anéis com endotélio; relaxamento inferior a 10%, sem endotélio⁶. Depois disso, os anéis foram pré-contráidos com fenilefrina (10 µM) ou

KCl (80 mM). Na fase tônica da contração, foram administradas, de maneira cumulativa, concentrações crescentes (0,1 – 750 µg/mL) de EEtOH-ZR para obter curvas concentração-resposta. Para avaliar a resposta contrátil da fenilefrina na presença de concentrações isoladas do extrato, obteve-se uma primeira curva controle com a fenilefrina (10^{-9} – 10^{-5} M); em seguida, as preparações foram lavadas e, ao retorno dos valores do tônus basal, incubaram-se, por 30 minutos, separadamente, concentrações de EEtOH-ZR (27, 81, 243 e 500 µg/mL) e, depois, as preparações foram novamente submetidas a uma adição cumulativa de fenilefrina (10^{-9} – 10^{-5} M) para obtenção de uma segunda curva concentração-resposta. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. Utilizou-se teste “t” de Student para avaliar a significância entre as médias. Os valores de CE_{50} – concentração que promove 50% da resposta máxima – foram obtidos através de regressões não-lineares das curvas traçadas a partir dos valores percentuais das respostas obtidas pelas substâncias testadas para os experimentos *in vitro*. As diferenças entre os valores foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$. Em todos estes procedimentos, foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism 5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

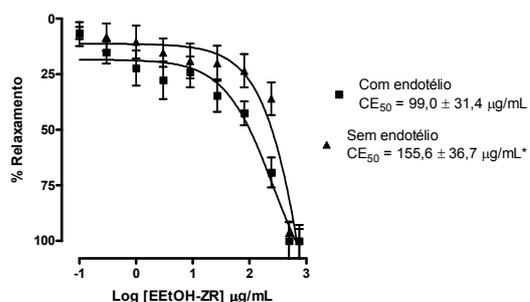


FIGURA 1 - Curvas concentração-resposta do efeito vasorrelaxante de EEtOH-ZR em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos normotensos na presença (■) e na ausência (▲) de endotélio vascular. Os valores foram expressos como média ± e.p.m de 6 experimentos. * $p > 0,05$ versus com endotélio.

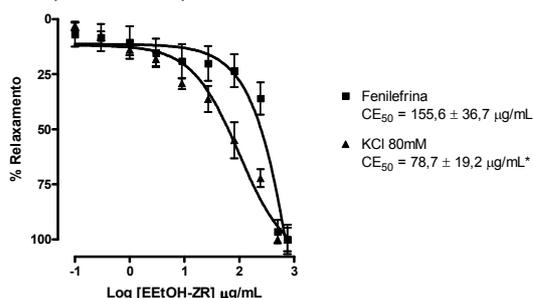


FIGURA 2- Curvas concentração-resposta do efeito vasorrelaxante de EEtOH-ZR em anéis sem endotélio vascular obtidos de artéria mesentérica superior isolada de ratos normotensos após contração por fenilefrina (■) e KCl 80 mM (▲). Os valores foram expressos como média ± e.p.m de 6 experimentos. * $p > 0,05$ versus fenilefrina.

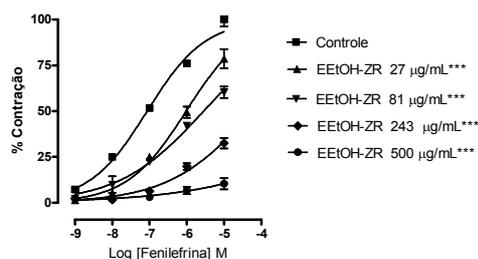


FIGURA 3 - Curvas concentração-resposta para fenilefrina na presença de concentrações isoladas do EEtOH-ZR: Controle (■); EEtOH-ZR 27µg/mL (▲); EEtOH-ZR 81µg/mL (▼); EEtOH-ZR 243µg/mL (◆); EEtOH-ZR 500 µg/mL (●) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos sem endotélio vascular. Os símbolos e barras verticais representam a média ± e.p.m de 5 experimentos, respectivamente. *** $p < 0,05$ versus controle.

EEtOH-ZR (µg/mL)	$E_{máx}$ (%)
Controle	100 ± 0,0
27	78,5 ± 5,2***
81	60,2 ± 3,2***
243	32,5 ± 2,9***
500	10,4 ± 3,0***

TABELA 1 - Valores de efeito máximo ($E_{máx}$) das contrações induzidas pela adição cumulativa de fenilefrina (10^{-9} – 10^{-5} M) na presença de concentrações isoladas do EEtOH-ZR (µg/mL).

A artéria mesentérica superior é considerada um vaso de pequeno calibre, oferecendo significativa resistência ao fluxo sanguíneo e estando amplamente implicado na regulação da pressão capilar⁷, contribuindo para a regulação da circulação sistêmica pela variação da resistência vascular na circulação⁸. Para verificar o efeito vasorrelaxante do EEtOH-ZR sobre a musculatura lisa vascular,

utilizou-se fenilefrina, um agonista α_1 -adrenérgico. Nessas condições, EEtOH-ZR induziu vasodilatação de modo dependente de concentração e independente do endotélio vascular, sugerindo que provavelmente não há participação dos fatores relaxantes derivados do endotélio (FRDE) nessa resposta (FIGURA 01). O aumento da concentração extracelular de K^+ induz contração no músculo liso através de uma despolarização de membrana com subsequente ativação de canais para cálcio sensíveis a voltagem (Ca_vL), levando ao influxo de cálcio além da liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático^{9,10}. Em preparações pré-contraídas com KCl 80 mM, EEtOH-ZR promove vasodilatação de maneira dependente de concentração (FIGURA 02). Tais resultados permitem sugerir que EEtOH-ZR induz vasorrelaxamento inespecífico, sendo provável a ação do EEtOH-ZR sobre o influxo de cálcio através da membrana celular. Em experimentos para verificação da influência do EEtOH-ZR sobre as contrações induzidas por fenilefrina, observou-se que o mesmo foi capaz de inibir de maneira dependente de concentração as contrações induzidas por fenilefrina (FIGURA 03, TABELA 01). Estes resultados sugerem que o EEtOH-ZR de algum modo influencia na diminuição da resposta contrátil induzida pela fenilefrina, provavelmente, agindo sobre a liberação de cálcio dos estoques intracelulares, inibindo-a, ou inibindo o influxo de cálcio através da membrana.

CONCLUSÃO.

EEtOH-ZR possui efeito vasodilatador dependente de concentração, independente do endotélio vascular, envolvendo provavelmente o bloqueio do influxo de cálcio através da membrana plasmática e da liberação de cálcio dos estoques intracelulares sensíveis a fenilefrina.

APOIO. CNPq. CAPES. FAPESP. UFPI.

REFERÊNCIAS

1. MOREIRA, F. **Plantas que curam: Cuide da sua saúde através da natureza**. São Paulo: Hermus, 5. ed., 1996.
2. SILVA, S. L.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from **Zanthoxylum rhoifolium** Lam leaves. **European Journal of Pharmacology**, 576, 180–188, 2007.
3. SILVA, C. V.; DETONI, C. B.; VELOZO, E. S. Alcalóides e outros metabólitos do caule e frutos de **Zanthoxylum tingoassuiba** A. St. Hil. **Química Nova**, São Paulo, Vol. 31, No. 8, 2008.
4. VILLALBA, M. A.; CARMO, M. I.; LEITE, M. N.; SOUSA, O. V. Atividades farmacológicas dos extratos de **Zanthoxylum chiloperone** (Rutaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, Vol. 17, No. 2, 2007.
5. ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Calcium content and force of drug-induced contractions of arterial muscle during recovery in vitro. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 135, 739–744, 1970.
6. FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, 288, 373-376, 1980.
7. MULVANY, M. J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **Physiological Reviews**, 70: 921-951, 1990.
8. ADARAMOYE, O. A.; ANJOS, R. M.; ALMEIDA, M. M.; VERAS, R. C.; SILVIA, D. F.; OLIVEIRA, F. A.; CAVALCANTE, K. V.; ARAÚJO, I. G.; OLIVEIRA, A. P.; MEDEIROS, I. A. Hypotensive and endothelium-independent vasorelaxant effects of methanolic extract from **Curcuma longa** L. in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 124, 457–462, 2009.
9. GURNEY, A. M. Mechanisms of drugs-induced vasodilatation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 46: 242-251, 1994.
10. YOSHIHIMA, N.; ICHIARA, K.; YOSHIDA, R.; ABIKO, Y. Positive inotropic and chronotropic effects of (-)-cis-diltiazem in rat isolated atria. **British Journal of Pharmacology**. 105: 696-702, 1992.

PALAVRAS-CHAVE. Vasodilatação. Artéria mesentérica. *Zanthoxylum rhoifolium*.