

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

MARCOS ANTONIO MARTINS PEREIRA

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DAS FOLHAS DE
Psidium guineense Swartz**

SÃO LUÍS

2021

Marcos Antonio Martins Pereira

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DAS FOLHAS DE
***Psidium guineense* Swartz**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – Campus Bacanga, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Monteiro

SÃO LUÍS

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Pereira, Marcos Antonio Martins.

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DAS FOLHAS DE
Psidium guineense Swartz / Marcos Antonio Martins Pereira.
- 2021.

48 f.

Orientador(a): Fábio de Souza Monteiro.

Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2021.

1. Araçá. 2. Agente espasmolítico. 3. Metabólitos
secundários. 4. Taninos I. Monteiro, Fábio de Souza. II.
Título.

Marcos Antonio Martins Pereira

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DAS FOLHAS DE
Psidium guineense Swartz**

Aprovado em ___/___/_____

Conceito final: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fabio de Souza Monteiro
Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF/UFMA)
(orientador)

Prof^a. Dr^a. Crisálida Vilanova Machado
Departamento de Farmácia (DEFAR/UFMA)

Prof^a. Dr^a. Sally Cristina Moutinho Monteiro
Departamento de Farmácia (DEFAR/UFMA)

DEDICATÓRIAS

A DEUS, em primeiro lugar, porque é graças a inteligência, sabedoria, força e capacidade que Ele me deu que eu consigo finalizar mais uma etapa na minha vida com sucesso, na certeza de que a próxima etapa eu também vencerei porque Ele nunca irá deixar de estar ao meu lado, louvo ao Senhor.

A minha mãe Maria de Jesus de Sousa Martins por ser mais que uma mãe, ser também uma amiga, apoiadora e estimuladora. Por ser essa mulher exemplar que lutou muito para que eu pudesse estudar e ser um bom homem, essa conquista é sua também a amo muito.

Ao meu pai Antonio de Jesus Pereira (*in memoriam*) que mesmo convivendo pouco tempo comigo me amou com toda a força da palavra amor e que certamente estaria muito feliz com a conclusão do meu curso, te amo.

A toda a minha família em especial aos meus avós, tios e tias que sempre foram presentes e que muito me ajudaram demonstrando a importância da família na vida de uma pessoa, muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pelo dom da vida, pelas oportunidades que Ele me deu, assim como pela capacidade para aproveitá-las.

Aos meus pais pelo amor incondicional e em especial a minha mãe por todo esforço para me proporcionar uma formação pessoal e profissional de excelência.

A minha família pelo apoio, carinho, respeito e torcida pelo sucesso na minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fabio de Sousa Monteiro por me permitir participar de um projeto de pesquisa e por todo o conhecimento transmitido.

A todos os meus professores que contribuíram para o meu aprendizado.

A Prof^a.Dr^a Cláudia Quitino por todo apoio disponibilizando o Laboratório de Química de Produtos Naturais da UFMA para a produção dos extratos.

A Prof^a.Dr^a Crisálida Machado Vilanova pela contribuição na parte fitoquímica da pesquisa e por todo o conhecimento transmitido.

A Dr^a Aldilene Silva pela fundamental contribuição para a realização da pesquisa.

A Universidade Federal do Maranhão por todo o suporte para a realização do curso de farmácia.

Consagre ao Senhor tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos.
(Provérbios 16:03)

RESUMO

Introdução: A espécie *Psidium guineense* Swartz, conhecida popularmente como “araçá”, é um arbusto usado na medicina tradicional para o tratamento de diversas patologias, como cólicas intestinais, diarreias, dentre outras. **Objetivos:** obter os extratos aquoso (EAF-PG) e hidroalcoólico (EHF-PG) das folhas da planta, realizar a análise fitoquímica e investigar a atividade espasmolítica dos extratos (EAF-PG e EHF-PG). **Metodologia:** foram utilizados tecidos isolados de útero de ratas e jejuno de ratos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem wistar, fêmeas e machos, sadios ao exame clínico, sendo utilizados entre 70 e 80 dias de idade. Para investigação da atividade espasmolítica, as contrações isotônicas foram montadas em uma alavanda isotônica de inscrição frontal sendo registradas em um cilindro esfumaçado de um quimógrafo, e as contrações isométricas foram registradas através de um transdutor de força acoplado a um amplificador e conectado a um computador. **Resultados e Discussão:** A análise fitoquímica de EAF-PG e EHF-PG mostrou a presença de fenóis, taninos, esteróides e triterpenos; porém, no caso dos taninos, foi observado um resultado moderadamente positivo para o EHF-PG e levemente positivo para o EAF-PG. Não foram encontrados resinas, alcalóides e saponinas. De acordo com os dados da literatura, o espasmo do musculo liso do útero e do jejuno é composto por dois componentes; um componente fásico rápido não sustentado e um componente tônico lento, mas sustentado. Com relação ao componente fásico em útero isolado de rata, o EHF-PG foi mais eficiente na inibição da contração que o EAF-PG, assim como foi observado em jejuno isolado de rato. Da mesma forma, sobre o componente tônico o EHF-PG relaxou o útero isolado de rata e o jejuno isolado de rato pré-contraídos com KCl de maneira mais eficiente e potente quando comparado ao EAF-PG. Além disso, observou-se que o EHF-PG apresentou atividade mais seletiva para o jejuno isolado de rato. Portanto, de acordo com o demonstrado acima, *Psidium guineense* Swartz é promissora como um agente espasmolítico, apresentando como provável mecanismo de ação o bloqueio do influxo de cálcio através dos canais de cálcio dependentes de voltagem. Além disso, pode-se levantar a hipótese de que os taninos presentes nos extratos possam ser os responsáveis pela ação espasmolítica, porém são necessários mais estudos.

Palavras-chave: Araçá. Agente espasmolítico. Metabólitos secundários. Taninos

ABSTRACT

Introduction: The species *Psidium guineense* Swartz, popularly known as “araçá”, is a shrub used in traditional medicine for the treatment of various pathologies, such as intestinal colic, diarrhea, among others. **Objectives:** to obtain the aqueous (EAF-PG) and hydroalcoholic (EHF-PG) extracts from the leaves of the plant, carry out the phytochemical analyzes and investigate the spasmolytic activity of the extracts (EAF-PG and EHF-PG). **Methodology:** Tissues isolated from the uterus of rats and from the jejunum of rats of the *Rattus norvegicus* species, Wistar lineage, females and males, healthy at clinical examination, were used between 70 and 80 days of age. For the investigation of spasmolytic activity, isotonic contractions were mounted on an isotonic front recording lever and recorded in a smoky cylinder of a kymograph, and isometric contractions were recorded by means of a force transducer coupled to an amplifier and connected to a computer. **Results and Discussion:** The phytochemical analysis of EAF-PG and EHF-PG revealed the presence of phenols, tannins, steroids and triterpenes; however, in the case of tannins, there was a moderately positive result for EHF-PG and slightly positive for EAF-PG. Resins, alkaloids and saponins were not found. According to literature data, smooth muscle spasm of the uterus and jejunum is composed of two components; a fast unsustained phasic component and a slow but sustained tonic component. Regarding the phasic component in isolated rat uterus, EHF-PG was more efficient in inhibiting contraction than EAF-PG, which was also observed in isolated rat jejunum. Likewise, in the tonic component, EHF-PG relaxed isolated rat uterus and isolated rat jejunum that had been contracted with kcl previously more efficiently and powerfully when compared to EAF-PG. Furthermore, it was observed that EHF-PG showed more selective activity for the jejunum of isolated rats. Therefore, as shown above, *Psidium guineense* Swartz is promising as a spasmolytic agent, presenting as a probable mechanism of action the blocking of calcium influx through voltage-gated calcium channels. Furthermore, it can be hypothesized that the tannins present in the extracts may be responsible for the spasmolytic action, but further studies are needed.

Keywords: Araçá. Spasmolytic agent. Secondary metabolites. Tannins

LISTA DE FIGURAS e TABELAS

Figura 1. <i>Psidium guineense</i> Swartz em ambiente natural.....	16
Figura 2. Mecanismo farmacomecânico de contração do músculo liso.....	18
Figura 3. Acoplamento eletromecânico da contração muscular lisa pelo aumento da concentração de K ⁺	19
Figura 4. Mecanismo de relaxamento da musculatura lisa.....	20
Figuras 5 A, B, C, D, E e F. Sistema de aquisição para registro das contrações isotônicas: (A) quimógrafo, (B) alavanca isotônica de inscrição frontal e (C) banho-maria e sistema de aquisição digital das contrações isométricas: (D) transdutores de força TF-07 para medida de tensão 0,0 e 50,0 g acoplado a um (E) amplificador conectado a um (F) computador.....	24
Figura 6. PHmetro digital Kasvi modelo K39-0014PA.....	24
Tabela 1. Resumo da metodologia segundo Matos para investigação dos metabólitos secundário.....	28
Tabela 2. Resultado da Análise Fitoquímica.....	32

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráficos 1 A, B, C e D** – Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**A**) e extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**B**) frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina ($n = 2$) em útero isolado de rata; Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**C**) e extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**D**) frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-5} M de carbacol ($n = 2$) em útero isolado de rata.....34
- Gráficos 2 A e B** – Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**A**, $n = 1$) e extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**B**, $n = 3$) frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-6} M de carbacol em jejuno isolado de rato.....35
- Gráficos 3 A e B** – Comparação dos valores de E_{max} de inibição do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz e do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz em útero isolado de rata (**A**) e em jejuno isolado de rato (**B**).....35
- Gráfico 4** – Comparação do E_{max} de inibição do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz frente a 10^{-2} UI/mL de ocitocina ou 10^{-5} M de carbacol em útero isolado de rata e 10^{-6} M de carbacol em jejuno isolado de rato.....36
- Gráficos 5 A e B** – Efeito relaxante do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**▲**) ou do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**■**) em útero isolado de rata pré-contraído por 60 mM de cloreto de potássio e efeito relaxante do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**⊠**) (**A**) e do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz (**●**) em jejuno isolado de rato pré-contraído por 75 mM de cloreto de potássio (**B**, $n = 3$).....37
- Gráfico 6** – Comparação do E_{max} de relaxamento do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz em relação ao útero isolado de rata e jejuno isolado de rato.....38
- Gráfico 7** – Comparação dos valores de CE_{50} do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz em relação ao útero isolado de rata e jejuno isolado de rato.....39

LISTA DE SIGLAS

[4Ca²⁺-CAM] complexo cálcio-calmodulina
[Ca²⁺]_i concentração de íons cálcio intracelular
[K⁺]_e concentração do íon potássio extracelular
AMPC adenosina monofosfato cíclico
ATP adenosina trifosfato
ANOVA análise de variância
Ca²⁺ íons cálcio
CAM calmodulina
CCh carbacol
Ca_v canais de cálcio dependente de voltagem
K⁺ íons potássio
CE₅₀ concentração de uma droga que produz 50% de seu efeito máximo
DAG 1,2 diacilglicerol
EAF-PG Extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz
EHF-PG Extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium guineense* Swartz
E_{max} efeito máximo
GC_s guanilato ciclase solúvel
GDP difosfato de guanosina
GTP trifosfato de guanosina
GMPc monofosfato de guanosina cíclico
IP₃ 1,4,5-trisfosfato de inositol
IP₃R receptor do IP₃
MLC cadeia leve da miosina
MLCK quinase de cadeia leve da miosina
MLCP fosfatase de cadeia leve da miosina
NCX trocador de Na⁺/Ca²⁺
NO óxido nítrico
OCi ocitocina
PIP₂ fosfatidilinositol 4,5 bifosfato
PKA proteína cinase A
PKC proteína cinase C
PKG proteína cinase G
PLC-β1 fosfolipase C - β1
PMCA bomba Ca²⁺-ATPase da membrana plasmática
RS retículo sarcoplasmáticos
RyR receptor de rianodina
SERCA bomba Ca²⁺-ATPase do retículo sarcoplasmático

OBS.: as abreviaturas e símbolos utilizados neste trabalho que não estão presentes nesta lista, estão descritos no texto ou são convenções adotadas universalmente.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REREFENCIAL TEÓRICO.....	15
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
4 METODOLOGIA.....	23
4.1 Materiais.....	23
4.1.1 Material Vegetal.....	23
4.1.2 Animais.....	23
4.1.3 Solução Nutritiva.....	23
4.1.4 Equipamentos.....	23
4.2 Métodos.....	25
4.2.1 Obtenção dos extratos de <i>Psidium guineense</i> Swartz.....	25
4.2.2 Análise Fitoquímica.....	26
4.2.2.1 Teste para Fenóis e Taninos.....	26
4.2.2.2 Teste para Resinas.....	26
4.2.2.3 Teste para Alcalóides.....	26
4.2.2.4 Teste para Triterpenos e Esteroides.....	27
4.2.2.5 Teste para Saponinas.....	27
4.3 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações fásicas do músculo liso.....	28
4.3.1 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações fásicas induzidas por ocitocina em útero isolado de rata.....	28
4.3.2 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações fásicas induzidas por carbacol em jejuno isolado de rato.....	29
4.4 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações tônica do músculo liso.....	30
4.4.1 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações tônicas induzidas por KCl (60 mM) em útero isolado de rata.....	30
4.4.2 Efeito do EAF-PG ou EHF-PG frente às contrações tônicas induzidas por KCl (75 mM) em jejuno isolado de rato.....	30
4.5 Análise Estatística.....	31
5. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	32
6. CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

ANEXO - Certificado de Aprovação (CEUA)	47
--	-----------