

2.10.04 - Farmacologia / Farmacologia Cardiorenal

**EFEITO HIPOTENSOR
DA FRAÇÃO PURIFICADA OBTIDA DE ESPÉCIE NATIVA DO PANTANAL SOBRE OS SISTEMA
CARDIOVASCULAR DE RATAS.**

Aline A. M. Marques^{1*}, Ana Caroline S. Eupídio¹, Jordana Q. Pinheiro², Cristiane Signor³, Arquimedes Gasparotto Junior⁴, Cleide A. S. Tirloni⁵

1. Estudante da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), MS.
2. Estudante da Faculdade de Saúde, Unigran, Dourados, MS.
3. Pesquisadora da Faculdade de Ciências da Saúde, UFGD.
4. Pesquisador da Faculdade de Ciências da Saúde, UFGD.
5. Pesquisadora da Faculdade de Ciências da Saúde, UFGD/Orientado.

Resumo

A *Luehea divaricata* é utilizada tradicionalmente no Pantanal brasileiro para diversos problemas de saúde que afetam aquela população. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos diurético e hipotensor desta espécie em ratas. A FrAquo, obtida do extrato bruto ESLD, foi utilizada para os testes. Trinta ratas, foram divididas em 5 grupos experimentais (N=6). Os grupos foram tratados durante 7 dias com diferentes doses da FrAquo (13, 43 e 128 mg/kg), com hidroclorotiazida (HCTZ: 25 mg/kg) e água filtrada (Controle: 10 mL/kg). Amostras urinárias foram coletadas a cada 24 horas, o volume urinário, o pH e os eletrólitos urinários (Na⁺, K⁺ e Cl⁻) foram analisados. Após 7 dias foram avaliados os parâmetros de pressão arterial: PAS, PAD, PAM e FC. Os tratamentos não interferiram no pH e no volume urinário, porém as doses de 43 e 128 mg/kg da FrAquo foram capazes de diminuir a PA. Concluímos que a FrAquo da *L. divaricata* teve um efeito hipotensor.

Autorização legal: CEUA UFGD 16/2015.

Palavras-chave: *Luehea divaricata*, planta medicinal, fração aquosa.

Apoio financeiro: CAPES, CNPQ, HU-UFGD.

Introdução

Estudos de diferentes espécies de plantas utilizadas pela população ao redor do mundo têm crescido exponencialmente, a comprovação das atividades farmacológicas das espécies utilizadas contribui para o desenvolvimento de novas estratégias de terapia medicamentosa (CALIXTO, 2005). As plantas apresentam diferentes compostos fitoquímicos, os chamados metabólitos secundários, conhecidos por atuarem de forma direta ou indireta no organismo humano e capazes de inibir ou ativar importantes mecanismos de ação, a fim de promover a melhora nos quadros de doenças ou a prevenção das mesmas (CALIXTO, 2000; MACIEL; PINTO; VEIGA, 2002).

Neste sentido, o conhecimento popular pode se tornar uma alternativa para a busca de novos compostos úteis à terapia. A *L. divaricata* é uma planta medicinal utilizada pela população ribeirinha do Pantanal brasileiro tais como ribeirinhos de diferentes comunidades, indígenas, quilombolas e nativos daquela região, para tratar diversas afecções que afetam a saúde, tais como o excesso do ácido úrico, tumores, inflamação da garganta, gripe, tosse, pneumonia, hemorróidas, dores musculares, problemas renais e de pressão alta (BIESKI et al., 2012).

Estudos fitoquímicos prévios demonstraram a presença nesta espécie de compostos fenólicos, tais como o ácido clorogênico, ácido rosmarínico, rutina, vitexina e epicatequina, triterpenoides, fitoesteróis, flavonol e flavona (ARANTES et al., 2014; COURTES et al., 2015; TIRLONI et al, 2018). Já alguns estudos biológicos demonstraram as suas capacidades antifúngica, antioxidante, neuroprotetiva, anti-inflamatória, analgésica, imunoestimulatória e anticolinesterásica (ARANTES et al.,2014; COURTES et al., 2015).

Em estudo prévio Tirloni et al. (2018) demonstraram que o extrato bruto desta espécie apresentou um excelente efeito diurético e hipotensor, neste sentido o objetivo do nosso trabalho foi avaliar pela primeira vez a atividade diurética e hipotensora de uma fração purificada desta espécie.

Metodologia

Preparo do extrato bruto da *L. divaricata*: para preparar a fração purificada primeiramente preparamos o extrato bruto da *L. divaricata* (ESLD) conforme Tirloni et al. (2018).

Preparo da fração purificada por fracionamento líquido/líquido: seguimos a metodologia descrita por Formagio et al. (2013) com algumas modificações. 15 g do ESLD foram solubilizados em 1 litro de água

filtrada e, sequencialmente, fracionados com solventes de diferentes polaridades: clorofórmio, butanol e acetato de etila, restando ao final a fração aquosa (FrAquo) que foi utilizada para os testes após a retirada dos solventes e da água pelos métodos de rotaevaporação e liofilização.

Animais utilizados: após a aprovação do CEAU/UGFD 16/2015, 30 ratas Wistar, com 60 dias de vida e peso médio de 220g foram utilizadas para os testes. Os animais foram mantidos em ambiente controlado e adequado para a espécie conforme preconiza as organizações nacionais e internacionais de cuidado com os animais.

Análise da diurese por sete dias: utilizamos a metodologia descrita por Gasparotto et al. (2009), com algumas modificações. Previamente ao início dos tratamentos os animais passaram por um processo de salinização onde receberam 5 ml/100g de peso corporal de salina (cloreto de sódio 0,9 %) visando à uniformização dos eletrólitos corporais, em seguida foram randomizados em grupos pelo volume urinário. Formou-se 6 grupos experimentais (n =5), sendo: Grupo FrAquo 13 (animais tratados com a fração aquosa 13 mg/kg); Grupo FrAquo 43 (animais tratados com a fração aquosa 43 mg/kg); Grupo FrAquo 128 (animais tratados com a fração aquosa 128 mg/kg); Grupo HCTZ (animais tratados com hidroclorotiazida 25mg/kg); Grupo Controle (animais tratados com água filtrada 10mL/kg). Após o início dos tratamentos os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas durante 7 dias e tratados por via oral (gavagem). Neste período, a urina dos animais foi coletada a cada 24h para a determinação do volume urinário, que foi expresso em mL /100 g de peso corporal. O pH urinário foi medido diariamente, bem como os níveis urinários de sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cloreto (Cl⁻). Os resultados dos eletrólitos foram expressos em $\mu\text{Eq}/\text{min}/100\text{g}$.

Registro da pressão arterial e frequência cardíaca: ao final do tratamento de 7 dias, dos mesmos animais medimos a pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), de acordo com a metodologia descrita por Gasparotto et al. (2009). Para tanto, os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (2mg/kg) por via intramuscular. Em seguida, uma injeção de heparina (50 UI) foi administrada por via subcutânea. Assim, a artéria carótida esquerda foi isolada, canulada e conectada a um transdutor de pressão acoplado a um sistema de registro de pressão arterial (PA) PowerLab® que registrou os parâmetros hemodinâmicos acima citados. Após um período de estabilização de 15 minutos, os animais foram mantidos ao sistema de medida de PA por mais 10 minutos, a análise da PA dos diferentes grupos foi realizada nestes últimos 10 minutos.

Resultados e Discussão

A *L. divaricata* é conhecida popularmente no Brasil principalmente como açoita-cavalo, é empregada na medicina popular na forma de decocção e infusão, e dentre outros fins é usada como diurética e para pressão alta (BIESKI et al., 2012). Estudos fitoquímicos realizados com as folhas da planta mostraram a presença de diferentes metabólitos secundários (TANAKA et al., 2005; TIRLONI et al.; 208). Recentemente Tirloni et al. (2018) demonstraram a atividade diurética do extrato bruto desta espécie e relacionaram esta atividade ao provável efeito antioxidante exercido por estes compostos.

Apesar destes estudos, até então não tinha sido investigada a ação de uma fração purificada desta espécie sobre o sistema cardiovascular e renal. Nós investigamos a FrAquo da *L. divaricata* sobre os parâmetros de diurese e da pressão arterial de ratas Wistar. Tratamos os animais por sete dias, avaliamos o efeito diurético diariamente e após este período avaliamos o efeito da fração sobre a pressão arterial.

Ao analisarmos os dados de diurese observamos que a FrAquo não foi capaz de aumentar a excreção do volume urinário em nenhum dos dias de tratamento quando comparado com o grupo controle. Apesar de não apresentar efeito diurético a FrAquo (13 mg/kg) apresentou um pequeno efeito salurético no sétimo dia de tratamento, eliminando Cl⁻ ($25,52 \pm 2,13 \text{ mEq}/\text{min}/100 \text{ g}$), quando comparado com o controle ($21,40 \pm 0,28 \text{ mEq}/\text{min}/100 \text{ g}$). A HCTZ, como o esperado, aumentou a excreção urinária em todos os dias de tratamento e apresentou efeito salurético a partir do quarto dia.

A FrAquo apresentou efeito hipotensor sendo que a dose de 128 mg/kg foi capaz de reduzir significativamente os níveis de PAS, PAD e PAM ($71 \pm 4,08$, $38 \pm 3,86$ e $56 \pm 4,18 \text{ mmHg}$, respectivamente) quando comparado com o Controle ($101 \pm 8,76$, $59,70 \pm 6,47$, $80,79 \pm 7,9$, respectivamente). A FrAquo de 43 mg/kg foi capaz de reduzir significativamente os níveis de PAS ($74 \pm 8,48 \text{ mmHg}$) quando comparado com o Controle ($101 \pm 8,76$). Os tratamentos não alteraram a FC.

Uma limitação do nosso trabalho é que não investigamos os mecanismos envolvidos no efeito hipotensor, porém acreditamos que este efeito esteja relacionado com o aumento da viabilidade do óxido nítrico, que é um potente vasodilatador, devido à atividade antioxidante do extrato demonstrada por Tirloni et al. (2018). É fato que as substâncias que reduzem as espécies oxidantes podem aumentar a viabilidade do ON e consequentemente aumentar as respostas vasodilatadoras (ZIZKOVA et al., 2017).

Conclusões

Baseado em nossos resultados podemos afirmar que a FrAquo obtida da *L. divaricata* apresentou efeito hipotensor, desta forma corrobora com o uso popular pantaneiro que utiliza esta espécie como diurética e para pressão alta. Estudos anteriores identificaram uma infinidade de compostos metabólicos desta espécie,

provavelmente estes metabólitos atuam sobre o sistema cardiovascular reduzindo a PA, uma ação provável é a atividade antioxidante e a melhora da viabilidade do ON, importante vasodilatador. Esta espécie pode ser uma potencial candidata para estudos futuros e o desenvolvimento de novos fármacos que atuem no sistema cardiovascular e renal em humanos.

Referências bibliográficas

- ARANTES, L. et al. Luehea divaricata Mart. anticholinesterase and antioxidante activity in a Caenorhabditis elegans model system. *Ind. Crops Prod.* 62, 265–271.
- BIESKI, I.G.C. et al. Ethnopharmacology of medicinal plants of the pantanal region (Mato Grosso, Brazil) (ID 272749). *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 1–36, 2012.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.
- CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *J Ethnopharmacol*, v. 100, n. 1-2, p. 131-4, Aug 22 2005.
- FORMAGIO, A.S. et al. The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. *BMC Compl. And Altern. Medic.* 13 (14), 1-16, 2013.
- GASPAROTTO JUNIOR, A.; BOFFO, M.A.; LOURENÇO, E.L.; STEFANELLO, M.E.; KASSUYA, C.A.; MARQUES, M.C.; 2009. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. *J. Ethnopharmacol.* 122 (3), 517–522.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, J.V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim Nova* 25: 430-431, 2002.
- TANAKA, J.C.A et al. Chemical constituents of *Luehea divaricata* Mart. (TILIACEAE). *Quím. Nova* 28 (5), 834–837, 2005.
- TIRLONI, C.A.S. et al. Ethnopharmacological approaches to kidney disease-prospecting an indigenous species from Brazilian Pantanal. *J. Ethnopharmacol* (211), 47-57, 2018.
- ZIZKOVA, P. et al. Novel quercetin derivatives: from redox properties to promising treatment of oxidative stress related diseases. *Chem. Biol. Interact.* 265, 36–46, 2017.