



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BACHARELADO EM FARMÁCIA**

TIAGO MARINHO BARBALHO

**AVALIAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Spondias mombin* L. SOBRE
A CONTRATILIDADE DE ANÉIS DE AORTA ISOLADAS DE RATO**

CAMPINA GRANDE – PB

2024

TIAGO MARINHO BARBALHO

**AVALIAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Spondias mombin* L. SOBRE
A CONTRATILIDADE DE ANÉIS DE AORTA ISOLADAS DE RATO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dra. Vanda Lúcia dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Francisco José Batista de Lima Júnior

CAMPINA GRANDE – PB

2024

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que, na reprodução, figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

B229a Barbalho, Tiago Marinho.

Avaliação de extrato Hidroalcoólico de *Spondias mombin* L. sobre a contratilidade de anéis de aorta isoladas de rato [manuscrito] / Tiago Marinho Barbalho. - 2024.
39 f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)
- Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Prof. Dra. Vanda Lucia dos Santos, Departamento de Farmácia - CCBS".

"Coorientação: Prof. Dr. Francisco José Batista de Lima Júnior, UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARA".

1. Músculo liso. 2. Fitoterapia. 3. Adrenérgicos. 4. Farmacognosia. I. Título

21. ed. CDD 615.321

TIAGO MARINHO BARBALHO

**AVALIAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Spondias mombin* L. SOBRE
A CONTRATILIDADE DE ANÉIS DE AORTA ISOLADAS DE RATO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmacologia.

Aprovada em: 14/11/2024.

BANCA EXAMINADORA

Vanda Lucia dos Santos
Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Maria Elaine Cristina Araruna
Profa. Dra. Maria Elaine Cristina Araruna
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Katharina Rodrigues de Lima Porto Ramos
Profa. Dra. Katharina Rodrigues de Lima Porto Ramos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A Deus e Nossa Senhora de Guadalupe,
por todas as bênçãos e graças, aos meus
pais e irmão por todo apoio e força dada
durante esses anos de luta, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

“Mais um capítulo do meu livro (Como eu sempre digo: mais uma estação de trem a chegar), concluído!”

Essas são as palavras que ressoam na melodia do meu coração, como cantado em “Coco” na música "Recuérdame". Essa canção me emocionou profundamente no cinema, trazendo à tona memórias da infância ao lado de minha “abuela”, quando caminhávamos pelas trilhas do sítio com nosso querido “perro”. Expresso-me em espanhol porque é o idioma da minha herança latina, da conexão que me une não apenas à minha avó, mas também à Nossa Senhora de Guadalupe, minha Virgem Santíssima. Sinto que minha “abuela” ainda percorre esses caminhos, agora junto ao meu avô, meus tios e meus outros avós. Nessa jornada até a terra sagrada, o mundo dos “muertos”, é nosso amado lobinho quem os acompanha – enquanto aqui, Mimi permanece cuidando de nós. E tenho fé de que minha Virgem Santíssima, Nossa Senhora de Guadalupe, está lá com eles, protegendo-os e orando por todos nós.

Assim, como diz a canção: “não deixe essa canção te embalar, no teu coração eu sempre vou estar. Lembre-se de mim, mantenha vivo nosso amor até que eu possa lhe abraçar!”

Como é dito nos filmes da Marvel: "te amo mil milhões", uma frase que resume o meu amor pelos meus pais, que sempre me apoiam. Esses mesmos pais que, na calada da noite, ao descobrirem que tinham sido demitidos, com os olhos lacrimejando, nos observavam, a mim e o meu irmão, sem saber o que o futuro nos reservava. Mas, com o coração cheio de amor, buscamos forças para continuar, mesmo diante da incerteza. Essas lágrimas de medo e preocupação foram cristais que iluminaram nossas vidas ao serem tocadas pela luz do Espírito Santo.

Uma coisa é verdadeira: com “grandes poderes vêm grandes responsabilidades” e foi assim que eles superaram tudo. Eu e meu irmão somos quem somos hoje graças a eles. Tivemos a graça de receber uma educação de qualidade e saúde de primeira desde sempre, e agradecemos profundamente por esses esforços diários.

Parece que faz mil anos... Conquistei muito, apesar dos obstáculos e das pessoas que tentaram desviar meu foco. Hoje, vejo que cada experiência serviu para me moldar e me preparar, não para um futuro distante, mas para viver o presente. Eu mudei, e não há como voltar atrás nem me prender a arrependimentos;

só posso seguir em frente e dar o meu melhor. Às vezes, o melhor que posso fazer é recomeçar. Perdi muitas pessoas queridas, mas também ganhei outras igualmente maravilhosas.

Não é necessário mostrar essas pessoas, mas sim reconhecer que aquele Tiago, que andava pelo sítio cheio de planos para o futuro, é uma criatura rara e única. Nunca houve alguém exatamente como eu em toda a história da humanidade, entre os mais de 100 bilhões que já passaram pela Terra. Minha existência é fruto de incontáveis fatores e acasos, e, custe o que custar, realizarei esses sonhos, sempre avançando com determinação. Quem diria que um dia eu estaria aqui, com toda essa bagagem e tantas malas ainda esperando para serem preenchidas?

Eu não seria quem sou sem as pessoas ao meu redor. Quero agradecer profundamente aos meus familiares, aos tios, primos e, em especial, aos meus primos-irmãos: Iremar Filho, Maria Salomé (Bibizinha), Luiza (Izinha), Gustavinho, Maria Eduarda, Anna Luiza e Igor, que sempre estiveram comigo, nos bons momentos e nas travessuras. Um agradecimento especial aos meus padrinhos, João Maria e Fátima, que sempre me apoiaram em tudo, e aos meus tios Arlindo, Vilani, Francisca (Buita), Paulo e Beatriz, que me deram a força e o incentivo para seguir o curso de farmácia.

Agradeço também ao meu irmãozinho por tudo. Você é muito especial para mim, e, embora não caiba aqui o quanto lhe admiro, você sabe bem disso, não é?

Jamais posso esquecer dos grandes presentes que a vida me deu: meus amigos. Bruno, Lívia, Clara, Samuel, Thaissa, Luís Felipe, Elizandro, Barbara, Wallyson, Maria Aparecida, Carlos Wesllen, Vitória, Michely, Laura, Gustavo Ramalho, Gustavo Amaral, Guilherme Vitor, Alana e a todos os amigos que estiveram nessa trajetória (são tantos que não cabem todos aqui), minha gratidão é imensa. Agradeço, em especial, aos irmãos que a universidade me deu: Ewerton Matheus, Kleber, Gabriel, Luciclecia (Lu), Maria Beatriz (Bia), Camila e Bárbara. Vocês são meu grupo, meus Vingadores, minha família. Mesmo chateados com minha saída da FIP sem aviso prévio, compreenderam e me apoiaram.

Hoje, vejo até onde cheguei: sou blogueiro com alcance nacional e internacional, reconhecido por grandes nomes da farmácia que tanto admiro e, agora, farmacêutico da UEPB. Nem acredito! Nessa jornada, conheci farmacêuticos excepcionais e instituições renomadas, como a USP e a UNICAMP, onde fiz amizades para a vida toda.

"Tesouros não são apenas ouro e prata, amigos!"

Agradeço também à UEPB, ao seu corpo docente e a todos os funcionários por me prepararem e moldarem para a vida profissional. Agradeço especial aos meus orientadores, Dra. Vanda Lúcia e Dr. Franzé Batista, por toda personalidade, dedicação e competência ao longo deste projeto. A orientação de vocês foi essencial, não apenas para a conclusão deste trabalho, mas também para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Sou grato por acreditarem no meu potencial, pelas habilidades valiosas e por me guiarem com sabedoria e incentivo, mesmo nos momentos mais desafiadores. Também quero agradecer profundamente a Yasmim por tudo. Sua experiência e conhecimento foram fundamentais para que eu pudesse transformar ideias em realizações, e sou imensamente grato por ter aprendido com alguém tão dedicado e inspiradora como você. Agradeço a todos do Labenfarm por me acolherem e por todo o ensinamento.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos aos membros da banca examinadora, Dra. Elaine Araruna e Dra. Katharina Rodrigues, por aceitarem o convite para avaliar este trabalho e pelas valiosas contribuições e sugestões que enriqueceram ainda mais este projeto. Por fim, não poderia deixar de agradecer todo o apoio e colaboração dos laboratórios LDCPF, LABDEM e CERTBIO, que auxiliaram de alguma forma no desenvolvimento deste projeto.

Gostaria também de expressar minha profunda gratidão aos professores Dr. Valmir Gomes, Dr. Cidoval Moraes, Dra. Alaine Maria dos Santos e Kaltz Victor Souza, não apenas pelas orientações e dicas, mas também pelo apoio, amizade e confiança que desenvolvemos.

“Tenha plena certeza, meu filho predileto, de que eu o recompensarei por seu cuidado, seu serviço, seu cansaço que você dedicou por amor a mim. Coragem, meu filhinho!”

Nossa Senhora de Guadalupe

RESUMO

A *Spondias mombin* (cajazeira) é alvo de pesquisas por apresentar efeitos sobre os sistemas nervoso e cardiovascular, devido à presença de quercetina, ácido caféico e kaempferol. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é investigar o efeito do extrato hidroalcolólico de *Spondias mombin* sobre a contratilidade de anéis da aorta isolados de ratos. Para tanto, os anéis foram montados em banho para órgão, isolados sob tensão basal de 1 g, imersos em solução fisiológica de Tyrode (pH 7,4), mantidos a 37°C, sob constante aeração com ar ambiente. Os protocolos, os gráficos e a análise estatística foram realizados no *GraphPad Prism 5.0*, com significância de 5%. Ao serem estimuladas com aumento da concentração extracelular de K⁺, os segmentos contraíram 0,791 ± 0,132 g (n=8). Posteriormente, com solução restaurada à condição inicial, houve uma pré-contração com norepinefrina 3nM, seguida da adição do agonista muscarínico carbamilcolina 1µM, que reverteu a pré-contração de norepinefrina em 95,56 ± 1,93% (n=8), demonstrando preservação do endotélio. Por fim, o extrato de *S. mombin* foi adicionado em concentrações crescentes (100 a 1000 µg/ml) sobre uma pré-contração com norepinefrina 10 nM. Aparentemente, o extrato foi capaz de causar um efeito dual em que concentrações mais baixas aumentaram a contração observada e concentrações mais elevadas induziram um relaxamento, no entanto apenas a concentração de 1000 µg/ml foi capaz de induzir um efeito significativo com relaxamento para 62,9 ± 11,59%. Portanto, o extrato de *S. mombin* possui atividade contrátil de segmentos de aorta, entretanto, outros estudos que esclareçam o mecanismo responsável são necessários.

Palavras-Chave: músculo liso; fitoterapia; adrenérgicos.

ABSTRACT

Spondias mombin (yellow mombin) is the subject of research due to its effects on the nervous and cardiovascular systems, owing to the presence of quercetin, caffeic acid, and kaempferol. Thus, the objective of this study is to investigate the effect of the hydroalcoholic extract of *Spondias mombin* on the contractility of isolated aortic rings from rats. For this purpose, the rings were mounted in an organ bath, isolated under a basal tension of 1 g, immersed in Tyrode's physiological solution (pH 7.4), maintained at 37°C, and constantly aerated with ambient air. The protocols, graphs, and statistical analysis were performed using GraphPad Prism 5.0, with a significance level of 5%. When stimulated with an increase in extracellular K⁺ concentration, the segments contracted 0.791 ± 0.132 g (n=8). Subsequently, after restoring the solution to the initial condition, a pre-contraction with norepinephrine 3 nM was induced, followed by the addition of the muscarinic agonist carbachol 1 μ M, which reversed the norepinephrine pre-contraction by $95.56 \pm 1.93\%$ (n=8), demonstrating endothelial preservation. Finally, the *S. mombin* extract was added in increasing concentrations (100 to 1000 μ g/ml) to a pre-contraction with norepinephrine 10 nM. Apparently, the extract induced a dual effect, with lower concentrations enhancing the observed contraction and higher concentrations inducing relaxation. However, only the 1000 μ g/ml concentration produced a significant effect, resulting in a relaxation of $62.9 \pm 11.59\%$. Therefore, the *S. mombin* extract exhibits contractile activity on aortic segments; however, further studies are needed to elucidate the underlying mechanism.

Keywords: smooth muscle; herbal medicine; adrenergic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Função de reservatório de pressão das artérias: estiramento na sístole e retração na diástole	15
Figura 2 – Contração e relaxamento do músculo liso: diferenças na origem do Ca^{2+} e mecanismos de ativação e desfosforilação da miosina.....	16
Figura 3 – Mecanismo molecular de vasodilatação: papel do NO e outras moléculas no relaxamento do músculo liso vascular.....	18
Figura 4 – Registro representativo do efeito do CCh na contração sustentada induzida por NE em artérias isoladas de ratos	30
Figura 5 – Registro representativo do efeito dual do ESM em contração induzida por NE em artéria isolada de rato	30
Figura 6 – Efeito do ESM na contração induzida por norepinefrina em artérias isoladas de rato	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACAM	Herbário Manuel de Arruda Câmara
CAVI	Índice Vascular Cardio-Tornozelo
CCh	Carbacol
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cGMP	Guanosina Monofosfato Cíclico
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DAG	Diacilglicerol
ESM	Extrato de <i>Spondias mombin</i>
ET	Endotelinas
eNOS	Óxido Nítrico Sintase Endotelial
GC	Enzima Guanilato Ciclase
GTP	Guanosina Trifosfato
IP3	Inositol Trifosfato
KV	Canais de Potássio Dependentes de Voltagem
MLCK	Miosina Quinase de Cadeia Leve
NA	Noradrenalina
NE	Norepinefrina
NO	Óxido Nítrico
NOS	Isoformas de Enzimas Sintetizadoras de NO
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIP2	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PLC	Fosfolipase C
PKG	Proteína Cinase G
RS	Retículo Sarcoplasmático
ROCs	Canais Regulados por Receptores
SOCs	Canais Controlados pelo Estoque de Cálcio
VSMCs	Relaxamento das Células Musculares Lisas Vasculares
VOCs	Canais de Cálcio Ativados por Voltagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Sistema cardiovascular	14
2.2	Músculo liso Vascular	15
2.3	Endotélio	17
2.4	Doenças cardiovasculares	19
2.5	Plantas medicinais	20
3	OBJETIVOS	23
3.1	Geral.....	23
3.2	Específicos.....	23
4	METODOLOGIA	24
4.1	Tipo de estudo.....	24
4.2	Local de realização do estudo.....	24
4.3	Material botânico.....	24
4.4	Animais.....	24
4.5	Soluções e drogas.....	25
4.6	Contratilidade <i>in vitro</i>	25
4.7	Delineamento experimental.....	28
4.8	Análise estatística.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
6	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	33
	ANEXO A – CERTIFICADO DA CONCEA.....	37

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais pela humanidade possui registros que datam desde o período pré-histórico, sendo uma prática importante em diferentes civilizações ao longo da história. No Brasil, marcos legais mais recentes incluem o Decreto nº 5.813 de 2006, que aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, e a Portaria nº 2.960 de 2008, responsável pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Cherobin *et al.*, 2022).

Nesse contexto, faz-se necessária a pesquisa com espécies vegetais com potencial terapêutico, por exemplo, *Spondias mombin* L. também popularmente conhecida como cajazeira ou taperebá. Pertencente à família *anacardiaceae*, é uma árvore típica de regiões tropicais que pode ultrapassar os 20 metros de altura e gera pequenos frutos de 3 a 4 cm de comprimento e 2,5 cm de largura que se tornam amarelo-dourados quando maduros. Esta árvore frutífera é amplamente distribuída em florestas tropicais de vários países, por exemplo, Brasil, Bolívia, Venezuela, Nigéria e Costa do Marfim (Ogunro *et al.*, 2023).

S. mombin é amplamente utilizada com finalidade medicinal para diversas doenças ou condições e quase todas as partes da árvore, desde os frutos, folhas, sementes, casca do caule, até mesmo flores, têm propriedades específicas atribuídas a elas. Dentre os usos etnofarmacológicos, pode-se citar o tratamento de diferentes quadros infecciosos., febre, tosse, dor de garganta, problemas gástricos, artrite, reumatismo, dores musculares, lesões e inflamações, na melhoria da memória e neuroproteção (Ogunro *et al.*, 2023).

Por fim, é importante destacar que o uso tradicional de *S. mombin* em quadros de prejuízo na memória é atribuído à inibição da acetilcolinesterase, um efeito que também já foi demonstrado com extrato metanólico de folhas dessa espécie vegetal. Contudo, também é válido lembrar que acetilcolinesterase, bem como butirilcolinesterase, são enzimas de ampla distribuição e que regulam diferentes respostas colinérgicas no corpo (Elufioye *et al.*, 2017).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

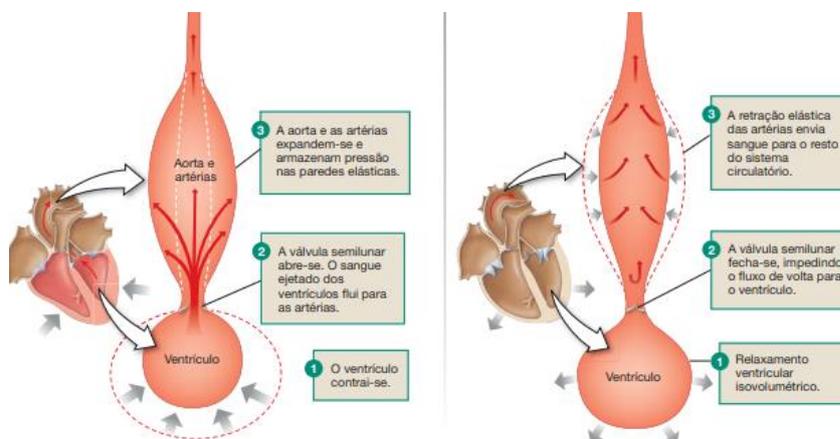
2.1 Sistema cardiovascular

O sistema circulatório ou cardiovascular consiste em uma rede de vasos responsáveis pela circulação de sangue no corpo. No centro dessa rede está o coração, que funciona como uma bomba, gerando a pressão necessária para o papel do sangue em transportar oxigênio, nutrientes, água, hormônios e dióxido de carbono. Os vasos sanguíneos conectados ao coração dividem-se em artérias, que levam sangue do coração para os tecidos, e veias, que trazem o sangue de volta ao coração. Dessa forma, o sistema cardiovascular exerce papel essencial para a manutenção das funções vitais, garantindo o fornecimento de oxigênio e a remoção de dióxido de carbono (Hansen, 2022; Sobotta, 2012).

A aorta e as artérias pulmonares, classificadas como vasos de grande calibre com uma camada média proeminente na parede arterial, são rígidas e elásticas. Essas artérias são compostas por células finas, facilitando a troca de gases, e são classificadas como epitélio escamoso simples, também denominado endotélio. As artérias possuem uma camada robusta de músculo liso, acompanhada por uma grande quantidade de tecido conectivo fibroso e elástico (Silverthorn, 2017)

Devido à rigidez do tecido, é necessária uma quantidade específica de energia para expandir a parede de uma artéria. No entanto, as fibras musculares, ao serem esticadas, fornecem essa energia, que é liberada durante a retração. Assim, as artérias se expandem para acomodar o sangue após a pressão sistólica, gerada pelo fluxo sanguíneo na saída dos ventrículos. Em seguida, as paredes das artérias se retraem, impulsionando o sangue, como ilustrado na Figura 1 (Silverthorn, 2017; Pawlina; Ross, 2018).

Figura 1 - Função de Reservatório de Pressão das Artérias: Estiramento na Sístole e Retração na Diástole.



Fonte: Silverthorn (2017).

2.2 Músculo liso vascular

O tecido muscular liso está distribuído por diversos sistemas do corpo humano, particularmente associado aos vasos sanguíneos. Por estarem presentes em diferentes órgãos, suas células podem ser unitárias ou multiunitárias. O músculo liso unitário, ou visceral, é encontrado principalmente em órgãos ocos, onde está mais distante do endotélio vascular e de outros elementos. Nesse contexto, desempenha funções como a propulsão de conteúdos e a regulação da pressão.

Neste tipo de tecido, as células são conectadas por junções comunicantes (gap junctions), que permitem a rápida transmissão de sinais elétricos para várias células simultaneamente. Como resultado, ocorre uma contração uniforme e coordenada, que funciona de maneira integrada, como se fosse um único sistema (Curi; Araújo Filho, 2009).

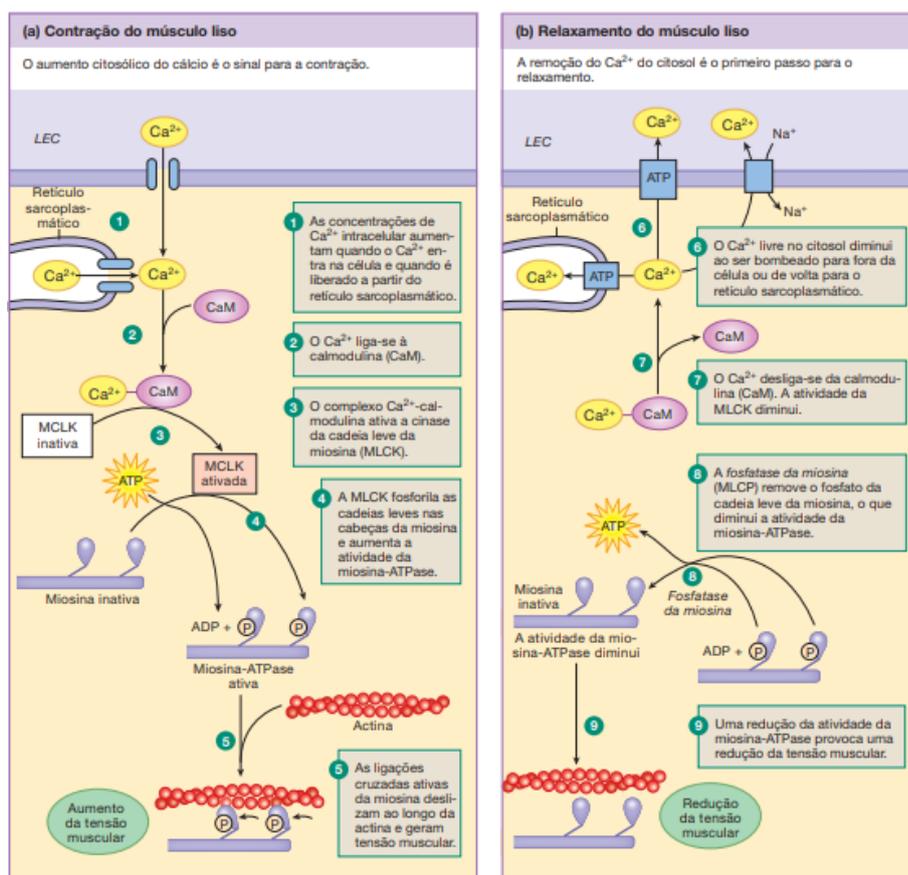
A contração do músculo liso é ativada pelo aumento de cálcio (Ca^{2+}) nas células, sendo o íon essencial para regular a atividade celular. Diferentes substâncias e processos influenciam essas concentrações. Nas células musculares lisas vasculares, o aumento de Ca^{2+} leva à contração, enquanto sua redução provoca o relaxamento (Rang, 2004; Akata, 2007).

A noradrenalina (NA), um neurotransmissor agonista adrenérgico, é liberada de forma difusa pela sinapse autonômica a partir de múltiplas varicosidades ao longo do axônio pós-ganglionar, permitindo que os neurônios afetem uma grande área do tecido-alvo. Ao se ligar aos receptores α 1-adrenérgicos, a noradrenalina

desencadeia uma cascata de sinalização que começa com a ativação de uma proteína G associada aos receptores, a qual, por sua vez, ativa a fosfolipase C (PLC), uma enzima que catalisa a conversão do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP₂) em dois mensageiros intracelulares: inositol trifosfato (IP₃) e diacilglicerol (DAG).

O IP₃ se liga a receptores específicos no retículo endoplasmático (RE), organela responsável pelo armazenamento de cálcio. O cálcio liberado se liga à calmodulina, formando um complexo que ativa a enzima cinase de cadeia leve de miosina (MLCK). A MLCK fosforila as cadeias leves de miosina, permitindo a interação da miosina com a actina e resultando na contração das células musculares lisas, como ilustrado na Figura 2 (Goodman; Gilman, 2017; Hoffman, 2002).

Figura 2 - Contração e relaxamento do músculo liso: diferenças na origem do Ca²⁺ e mecanismos de ativação e desfosforilação da miosina.



Fonte: Silverthorn (2017).

Durante o relaxamento do músculo liso ocorrem mudanças nos mecanismos de transporte de cálcio e sódio, assim como na eficiência da enzima cálcio-ATPase, resultando na remoção do cálcio do citosol. Nesse processo, a enzima miosina fosfatase de cadeia leve entra em ação, desfosforilando a miosina, ou seja,

removendo um grupo fosfato, reduzindo a interação entre actina e miosina, gerando uma menor atividade de ATPase. Com isso, o processo de contração torna-se inibido, favorecendo o relaxamento muscular (Curi; Araújo Filho, 2009).

2.3 Endotélio

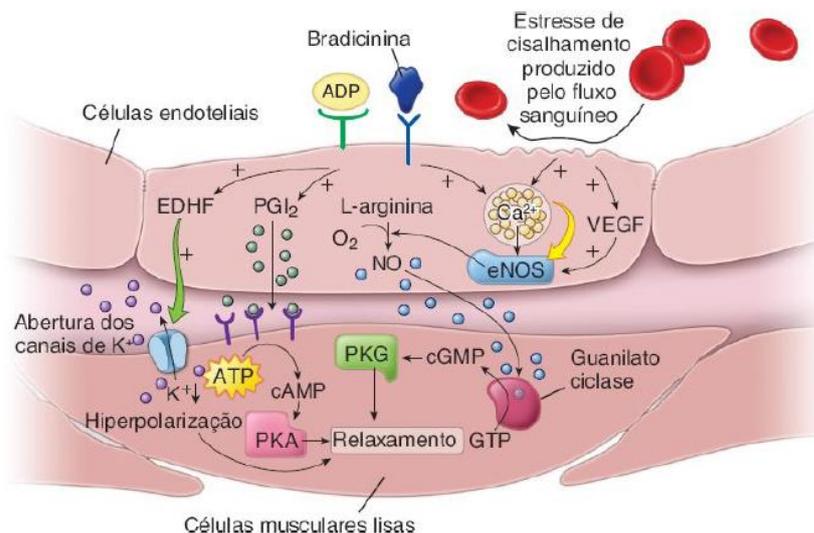
Durante muito tempo, acreditava-se que o endotélio atuava apenas como uma barreira entre o sangue e a musculatura lisa dos vasos. No entanto, estudos com artérias de coelhos sugeriram que o endotélio desempenha um papel importante na vasodilatação. Esses estudos demonstraram que o relaxamento da musculatura lisa, dependente do endotélio, poderia ser induzido pelo neurotransmissor acetilcolina. Além disso, foi revelado que o endotélio está envolvido tanto na vasodilatação quanto na vasoconstrição (Versari *et al.*, 2009; Ruviaro *et al.*, 2020).

O óxido nítrico (NO) participa de diversas funções fisiológicas, incluindo o relaxamento do músculo liso, que ocorre devido à ativação da guanilil ciclase solúvel. Esse efeito é resultado das isoformas das enzimas sintetizadoras de NO (NOS I, II e III), codificadas por genes diferentes e classificadas em duas famílias: NOS constitutiva (NOS I e NOS III) e NOS induzível (NOS II). As NOS constitutivas, encontradas em células endoteliais (NOS III ou eNOS), são ativadas pelo complexo Ca^{2+} /calmodulina e produzem pequenas quantidades de NO por períodos curtos, com funções reguladoras do sistema cardiovascular (Moncada; Palmer; Higgs, 1991; Knowles; Moncada, 1994).

O carbacol (CCh), um agente colinérgico que imita o efeito da acetilcolina (ACh), possui maior resistência à degradação por colinesterases. Ao se ligar aos receptores muscarínicos do tipo M3, presentes nas células endoteliais, o CCh ativa esses receptores e desencadeia uma cascata de sinalização que culmina na ativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) (Goodman; Gilman, 2017)

A eNOS catalisa a conversão de L-arginina em NO, que se difunde para as células da musculatura lisa dos vasos, ativando a guanilato ciclase. Essa enzima converte GTP em GMP cíclico (cGMP), que promove o relaxamento muscular por diversos mecanismos: aumento da atividade das bombas de cálcio, redução da ativação da MLCK e diminuição da sensibilidade da maquinaria contrátil ao cálcio, mediada pela proteína cinase G (PKG), Figura 3 (Hoffman, 2002).

Figura 3 - Mecanismo molecular de vasodilatação: papel do NO e outras moléculas no relaxamento do músculo liso vascular.



Fonte: Ross (2018)

As endotelinas, peptídeos de 21 aminoácidos produzidos pelas células endoteliais, são potentes vasoconstritores, sendo ET-1, ET-2 e ET-3 os principais. Esses peptídeos atuam de forma parácrina e autócrina, ligando-se a receptores presentes nas células epiteliais e musculares lisas. Além das endotelinas, outros vasoconstritores produzidos pelo endotélio incluem o tromboxano A2, um derivado da prostaglandina H2. Além disso, a redução na produção de óxido nítrico (NO) ou sua inativação pelo ânion superóxido (O_2^-) contribui para a contração do músculo liso (Pawlina; Ross, 2018).

2.4 Doenças cardiovasculares

A hipertensão, caracterizada por pressão arterial persistentemente alta (acima de 140/90 mmHg), é comum e aumenta o risco de doenças cardiovasculares, como aterosclerose e insuficiência cardíaca. Mais de 90% dos casos são hipertensão essencial, cuja causa é geralmente genética e associada ao aumento da resistência periférica, possivelmente devido à deficiência de óxido nítrico. A hipertensão secundária resulta de condições subjacentes, como doenças endócrinas. A pressão alta pode levar à adaptação dos barorreceptores, resultando em regulação inadequada da pressão arterial e, com o tempo, a hipertrofia ventricular e insuficiência cardíaca congestiva. O tratamento inclui bloqueadores de canais de

cálcio, diuréticos, beta-bloqueadores, inibidores da ECA e bloqueadores dos receptores de angiotensina, com possíveis novos tratamentos futuros baseados em avanços na fisiologia cardiovascular (Silverthorn, 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as doenças cardiovasculares (DCVs) representam a principal causa de mortalidade global, responsáveis por cerca de 17,9 milhões de óbitos em 2019, o que equivale a 32% de todas as mortes globais. Desses falecimentos, 85% foram causados por ataque cardíaco e derrame, com mais de três quartos ocorrendo em países de baixa e média renda. Além disso, entre as 17 milhões de mortes prematuras (antes dos 70 anos) por doenças não transmissíveis em 2019, 38% foram devido a DCVs. A maioria dessas doenças pode ser prevenida ao se abordar fatores de risco comportamentais e ambientais, como o uso de tabaco, dieta pouco saudável, obesidade, inatividade física, uso nocivo de álcool e poluição do ar. Detectar as DCVs precocemente é crucial para permitir o início do tratamento adequado, incluindo aconselhamento e medicamentos (OMS, 2017).

De acordo com um relatório divulgado pelo Ministério da Saúde, o número de adultos diagnosticados com hipertensão no Brasil aumentou em 3,7% ao longo de 15 anos. Os índices passaram de 22,6% em 2006 para 26,3% em 2021. O relatório também destacou um crescimento na prevalência entre os homens, com um aumento de 5,9%. A pesquisa, realizada pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) com base nos dados do Vigitel, mostrou uma redução em alguns grupos etários, principalmente entre adultos de 45 a 64 anos. Além disso, os Estados com maior prevalência de hipertensão foram Rio de Janeiro, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, enquanto Pará, Roraima e Amazonas apresentaram os menores índices. O indicador considera a população acima de 18 anos que relatou ter sido diagnosticada com hipertensão, excluindo mulheres que tiveram o diagnóstico durante a gravidez (Brasil, 2022).

2.5 Plantas medicinais

As plantas medicinais são amplamente utilizadas para fins terapêuticos, sendo essenciais para 80% da população global em cuidados primários de saúde, de acordo com a OMS. Elas podem ser usadas diretamente ou servir como base para a síntese de medicamentos. A *Spondias mombin* Linn, por exemplo, é uma

planta com múltiplos usos etnomedicinais, empregada no tratamento de diversas doenças como lepra, tosse severa, diarreia e inflamação. Suas propriedades farmacológicas estão ligadas à sua composição química e valor nutricional (Ogunro, 2023).

A árvore de cajá (*Spondias mombin*) é amplamente encontrada nas Américas tropicais, especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Ela também é presente na Ásia e África, embora a maioria dos autores acredite que tenha origem nas Américas. Pertencente à família Anacardiaceae, essa árvore pode atingir 30 metros de altura, com tronco grosso e folhas compostas. Suas flores hermafroditas favorecem a polinização cruzada, mas apesar de produzir muitas flores, poucas se transformam em frutos. Os frutos são drupas ovais de casca fina, variando do amarelo ao laranja, com polpa succulenta e agridoce. As sementes são grandes e localizadas no endocarpo (Mattietto; Matta, 2011).

O extrato da folha de *Spondias mombin* mostrou ser um potente abortifaciente em estudos com animais, especialmente no final da gestação, semelhante a ocitocina e prostaglandinas. Ele aumenta a contração uterina, potencializando efeitos de substâncias como acetilcolina e ocitocina, mas sem agir diretamente em receptores muscarínicos ou adrenérgicos. O efeito uterotônico do extrato é mediado pela entrada de cálcio, bloqueada por nifedipina, e seu uso apresenta riscos de toxicidade, incluindo morte fetal. Vários compostos foram identificados no extrato, como saponinas e flavonoides, sugerindo que a atividade uterotônica pode ser resultado da interação de múltiplos constituintes (Amaechina *et al.*, 2007).

Análise qualitativa da composição química do extrato aquoso de folhas de *S. mombin* coletadas no município Crato-CE identificou a presença de compostos fenólicos, taninos, flavonas, flavonóis, xantonas e chalconas. Os compostos majoritários identificados nesse extrato incluíram quercetina, ácido caféico, catequina e kaempferol (De Freitas *et al.*, 2022).

Outro estudo detalhou os constituintes de extratos obtidos de folhas de *S. mombin* coletadas na região central da Costa do Marfim. Destacou-se a presença dos ácidos gálico e elágico e seus derivados, bem como os flavonóis quercetina, kaempferol e miricetina. Além disso, foi demonstrada ação inibidora das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase pelos extratos obtidos das folhas dessa espécie por diferentes maneiras (Sinan *et al.*, 2021).

Gobinath *et al.* (2022) destacaram a presença de compostos fenólicos e flavonóides em extrato metanólico de folhas de *S. mombin*. A administração por via oral desse extrato em ratos foi capaz de reverter prevenir o quadro de hiperglicemia e alteração do perfil lipídico (aumento de lipoproteínas de baixa densidade e redução de lipoproteína de alta densidade) induzido por estreptozotocina. Pereira *et al.* (2020), através de modelo cirúrgico de infarto do miocárdio em ratos, demonstraram que a alimentação com ração enriquecida com polpa do fruto de *S. mombin* atenuou a hipertrofia e reduziu a expressão de colágeno e marcadores inflamatórios no músculo cardíaco afetado.

O extrato metanólico das folhas de *Spondias mombin* foi testado em ratos e camundongos para avaliar seu efeito no sistema nervoso central e na pressão arterial. O extrato protegeu 100% dos camundongos contra convulsões induzidas por eletrochoque e apresentou taxas de proteção de 20%, 40% e 80% contra convulsões induzidas por pentilenotetrazol nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente. Também comprometeu a coordenação motora dos animais. Nos ratos, o extrato reduziu a pressão arterial de forma dose-dependente, com uma queda significativa nos níveis sistólicos, diastólicos e médios (Schultes, 1990).

O relaxamento do músculo liso também pode estar associado a compostos como saponinas (esteroides) e alcaloides (ergots), conhecidos por influenciarem a atividade muscular no útero. Alcaloides, por exemplo, podem inibir certas enzimas em mamíferos e afetar hormônios como o glucagon e o hormônio estimulante da tireoide, o que pode resultar no relaxamento da musculatura lisa. Estudos indicam que os fitoquímicos presentes na folha de *S. mombin* estão relacionados à sua atividade abortiva e oxicídica. Esses fitoquímicos são substâncias bioativas naturais das plantas, e diversos compostos, como fenóis, taninos, flavonoides, alcaloides e saponinas, foram isolados de *S. mombin*, contribuindo para as propriedades bioativas de seus extratos (Valko *et al.*, 2007).

No continente africano, *S. mombin* é empregada em diferentes contextos relacionados a gravidez, por exemplo, hemorragias durante ou após o parto, estímulo de contrações uterinas e até mesmo indução de lactação no pós-parto (Ogunro *et al.*, 2023; Pakoussi *et al.*, 2018). O extrato hidroalcoólico (ESM) de folhas dessa árvore é capaz de induzir aumento das contrações espontâneas de segmentos isolados de útero de ratas com efeito máximo observado na concentração de 0,30 mg/ml. Este efeito foi inibido pelo anti-inflamatório

indometacina e pelo antagonista adrenérgico ioimbina, o que sugere que o efeito estimulante do músculo uterino depende, pelo menos em parte, da produção de prostaglandinas e estimulação de receptores adrenérgicos (Pakoussi *et al.*, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar os efeitos de extrato hidroalcoólico de folhas de *S. mombin* sobre a contratilidade de anéis de aorta isolada de ratos.

3.2 Específicos

- Implementar a metodologia de contratilidade de aorta isolada;
- Reproduzir resposta contratil pelo aumento de concentração extracelular de potássio;
- Verificar a resposta relaxante dependente de endotélio, em preparações de aorta isolada;
- Avaliar os efeitos do extrato hidroalcoólico de *S. mombin* em preparações de aorta de ratos pré-contraídas com resposta submáxima de norepinefrina;

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental de natureza pré-clínica.

4.2 Local de realização do estudo

Os experimentos e manipulação dos animais foram realizados no Laboratório de Ensaio Farmacológicos (Labenfarm) e Biotério Professor Eduardo Barbosa Beserra, ambos localizados no Campus I da Universidade Estadual da Paraíba, situado à Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Campina Grande-PB.

4.3 Material botânico

O extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *S. mombin* foi produzido pela técnica de tubólise, exsicata nº 003238/2021. As folhas foram isoladas durante o período de fevereiro a março de 2023 em um sítio particular encontrado no município de Matinhas, semiárido paraibano, Brasil. A identificação da planta foi realizada no Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM), na Universidade Estadual da Paraíba.

4.4 Animais

Foram utilizados 5 ratos wistar (*Rattus norvegicus*), machos e fêmeas, pesando 160 a 250 g, provenientes do Centro de Bioterismo da UEPB. Os animais foram mantidos sob temperatura de 23 +/- 1°C, umidade relativa de 40 a 60%, ventilação e exaustão de ar diretamente nas gaiolas microisoladoras. Essas gaiolas microisoladoras contém grades, tampas e sistema de válvulas para insuflamento e exaustão de ar, medindo 435 cm², condicionará o número máximo de 3 animais por gaiola. Como os protocolos foram realizados no laboratório de Ensaio Farmacológicos, os animais serão aclimatados ao ambiente experimental.

Foram alimentados com ração para roedores de marca Quintia, esterilizada por radiação gama, servida ad libitum, a água disponibilizada foi filtrada em carvão

ativado e 5 micras, esterilizada por autoclavação a 121°C por 20 minutos, também ad libitum, a forração das gaiolas foi com maravalha de pinus, esterilizada por radiação gama. A eutanásia ocorreu mediante aprofundamento anestésico, utilizando-se a associação de Xilazina 2% (30mg/kg) e Ketamina 10% (300mg/kg), pela via intraperitoneal.

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual da Paraíba, registrada com o nº 052/2024 (Anexo A)

4.5 Soluções e drogas

As substâncias de alta pureza requeridas, como Cch e norepinefrina (NE), foram adquiridas da empresa SIGMA® (St. Louis, MO, EUA). A solução fisiológica utilizada na metodologia de contratilidade *in vitro* foi a solução de Tyrode com a seguinte composição: NaCl 136 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 0,98 mM, NaH₂PO₄ 0,36 mM, NaHCO₃ 11,9 mM, CaCl₂ 2 mM e Glicose 5,5 mM.

4.6 Contratilidade *in vitro*

A obtenção dos órgãos, montagem na câmara para órgão isolado e execução do experimento seguiu metodologia já utilizada pelo Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso da Universidade Federal do Ceará (Carvalho *et al.*, 2020; Vasconcelos-Silva *et al.*, 2014), conforme descrito a seguir.

Os animais foram eutanasiados por injeção intraperitoneal de dose letal com a associação de cetamina 10% e xilazina 2% e, somente depois de confirmação do óbito, ocorreu a abertura da caixa torácica e remoção da aorta na sua porção torácica. A aorta foi transferida para placa Petri contendo solução fisiológica de Tyrode para remoção de tecido adjacente e divisão em anéis de aproximadamente 0,5 cm de comprimento. Os anéis de aorta foram montados em dois triângulos de aço inoxidável que perpassam a luz dos tecidos.

Os anéis de aorta, presos por triângulos metálicos, foram presos na porção inferior a uma haste fixa e na porção superior a transdutores de força em câmaras para órgãos isolados (Insight Ltda) contendo 10 ml de solução de Tyrode, pH 7,4, mantida aquecida a 37°C e constantemente aerada com ar ambiente. Os sinais

gerados pelo transdutor de força foram registrados em um sistema de aquisição computadorizado (Insight Ltda). Foi aplicada tensão basal de 1,0 g aos tecidos e estes permaneceram em repouso por cerca de 45 a 50 minutos, com trocas de solução fisiológica a cada 15 minutos. Encerrado o período de estabilização, foram realizados estímulos com elevação da concentração extracelular de K⁺ à 60 mM até a obtenção de duas respostas de mesma magnitude.

4.7 Delineamento experimental

O sistema atualmente disponível no Labenfarm dispõe de dois canais para registro simultâneo, desta forma, cada animal empregado no experimento forneceu um máximo de duas amostras para execução do protocolo experimental. Os protocolos e animais empregados seguirão conforme descrito a seguir:

- Protocolo 1: Efeito do acoplamento eletromecânico induzido por potássio em aorta isolada de ratos.

Para avaliar o efeito com o acoplamento eletromecânico, preparações foram estimuladas com potássio (60 mM), acrescentadas ao banho após a estabilização das artérias a fim de analisar a integridade do tecido vascular.

- Protocolo 2: Efeito constritor da NE seguido de relaxamento induzido por CCh em artérias isoladas de ratos.

Para verificar se o efeito vasorelaxante do CCh foram realizados experimentos em que as preparações foram pré-contraídas com noradrenalina (3nM) e posteriormente foi adicionado CCh 1µM.

- Protocolo 3: Avaliação do efeito do ESM sobre a contração induzida pela noradrenalina em artérias isoladas de ratos.

Com o objetivo de estudar o efeito ESM sob a influência da NE foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas obtidas pela exposição de preparações pré-contraídas com a noradrenalina (10nM). O ESM nas concentrações

de 100 µg/ml, 300 µg/ml, 600 µg/ml e 1000 µg/ml foram adicionadas sucessivamente posteriormente após a contração induzida pela NE 10nM para a avaliação da contratilidade de anéis de aorta isolada de ratos.

4.8 Análise estatística

Os dados foram expressos em média \pm erro padrão da média. Foi utilizado o GraphPad Prism 5.0. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA), seguindo, quando necessário, pelo teste de Dunnett. O nível de significância foi fixado em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente foram realizadas as metodologias para validação do método, em que as preparações responderam com incremento de tensão após a adição de K^+ na concentração de 60mM, demonstrando estarem viáveis para realização do experimento. A resposta obtida a esse estímulo foi de $0,791 \pm 0,132$ gramas de força (gF) (n=8). Concentrações menores que 29 mM de potássio não conseguem despolarizar a membrana o suficiente para abrir canais de cálcio sensíveis ao potencial em quantidade necessária para gerar uma contração muscular perceptível. No entanto, ele pode auxiliar a despolarização e a contração quando combinado com noradrenalina, embora apenas altas concentrações de noradrenalina sejam capazes de desencadear uma contração muscular evidente.

Concentrações elevadas de potássio, entre 29 mM e 129 mM, provoca despolarização da membrana, mas apenas na presença de cálcio, pois é o influxo de cálcio que efetivamente despolariza a membrana. A ausência de contração muscular detectável não implica a inexistência de canais de cálcio sensíveis ao potencial abertos pelo potássio, mas sim que a quantidade aberta não é suficiente para produzir uma contração significativa (Bolton; Lang; Takewaki, 1984)

O acoplamento eletromecânico induzido pelo potássio gerou contração muscular ao despolarizar a membrana celular. Esse processo envolve uma entrada de íons como Na^+ , K^+ e Cl^- , que altera o gradiente eletroquímico, resultando na abertura de canais de cálcio sensíveis à voltagem. Esse influxo de cálcio, que segue o gradiente de concentração do meio extracelular para o intracelular, ativa o tipo de canal de cálcio L (de longa duração). Este canal se abre com a despolarização e fecha na hiperpolarização, sendo essencial para a continuidade da resposta contrátil muscular (Paiva; Farias, 2005).

De acordo com Rand (1970), a noradrenalina exerce um impacto considerável na atividade contrátil da artéria mesentérica superior, onde níveis mais elevados dessa substância levam a contrações mais fortes e irregulares. Para que ocorra a contração, são necessárias concentrações superiores a 10 ng/ml, enquanto apenas concentrações ainda mais altas são capazes de provocar a despolarização do potencial de membrana. Essa relação demonstra a complexidade da resposta vascular à noradrenalina, que pode variar entre diferentes tipos de vasos. Além disso, a ativação dos receptores pela noradrenalina apresenta um efeito variável

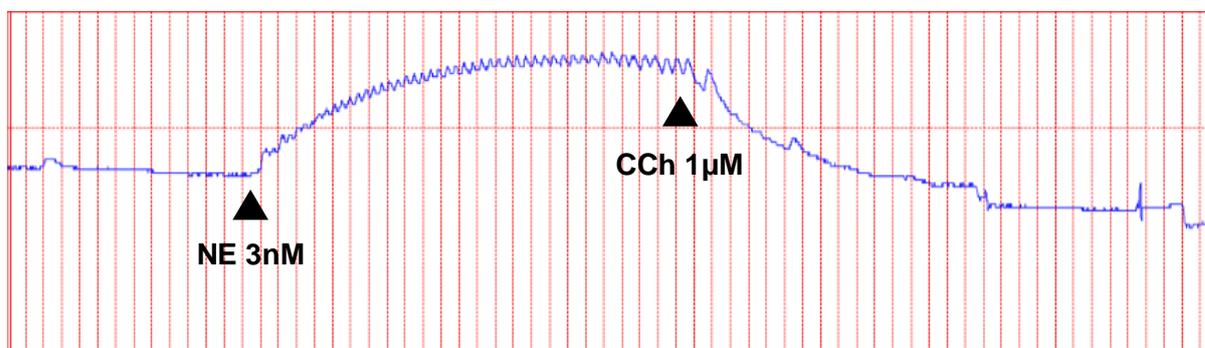
tanto no potencial de membrana quanto no potencial eletrônico. Concentrações mais baixas não têm um impacto significativo no potencial da membrana, mas despolarizações mais intensas geradas pela noradrenalina resultam em uma diminuição desse potencial, indicando uma interação complexa entre os canais iônicos e a resposta elétrica da membrana.

A adição do agonista adrenérgico, noradrenalina, na concentração de 3 nM à solução, induziu uma contração de $1,015 \pm 0,150$ gF (n=8). Ainda sob o platô dessa contração, a adição de CCh 1 μ M foi capaz de induzir um relaxamento de $95,56 \pm 1,93\%$ (n=8) dessa pré-contração com noradrenalina. A Figura 7 apresenta um dos traçados experimentais obtidos com essa resposta. A resposta inibitória promovida pelo CCh parece depender da presença de endotélio funcional, pois este libera fatores relaxantes que modulam a contração do músculo liso vascular. Na ausência do endotélio, o efeito de relaxamento é perdido, e o músculo liso responde ao estímulo de forma contrátil, evidenciando a importância do endotélio na mediação do relaxamento vascular (Kuriyama; Suzuki 1978).

O protocolo que investiga o relaxamento induzido por CCh sobre o efeito da NE em artérias isoladas de ratos é bem visivelmente ilustrado pelos traçados. Com a adição da NE, um neurotransmissor adrenérgico, que ativa a fosfolipase C (PLC) por meio da proteína G. Essa ativação gerou a hidrólise do fosfatidilinositol, resultando na formação de inositoltrifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 se liga a receptores específicos no retículo sarcoplasmático (RS), promovendo a liberação de íons de cálcio para o citoplasma, enquanto o DAG, juntamente com o aumento de cálcio, ativa a proteína quinase C (PKC). Este aumento de Ca^{2+} também ativa a calmodulina e proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMK), resultando na contração do músculo liso vascular (Karnik *et al.*, 2015).

A ação contrátil da NE é atenuada pela CCh, um agonista muscarínico, após sua aplicação. No contexto da ação do CCh, sabemos que seu principal receptor envolvido nesse processo é o receptor muscarínico de acetilcolina (M3), localizado nas células endoteliais. Quando o CCh se liga aos receptores M3 no endotélio, isso estimula a produção de óxido nítrico (NO), que se difunde para o músculo liso vascular e causa o relaxamento, promovendo a vasodilatação (Furchgott; Zawadzki, 1980). Na Figura 4, os traçados demonstram bem isso, onde após a estabilização a nível basal foi aplicado a NE é vista apresentando uma contração (Karnik *et al.*, 2015).

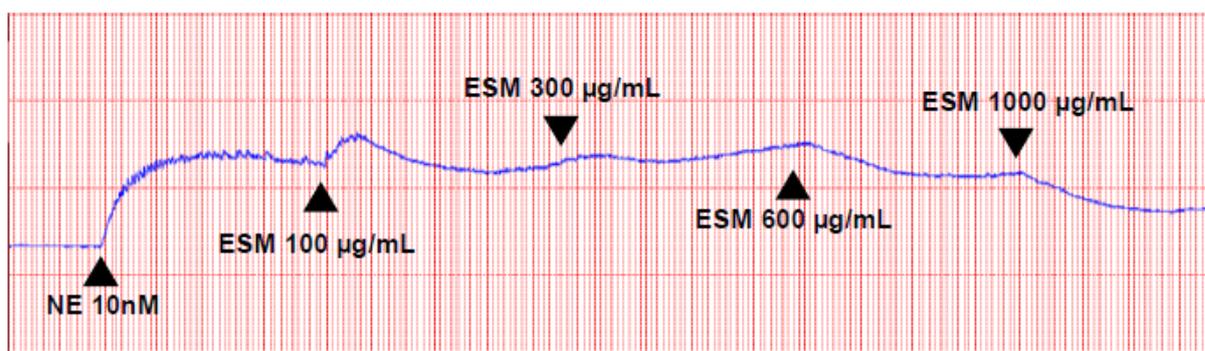
Figura 4 - Registro representativo do efeito do CCh na contração sustentada induzida por NE em artérias isoladas de ratos.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

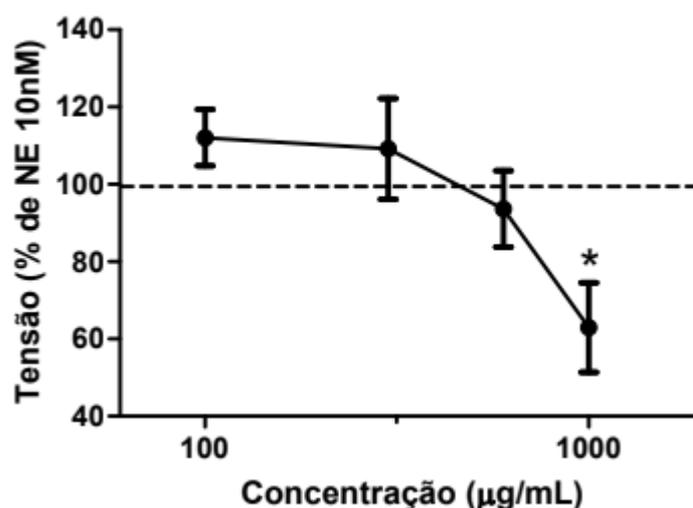
Em segmentos de aorta com endotélio preservado, a adição de noradrenalina (10 nM) em meio contendo cálcio desencadeou uma resposta contrátil de $1,255 \pm 0,145$ gF ($n = 8$). Durante o platô dessa resposta, foi adicionado o extrato de *Spondias mombin* (100–1000 µg/ml), demonstrando um efeito dual. Concentrações mais baixas (100 e 300 µg/ml) aumentaram a contração prévia de NE para $112,08 \pm 7,30\%$ e $109,18 \pm 13,02\%$, respectivamente. Já as concentrações mais altas (600 e 1000 µg/ml) induziram relaxamento da pré-contração, reduzindo-a para $93,66 \pm 9,85\%$ e $62,9 \pm 11,59\%$ ($n = 8$). Apenas a concentração de 1000 µg/ml apresentou efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$, ANOVA, pós-teste de Dunnett; Figuras 5 e 6).

Figura 5 - Registro representativo do efeito dual do ESM em contração induzida por NE em artéria isolada de rato.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Figura 6 - Efeito do ESM na contração induzida por NE em artérias isoladas de rato.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Este estudo investigou o efeito do ESM em concentrações variadas sobre a contratilidade da aorta isolada de rato, com foco nos compostos bioativos presentes, como taninos, flavonoides, fenóis, saponinas e alcaloides. Compostos como alcaloides e saponinas são conhecidos por influenciar a contração muscular vascular. Por exemplo, Sandraei (2003) relatou que frações ricas em alcaloides, como as de *P. spinosa*, inibem a contratilidade muscular de forma dose-dependente; por exemplo, uma concentração de 10 µg/ml quase anulou a resposta contrátil do íleo ao KCl, efeito revertido após lavagem com solução de Tyrode. Saponinas em concentrações elevadas também demonstraram efeito inibitório sobre contrações induzidas por KCl, destacando o papel desses compostos no controle da contratilidade.

No último protocolo deste estudo, foi observado um efeito dual do ESM. Em concentrações baixas, o extrato induziu contração, enquanto em concentrações altas promoveu relaxamento. Dada a composição diversa do extrato e os efeitos observados, os mecanismos envolvidos ainda não podem ser determinados. Estudos adicionais, incluindo protocolos que avaliem a ação do extrato na ausência de endotélio e na presença de outras drogas, serão necessários.

De acordo com Brozovich (2016), a atividade relaxante muscular, especialmente no contexto de relaxamento do músculo liso vascular, desempenha um papel fundamental na saúde cardiovascular, contribuindo para a regulação da pressão arterial, o fluxo sanguíneo e a prevenção de condições como hipertensão e aterosclerose. Sua modulação, seja por vias naturais (como o NO) ou

farmacológicas, é um dos pilares no tratamento e prevenção de uma ampla gama de doenças cardiovasculares.

7 CONCLUSÃO

A metodologia de contratilidade de anéis de aorta isolada foi implementada com sucesso no Laboratório de Ensaio Farmacológicos da UEPB, onde as preparações responderam em acordo com a literatura a estímulos já consolidados na Fisiologia e Farmacologia, como a contração mediante aumento da concentração extracelular de K^+ , contração mediada por agonista adrenérgico e relaxamento mediado por agonista colinérgico.

Este estudo evidenciou que o extrato hidroalcoólico da *Spondias mombin* modula a resposta vascular de maneira concentração-dependente, com concentrações mais baixas aparentemente promovendo aumento da pré-contracção com norepinefrina, enquanto concentrações elevadas induzem relaxamento. A única concentração que apresentou diferença estatística em relação ao estímulo controle foi a de 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Em suma, os resultados sugerem que a regulação da atividade contrátil do músculo liso vascular é multifatorial e dependente da interação entre neurotransmissores, íons e compostos bioativos de origem vegetal.

REFERÊNCIAS

- AMAECHINA, F. C. et al. Some central nervous system and blood pressure lowering effects of methanol extract of the leaves of *Spondias mombin* (Anacardiaceae) in albino wistar rats and mice. **West African Journal of Pharmacy and Drug Research**, v. 30, p. 40–45, 2015.
- BROZOVICH, F. V. et al. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. **Pharmacol Rev**, [S.l.], v. 68, n. 2, p. 476–532, 2016.
- BOLTON, T. B. LANG, R. J.; TAKEWAKI, T. Mecanismos de ação da noradrenalina e do carbacol no músculo liso da artéria mesentérica anterior de cobaia. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 351, n. 1, p. 549–572, 1984.
- CARVALHO, E. F. et al. Neryl butyrate induces contractile effects on isolated preparations of rat aorta. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.**, [S. l.], v. 393, n. 1, p. 43-55, 2020.
- CHEROBIN, F. et al. Plantas medicinais e políticas públicas de saúde: novos olhares sobre antigas práticas. *Physis*: **Revista De Saúde Coletiva**, [S. l.], v. 32, n. 3, e320306, 2022.
- CURI, R.; ARAÚJO FILHO, J. P.. **Fisiologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- ELUFIOYE, T. O. et al. Anticholinesterase constituents from the leaves of *Spondias mombin* L. Anacardiaceae). **Biologics**. [S. l.], v. 11, p. 107-114, 2017.
- FREITAS, M. A. et al. HPLC-DAD analysis and antimicrobial activities of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). **3 Biotech**. [S. l.], v. 12, n.3, 61, 2022.
- FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, [S. l.], v. 288, p. 373 376, 1980.
- GOBINATH, R. et al. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of Methanolic Extract of Leaves of *Spondias mombin* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Front Physiol**. [S.l.; s. n.], v. 13, p. 870399, 2022.
- HANSEN, J. T. **Anatomia clínica de Netter**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier - Divisão de Ciências da Saúde, 2022.
- KARNIK, S. S. et al. International union of basic and clinical pharmacology. XCIX. Angiotensin receptors: Interpreters of pathophysiological angiotensinergic stimuli [corrected]. **Pharmacological reviews**, v. 67, n. 4, p. 754–819, 2015.
- KNOWLES, R. G.; MONCADA, S. Nitric oxide synthase in mammals. **Biochemical Journal**, [S.l.], v. 298, p. 249-258, 1994.

KURIYAMA, H.; SUZUKI, H. Os efeitos da acetilcolina na membrana e nas propriedades contráteis das células musculares lisas da artéria mesentérica superior do coelho. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 64, n. 4, p. 493–501, 1978.

LI, J. *et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2) is upregulated in colonic organoids from hypertensive rats. **Hypertension**, [S. l.], v. 76, n. 3, p. e26-e28, 2020.

MATTIETTO, R. A.; MATTA, V. M. Cajá (*Spondias mombin* L.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**, p. 330–353e, 2011.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, [S. l.], v. 43, p. 109-142, 1991.

OGUNRO, O. B. *et al.* Nutritional benefits, ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological properties and toxicity of *Spondias mombin* Linn: a comprehensive review. **J Pharm Pharmacol**. [S. l.], v. 75, n. 2, p. 162-226, 2023.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Folha de dados sobre doenças cardiovasculares**. 2017. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acesso em: 12 set. 2024.

PAIVA, T. B.; FARIAS, N. C. Mecanismos da contração do músculo liso vascular. **Rev. Bras. Hipertens.**, [S. l.], v. 12, n 2 p. 89-92, 2005.

PAKOUSSI, T. *et al.* How do *Spondias mombin* L (*Anacardiaceae*) leaves extract increase uterine smooth muscle contractions to facilitate child birth in parturient women? **Afr Health Sci**. [S.l.], v. 18, n. 2, p. 235-243, 2018.

PAWLINA, W.; ROSS, M. H. **Histologia: um texto e atlas: com biologia celular e molecular correlacionada**. 8. ed. Rio de Janeiro: Lippincott Williams e Wilkins, 2018.

PEREIRA, B. L. B. *et al.* *Spondias mombin* L. attenuates ventricular remodelling after myocardial infarction associated with oxidative stress and inflammatory modulation. **J Cell Mol Med**. [S. l.], v. 24, n. 14, p. 7862-7872, 2020.

RAND, M. J.; VARMA, B. The effects of cholinomimetic drugs on responses to sympathetic nerve stimulation and noradrenaline in the rabbit ear artery. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 38, n. 4, p. 758–770, 1970.

BRASIL. Relatório aponta que número de adultos com hipertensão aumentou 3,7% em 15 anos no Brasil. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/maio/relatorio-aponta-que-numero-de-adultos-com-hipertensao-aumentou-3-7-em-15-anos-no-brasil>. Acesso em: 12 set. 2024.

RUVIARO, A. R. *et al.* Aglycone-rich extracts from citrus by-products induced endothelium independent relaxation in isolated arteries. **Biocatal Agric Biotechnol.**, [S. l.; s. n.], v. 23, p.101481, 2020.

SAVEDCHUK, S. *et al.* Infecções virais emergentes e o impacto potencial na hipertensão, doença cardiovascular e doença renal. **Circulation Research**, [S./], v. 130, n. 10, p. 1618–1641, 2022.

SCHULTES, R. E.; RAFFAUF, R. F. **The Healing Forest: Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia**. 1 ed. [S. /], Historical, ethno-and economic botany series, 1990.

SILVERTHORN, D. **Fisiologia humana: Uma abordagem integrada**. 7 ed. São Paulo: Pearson, 2017.

SINAN, K. I. *et al.* Exploring the Chemical Profiles and Biological Values of Two Spondias Species (*S. dulcis* and *S. mombin*): Valuable Sources of Bioactive Natural Products. **Antioxidants (Basel)**. [S. /], v. 10, n. 11, p. 1771, 2021. Disponível em:

SOBOTTA, J. **Atlas e livro-texto de anatomia humana**. 2 ed. [S./], Editora Guanabara Koogan, 2016.

VALKO, M. *et al.* Radicais livres e antioxidantes nas funções fisiológicas normais e nas doenças humanas. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, [S./], n. 39, v. 1, p. 44-84, 2007.

VASCONCELOS-SILVA, A. A. *et al.* Vasorelaxation induced by methyl cinnamate, the major constituent of the essential oil of *Ocimum micranthum*, in rat isolated aorta. **Clin Exp Pharmacol Physiol.**, [S. /] v. 41, n. 10, p. 755-62, 2014. Disponível em:

VERSARI, D. *et al.* Endothelium in pharmacology review. **British Journal of Pharmacology**, [S./], v. 157, n. 4, p. 527–536, 2009. Disponível em:

ANEXO A – CERTIFICADO DA CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “AVALIAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *SPONDIAS MOMBIN L.* SOBRE A CONTRATILIDADE DE ANÉIS DE AORTA ISOLADAS DE RATO”, registrada com o nº 052/2024, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Vanda Lúcia dos Santos, que envolve o uso de *Rattus norvegicus wistar*, para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 05 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual da Paraíba.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	08/2024 a 08/2025
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus wistar</i>
Nº de animais	15 (quinze) / 08 machos e 07 fêmeas
Idade/Peso	06 a 10 semanas/ 160g a 250g
Sexo	fêmeas e machos
Origem	Centro de Bioterismo da UEPB

Informação ao pesquisador:

Lembramos que a pesquisadora responsável deverá encaminhar à CEUA-UEPB o **Relatório Final** baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do **relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, previsto para conclusão em 08/2025.**

Campina Grande, 23 de agosto de 2024.

Coordenadora da CEUA/UEPB

