UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA - PPQB

SARA TAVARES DE SOUSA MACHADO

EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO *ex vivo* E *in silico*

CRATO - CE
2026

SARA TAVARES DE SOUSA MACHADO

EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO *ex vivo* E *in silico*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutora em Química Biológica.

Orientadora: Profa. Dra. Roseli Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Luís Pereira de Morais

CRATO - CE
2026

Ficha Catalográfica elaborada pelo autor através do sistema
de geração automático da Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri - URCA

Machado, Sara Tavares de Sousa

M149ee EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO ex vivo E in silico / Sara Tavares de Sousa Machado. Crato- CE, 2026.

132p. il.

Tese. Programa de Pós-Graduação em Química Biológica da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Orientador(a): Prof.ª Dr.ª Roseli Barbosa

Coorientador(a): Prof. Dr. Luís Pereira de Morais

1.Canais de Cálcio tipo L, 2.Diabetes mellitus gestacional, 3.Vasorrelaxamento, 4.Eucaliptol; I.Título.

CDD: 570

SARA TAVARES DE SOUSA MACHADO

EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO *ex vivo* E *in silico*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito necessário para obtenção do Título de Doutora em Química Biológica

Tese defendida e aprovada em: 16 de setembro de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Roseli Barbosa
Presidente da banca
Orientadora - URCA

Prof. Dr. Luís Pereira de Morais
Coorientador - URCA

Profa. Dra. Janaína Esmeraldo Rocha
Membro Avaliador Titular Interno - URCA

Profa. Dra. Renata Evaristo Rodrigues Duarte
Membro Avaliador Titular Externo - URCA

Profa. Dra. Yedda Maria Lobo Soares de Matos
Membro Avaliador Titular Externo - URCA

Profa. Dra. Maria Flaviana Bezerra Morais Braga
Membro Avaliador Suplente Interno - URCA

Profa. Dra. Emmily Petícia do Nascimento Sales
Membro Avaliador Suplente Externo - URCA

Dedico este trabalho aos meus pais, Geraldo Vicente Machado Filho e Maria Aparecida Tavares de Sousa Machado que com muita garra e coragem me ofereceram tudo que puderam para me educar da melhor forma.

Aos meus irmãos, Clara Tavares Machado e Heitor Tavares de Sousa Machado pelo companheirismo, carinho, amor e presença firme.

Ao meu namorado e parceiro de vida Guilherme de Souza Ribeiro Dantas, pelo amor, paciência e por nunca me deixar desistir. Tudo por você.

AGRADECIMENTOS

Tendo consciência que sozinha nada disto teria sido possível, dirijo gratidão a **Deus** pela generosidade de me ceder força e conforto espiritual nas horas difíceis, de desânimo e cansaço.

A minha admirada mãe, **Maria Aparecida Tavares de Sousa Machado,** luz da minha vida, por não medir esforços na minha educação, por abdicar dos seus sonhos pelos meus, por dar seu sangue e suor para me ver feliz. Por nunca me deixar sozinha e nem soltar a minha mão. Por me incentivar, me amar e ser um poço de otimismo e boas vibrações. Ser sua filha é um privilégio. Te amo incondicionalmente.

Ao meu pai, **Geraldo Vicente Machado Filho**, pelo incentivo e apoio aos meus sonhos, por fazer da minha, a sua, felicidade e por correr junto comigo atrás dos meus objetivos. Jamais poderei retribuir o que eu recebi até aqui. Gratidão. Te amo de forma imensurável.

Ao meu namorado e companheiro de vida, **Guilherme de Souza Ribeiro Dantas,** sobretudo por acreditar em mim, mas por ser meu ombro amigo, por ser a personificação da paciência, tranquilidade, otimismo e equilíbrio. Agradeço por torcer e vibrar por minhas vitórias; por acolher com afago e carinho as minhas angústias e aflições. Sem dúvidas, seu apoio foi definitivo em todos os momentos deste trabalho. Meu amor por você sempre vai ser a minha referência do que é o amor.

A minha irmã, **Clara Tavares Machado**, que faz jus ao seu nome e é luz para meu caminho, alegria dos meus dias e alma gêmea. Clara é sinônimo de alicerce, incentivo, apoio e amor.

Ao meu irmão **Heitor Tavares de Sousa Machado**, pelo apoio, incentivo e companheirismo.

A minha avó**, Maria Alzenir Machado Lima**, pelo amor, carinho e incentivo.

A minha orientadora, prof. Dr. **Roseli Barbosa**, pelo acolhimento, orientação e por incentivar minhas propostas. Jamais poderia ter uma orientadora melhor nesse momento.

Ao meu coorientador, prof. Dr. **Luís Pereira de Morais** pela orientação, pelo apoio constante, por tantas oportunidades de aprendizagem, dedicação, paciência, estímulo e auxílio inestimável oferecidos no desenvolvimento desta Tese e na minha construção intelectual.

A minha queridíssima profa. Dra. **Marta Regina Kerntopf** pelo apoio, parceria e estímulo. Isso seria impossível sem a senhora.

Ao professor prof. Dr. **Alexandre Magno Rodrigues Teixeira** por me acolher e me auxiliar durante esse percurso.

Ao meu colega e amigo **Paulo Ricardo Batista**, pelo auxílio em todas as etapas do mestrado, pelo ombro amigo, auxílio nas coletas, produção dos artigos e sobretudo pela amizade. Você foi essencial para realização desse sonho.

A minha amiga **Francisca Daliane Severino da Silva**, pela cumplicidade durante as disciplinas e aprendizagem das metodologias. Sua companhia alegrou meus dias.

A equipe do Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis: **Andressa de Alencar Silva, Carla Mikevely de Sena Bastos, Deyvisson da Silva Nascimento, Francisco Junio Dias, Gabriela Lucena Calixto, Kamilla Bezerra Cabral, Laíza Maria Ulisses Magalhães, Luiz Ramon dos Santos Pereira, Jamily Fechine Cruz, Maria Raquel da Silva Duarte, Maria Jérica da Silva Sousa, Adrieli de Fátima Cruz Tavares, Luyse Tavares Veloso de Queiroz, Cicera Hellen Cavalcante Gonçalves e Renata Evaristo Rodrigues da Silva**, por todo empenho na pesquisa, por todas as horas ao meu lado nos experimentos vocês foram essenciais para realização deste trabalho.

Ao professor **Henrique Leal Cardoso** pelas contribuições e sugestões de melhoria para esse trabalho.

As parturientes que disponibilizaram parte de seus cordões umbilicais, sem os quais a pesquisa não seria possível.

A toda equipe de profissionais do Hospital e Maternidade São Francisco, que sempre estiveram dispostos a nos ajudar e auxiliar na coleta dos cordões umbilicais.

Aos meus alunos, por dividirem o chão da sala de aula comigo e me ensinarem sobre o ser docente.

Aos meus amigos **coautores** pela disponibilidade e ajuda.

A minha turma de doutorandos por trazer leveza ao trajeto.

Aos **coordenadores**, **professores** e **funcionários** do Programa De Pós-Graduação em Química Biológica - PPQB pelos ensinamentos transmitidos.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, à **Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP)** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

A **Universidade Regional do Cariri (URCA)**, por ser um espaço de acolhimento, agregação de conhecimentos e engrandecedor de pessoas.

Meu sincero reconhecimento!

Capítulo I

Página

Figura 1: Estrutura de isopreno, molécula base dos terpenos. 27

Figura 2: Estrutura química do Eucaliptol. 29

Figura 3. Representação ilustrativa do cordão umbilical humano. 31

Figura 4: Representação dos principais receptores que participam da contratilidade dos vasos umbilicais. 37

Figura 5: Representação dos principais receptores e vias que participam do relaxamento dos vasos umbilicais. 42

Capítulo II

Figura 1: Efeito do eucaliptol (EUC; 1–3000 µM) no tônus basal de anéis desnudados da veia umbilical humana (VUH) de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG; *n* = 13) e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG; *n* = 10). 49

Figura 2: Efeito vasorrelaxante do eucaliptol (EUC) no acoplamento eletromecânico e farmacomecânico em preparações desnudadas de veia umbilical humana (VUH) de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG) e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG). 50

Figura 3: Efeito do eucaliptol (EUC) nas contrações induzidas por cloreto de bário ($BaCl_2$) e cloreto de cálcio ($CaCl_2$) em preparações desnudadas de veia umbilical humana (VUH) previamente despolarizadas por cloreto de potássio (KCl; 60 mM). 51

Figura 4: Efeito relaxante do eucaliptol (EUC) em anéis desnudados de veia umbilical humana (VUH) na presença de bloqueadores de canais de potássio: 4-aminopiridina (4-AP; 1 mM), glibenclamida (GLI; 10 µM), tetraetilamônio (TEA; 1 mM), e cloreto de bário ($BaCl_2$; 500 µM). 52

Figura 5: Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos do eucaliptol sobre o tônus basal e ativo das veias umbilicais humanas desnudadas. 56

Tabela S1: Parâmetros farmacodinâmicos do eucaliptol (EUC) na presença de diferentes agentes contráteis em veias umbilicais humanas (VUH) desnudadas de parturientes normoglicêmicas (NG) e parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (DMG). 63

Figura S1: Reversibilidade do efeito do eucaliptol (EUC) no tônus basal de anéis desnudados de veia umbilical humana (VUH) após lavagem. **(A)** Traçado original demonstrando a reversibilidade do EUC no tônus basal de VUH desnudadas de parturientes normoglicêmicas. **(B)** Traçado original demonstrando a reversibilidade do EUC no tônus basal de VUH desnudadas de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional. K60 (cloreto de potássio; 60 mM). 63

Capítulo III

Figura 1: Gráfico representativo do efeito do EUC (1 - 3000 μM) no tônus basal da Artéria Umbilical Humana (AUH) de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes gestacional (AUH-DMG). 71

Figura 2: Efeito vasorrelaxante do Eucaliptol (EUC) sobre o acoplamento eletromecânico e farmacomecânico em preparações de Artéria Umbilical Humana (AUH) de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes gestacional (AUH-DMG). 72

Figura 3. Efeito do Eucaliptol (EUC) sobre contrações induzidas por Ba^{2+} ($BaCl_2$) e Ca^{2+} ($CaCl_2$) em preparações de Artéria Umbilical Humana (AUH) previamente despolarizadas por K^+ (KCl 60 mM). 73

Figura 4: Efeito relaxante do Eucaliptol (EUC) em presença de bloqueadores de canais de K^+: TEA (1 mM), 4-AP (1 mM), $BaCl_2$ (1 mM) e GLI (10 μM). 74

Tabela 1: Parâmetros farmacodinâmicos do eucaliptol (1 μmol/L a 1 mmol/L) na presença de diferentes agentes contráteis da artéria umbilical humana. 75

Figura 5: Imagem tridimensional do canal BKCa e cavidades previstas (A); Local de ligação do eucaliptol (B); Local de ligação do tetraetilamônio (C). 76

Figura 6: Imagem tridimensional do canal K_V e cavidades previstas com valores de volume (em $Å^3$), superfície ($Å^2$) e profundidade (Å) destacados (A); Local de ligação do eucaliptol (B); Local de ligação da 4-aminopiridina (C). 76

Tabela 2: Energia de afinidade, RMSD e tipos de interações formadas entre ligantes e receptors. 77

Figura S1: Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos do eucaliptol sobre o tônus basal e ativo de artérias umbilicais humanas desnudadas. 93

Símbolo, sigla ou abreviatura	Significado
$4Ca^{2+}CaM$	Complexo Cálcio Calmodulina
5-HT	5-hidroxitriptamina (serotonina)
ANOVA	Análise de Variância
AUH	Artéria Umbilical Humana
$Ca^{2+}{}_{v}$	Canais de Cálcio Dependente de Voltagem
Ca^{2+} -ATPase	Proteína Cálcio ATPase
CaM	Calmodulina
cAMP	Monofosfato de adenosina cíclico
CCOV	Canais para cálcio operados por voltagem
CCOR	Canais para cálcio operados por receptor
CE_{50}	Concentração de uma substância que inibe 50% do efeito produzido por um agonista
CML	Células Musculares Lisas
CONCEA	Concelho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CUH	Cordão Umbilical Humano
DM	Diabetes *Mellitus*
DMG	Diabetes *Mellitus* Gestacional
DMT	Diabetes *Mellitus* Tipo 1
DMT2	Diabetes *Mellitus* Tipo 2
E.P.M	Erro Padrão da Média
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
FRDRs	Fatores Relaxantes Derivados do Endotélio
IDF	Federação Internacional de Diabetes
GPCRs	Receptores Acoplados a Proteína G
HEPES	Ácido 4-2-idrossietil-1-piparazinil-etansolfônico
IL	Interleucinas
IPP	Pirofosfato de Isopentenilo
IP_3	Inositol Trifosfato
IP_{3R}	Receptores de Inositol Trifosfato
KCl	Cloreto de Potássio
VOCC	Canais de Cálcio tipo L

MLCK	Kinase de Cadeia Leve de Miosina
MLCP	Fosfatase de Cadeia Levede Miosina
N	Número de experimentos realizados
Na^+ /K^+	Bomba de Sódio e Potássio
NO	Óxido Nítrico
NP	Peptídeos Natriuréticos
RYr	Receptores de Rianodina
SOCC	Canal de Cálcio Operado por Estoque
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral α
TGF-β	Fator de Crescimento Transformador β
TRP	Receptores de Potencial Transiente
VOCCs	Canais de Cálcio Dependente de Voltagem
VUH	Veia Umbilical Humana

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....17
1.1 Objetivos e questionamentos.....17
1.2 Estratégia de pesquisa.....19
1.3 Estrutura da tese.....21
2.OBJETIVOS.....23
2.1 Objetivo geral.....23
2.2 Objetivos específicos.....23
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....24
3.1 Alterações fisiopatológicas associadas ao diabetes.....24
3.2 Produtos naturais e terpenos 26
3.2.1 Eucaliptol 28
3.3 Morfologia do cordão umbilical humano.....30
3.3.2 Artéria umbilical humana.....33
3.3.3 Veia umbilical humana.....34
3.3.4 Acoplamento excitação-contração em vasos do cordão umbilical humano.....36
2.4 *Docking* molecular e estudos *in silico* no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos.....43
4. ARTIGO 1: Eucaliptol (1,8-cineol) relaxa veias umbilicais humanas de parturientes normoglicêmicas e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional por meio da modulação de canais iônicos: Um estudo *ex vivo*.....45
5. MANUSCRITO 1: Atividade vasorrelaxante do eucaliptol (1,8-cineol) em preparações *ex vivo* e *in silico* de artéria umbilical humana na ausência e presença de diabetes *mellitus* gestacional.....64
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....94
6.1 Aspectos gerais da produção científica.....94
6.2 Conclusões gerais.....98
6.3 Perspectivas de investigações futuras.....99
7 REFERÊNCIAS.....100
8 ANEXOS E APÊNDICES.....130

EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO *ex vivo* E *in silico*

RESUMO

Introdução: A diabetes *mellitus* gestacional (DMG), intolerância à glicose com início na gestação, associa-se à disfunção endotelial, estresse oxidativo e alterações da reatividade vascular materno-fetal. Tais alterações podem modificar a reatividade e o tônus vascular da circulação fetoplacentária. Embora o tratamento da DMG tenha como foco o controle da glicemia materna, ele não corrige diretamente a disfunção endotelial e as alterações vasculares associadas, reforçando a importância da investigação da reatividade vascular e da identificação de novas moléculas com potencial terapêutico. O eucaliptol (EUC, 1,8-cineol), por sua vez, é um monoterpeno com propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e vasodilatadoras descritas em modelos experimentais. Entretanto, seus efeitos diretos sobre artérias (AUH) e veias umbilicais humanas (VUH), particularmente em condições de DMG, permanecem pouco explorados. **Objetivo**: Avaliar a atividade vasorrelaxante do eucaliptol em vasos do cordão umbilical humano provenientes de parturientes com e sem DMG. **Metodologia**: Segmentos de AUH e VUH foram isolados, seccionados em anéis (3-4 mm) e montados em banho de órgãos contendo solução de Krebs-Henseleit (37 °C; pH 7,4) sob mistura carbogênica. Foram utilizados 60 cordões, sendo 32 de gestações normoglicêmicas e 28 de parturientes com DMG. As preparações foram contraídas com KCl (60 mM) ou serotonina (5-HT, 10 μM), e subsequentemente expostas ao EUC (1-3000 μM). Ensaios adicionais foram realizados na presença de bloqueadores de canais de K^+ (TEA 1 mM, 4-AP 1 mM, Glibenclamida 10 μM e $BaCl_2$ 500 μM); e em meio livre de Ca^{2+} com pré-incubação do EUC e subsequente contração por $BaCl_2$ ou $CaCl_2$, (0,1-30 mM). Simulações *in silico* (AutoDock Vina) avaliaram a interação do EUC com receptores serotoninérgicos e canais iônicos. **Resultados**: O EUC promoveu relaxamento completo (100%) em AUH e VUH de ambos os grupos experimentais. Nas AUH-NG, as CE_{50} foram de 928,69 ± 3,81 μM (K^+) e 512,37 ± 5,24 μM (5-HT), enquanto nas VUH os valores foram de 538,41 ± 6,20 μM (K^+) e 744,38 ± 5,78 μM (5-HT). Já nas preparações de parturientes com DMG, observou-se aumento das CE_{50} nas artérias (1528,46 μM ± 5,75 e 1279,48 ± 1,71 μM) e redução moderada nas veias (403,77 ± 4,95 μM e 626,02 ± 5,47 μM. Em solução livre de Ca^{2+}, o EUC manteve seu efeito relaxante, inibindo significativamente as contrações induzidas por $CaCl_2$ e $BaCl_2$, principalmente em VUH-NG, o que sugere bloqueio de canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo L (VOCC-L). A presença de bloqueadores de canais de K^+ reduziu o relaxamento, apontando a possível participação de canais BK_{Ca}, K_{ATP}, Kv e K_{IR}. Em AUH-NG, o bloqueio aumentou os valores de CE_{50}, reafirmando sugestivamente a participação dessas vias. Já em AUH-DMG, observou-se redução das CE_{50}, sugerindo uma adaptação compensatória da atividade dos canais de K^+ sob condição hiperglicêmica. O *docking* molecular mostrou baixa afinidade do EUC pelos receptores serotoninérgicos, tornando improvável sua atuação direta como bloqueador desses receptores. Em contrapartida, o EUC exibiu maior afinidade pelos canais de potássio BK_{Ca} e Kv. **Conclusão**: O EUC promove vasorrelaxamento em vasos umbilicais humanos possivelmente por meio do bloqueio de canais de Ca^{2+} do tipo L e da ativação de canais de K^+, mecanismos que permanecem parcialmente preservados na DMG.

Palavras-Chave: Canais de Cálcio tipo L; Diabetes *mellitus* gestacional; Vasorrelaxamento; Eucaliptol.

Agradecimentos: NEPET, CEPB, CNPq e FAPEG.

EUCALYPTOL (1,8-CINEOL) PROMOTES VASORELAXATION IN HUMAN UMBILICAL ARTERIES AND VEINS OF NORMOGLYCEMIC AND GESTATIONAL DIABETES *MELLITUS* PARTURIENTS THROUGH THE INVOLVEMENT OF ION CHANNELS IN EX VIVO AND IN SILICO STUDIES

ABSTRACT

Introduction: Gestational diabetes mellitus (GDM), glucose intolerance with onset during pregnancy, is associated with endothelial dysfunction, oxidative stress, and alterations in maternal-fetal vascular reactivity. Such changes can modify the reactivity and vascular tone of the fetoplacental circulation. Although GDM treatment focuses on controlling maternal glycemia, it does not directly correct endothelial dysfunction or the associated vascular alterations, underscoring the importance of investigating vascular reactivity and identifying new molecules with therapeutic potential. Eucalyptol (EUC, 1,8-cineole) is a monoterpene with anti-inflammatory, antioxidant, and vasodilatory properties described in experimental models. However, its direct effects on human umbilical arteries (HUA) and veins (HUV), particularly under GDM conditions, remain poorly explored. **Objective**: To evaluate the vasorelaxant activity of eucalyptol in human umbilical cord vessels obtained from women with and without GDM. **Methodology**: HUA and HUV segments were isolated, cut into rings (34 mm), and mounted in organ baths containing Krebs-Henseleit solution (37°C; pH 7.4) aerated with carbogen. Sixty umbilical cords were used: 32 from normoglycemic pregnancies and 28 from women with GDM. The preparations were contracted with KCl (60 mM) or serotonin (5-HT, 10 μM) and subsequently exposed to EUC (1-3000 μM). Additional assays were performed in the presence of K^+ channel blockers (TEA 1 mM, 4-AP 1 mM, glibenclamide 10 μM, and $BaCl_2$ 500 μM). and in a Ca^{2+}-free medium with pre-incubation with EUC and subsequent contraction induced by $BaCl_2$ or $CaCl_2$ (0.1-30 mM). In silico simulations (AutoDock Vina) evaluated the interaction of EUC with serotonergic receptors and ion channels. **Results**: EUC induced complete relaxation (100%) in AUH and VUH from both experimental groups. In AUH-NG, the EC_{50} values were 928.69 ± 3.81 μM (K^+) and 512.37 ± 5.24 μM (5-HT), whereas in VUH, the values were 538.41 ± 6.20 μM (K^+) and 744.38 ± 5.78 μM (5-HT). In preparations from parturients with GDM, an increase in EC_{50} values was observed in arteries (1528.46 μM ± 5.75 and 1279.48 ± 1171 μM), alongside a moderate reduction in veins (403.77 ± 4.95 μM and 626.02 ± 5.47 μM). In Ca2+-free solution, EUC maintained its relaxing effect, significantly inhibiting contractions induced by $CaCl_2$ and $BaCl_2$, particularly in VUH-NG, suggesting a blockade of L-type voltage-operated calcium channels (VOCC-L). The presence of K+ channel blockers reduced relaxation, indicating the possible involvement of BK_{Ca}, K_{ATP}, Kv, and K_{IR} channels. In AUH-NG, this blockade increased EC_{50} values, further suggesting the involvement of these pathways. Conversely, in AUH-GDM, a reduction in EC_{50} values was observed, suggesting a compensatory adaptation of K^+ channel activity under hyperglycemic conditions. Molecular docking revealed low affinity of EUC for serotonin receptors, making direct action as a receptor blocker unlikely. In contrast, EUC exhibited higher affinity for BKCa and Kv potassium channels. **Conclusion**: EUC promotes vasorelaxation in human umbilical vessels, possibly through the blockade of L-type Ca^{2+} channels and the activation of K^+ channels-mechanisms that remain partially preserved in GDM.

Keywords: L-type calcium channels; Gestational diabetes mellitus; Vasorelaxation; Eucalyptol.
Acknowledgements: NEPET, CEPB, CNPq e FAPEG.

IMPORTÂNCIA/RELEVÂNCIA PARA A SOCIEDADE

O eucaliptol é um composto natural presente no eucalipto e conhecido por apresentar diferentes propriedades biológicas, incluindo ações anti-inflamatória, antioxidante e broncodilatadora. Neste estudo, investigamos sua ação sobre os vasos sanguíneos do cordão umbilical humano e observamos que o eucaliptol promoveu relaxamento vascular em condições experimentais. Esse achado é relevante porque a adequada regulação do fluxo sanguíneo é fundamental durante a gestação, especialmente em condições como o diabetes *mellitus* gestacional, que pode estar associado a alterações vasculares e complicações maternas e fetais. Os resultados contribuem para ampliar o conhecimento sobre os efeitos vasculares do eucaliptol e podem estimular novas pesquisas sobre seu potencial, embora ainda sejam necessários estudos que avaliem seus mecanismos de ação e segurança antes de qualquer aplicação terapêutica.

1.1 OBJETIVOS E QUESTIONAMENTOS

A diabetes *mellitus* gestacional (DMG) é definida como qualquer grau de intolerância à glicose, com início ou primeiro reconhecimento durante a gestação (McIntyre *et al*., 2019). Segundo a Federação Internacional de Diabetes (2021), cerca de 14% das gestações em 2021 apresentaram complicações associadas à DMG, o que a caracteriza como um importante problema de saúde pública global. Na América do Sul, a prevalência estimada de DMG foi de 10,4%. No Brasil, entretanto, estudos apontam taxas mais elevadas, alcançando até 20,8%. No Nordeste brasileiro, a prevalência agrupada foi de 11%, destacando-se a grande variabilidade entre os estudos realizados na região (Mocellin *et al*., 2024).

Além disso, a prevalência da doença em questão está aumentando (Gyasi-Antwi *et al*., 2020), em parte devido ao aumento das taxas de obesidade (Kim *et al*., 2010a) e estilo de vida pouco saudável (Günther *et al*., 2022). Além disso, aspectos biológicos também contribuem para o desenvolvimento da DMG, incluindo predisposição genética (Xie *et al*., 2019) e idade materna avançada (Carola *et al*., 2012).

As complicações associadas ao DMG envolvem tanto desfechos maternos quanto neonatais. Entre as repercussões maternas, destacam-se a maior necessidade de parto cesáreo (Ovesen *et al*., 2015), o aumento do risco de desenvolvimento de diabetes *mellitus* tipo 2 ao longo da vida (Ben-Haroush, Yogev e Hod, 2004) e a maior predisposição a doenças cardiovasculares em longo prazo (Bo *et al*., 2007; Jensen, Chik e Ryan, 2016). No contexto fetal e neonatal, a exposição intrauterina à hiperglicemia pode contribuir tanto para a restrição do crescimento intrauterino (Fasoulakis *et al*., 2023) quanto para a macrossomia, caracterizada por recém-nascidos grandes para a idade gestacional (Ovesen *et al*., 2015), além de aumentar o risco de hipoglicemia neonatal (Voormolen *et al*., 2018; Kole *et al*., 2020).

Paralelamente, é importante considerar que a DMG também induz alterações na vasculatura umbilical, a qual desempenha funções vitais para a vida fetal (Ferguson e Dodson, 2009). Evidências apontam alterações histomorfológicas na estrutura do cordão umbilical, como espessamento da parede vascular (Kadivar *et al*., 2020), redução do lúmen arterial e venal, desorganização das camadas da túnica média (Ennazhiyil *et al*., 2025), aumento do conteúdo de colágeno na matriz extracelular (Amrithraj *et al*., 2017), bem como alterações no volume e na integridade da geleia de Wharton (Weissman e Jakobi, 1997; Ennazhiyil *et al*., 2025; Hai-Tao *et al*., 2021). Diante disso, torna-se

importante compreender o comportamento do tônus vascular em mulheres acometidas por essa condição, de modo a possibilitar a antecipação e a mitigação de potenciais complicações.

No manejo clínico da DMG, as abordagens terapêuticas são predominantemente direcionadas ao controle metabólico, visando principalmente à redução da glicemia materna por meio de orientação nutricional e controle glicêmico com dieta (Rasmussen *et al*., 2020) e, quando necessário, pelo uso de insulina (Wong e Jalaludin, 2011; Hashimoto e Koga, 2015), metformina ou glibenclamida. Entretanto, essas estratégias atuam essencialmente no controle glicêmico, não abordando diretamente possíveis alterações vasculares associadas à DMG. A persistência dessas alterações pode contribuir para o desenvolvimento de complicações gestacionais, como a pré-eclâmpsia (Barden *et al*., 2004; Hildén *et al*., 2023).

Nesse cenário, a DMG impõe desafios aos sistemas de saúde, uma vez que demanda abordagens integradas que conciliem a eficácia terapêutica e a segurança fetal (Nielsen, De Courten e Kapur, 2012; Kelley, Carroll e Meyer, 2015; Hur *et al*., 2021; Haschka *et al*., 2022). Essa complexidade evidencia a necessidade de ampliar o escopo das investigações para além do controle glicêmico, considerando os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, especialmente aqueles relacionados à função vascular. Nesse contexto, a investigação de substâncias bioativas em vasos umbilicais humanos surge como uma estratégia relevante para a identificação de moléculas com atividade farmacológica e preventivo frente às alterações vasculares associadas à DMG.

Ademais, pesquisas investigam os efeitos de hormônios endógenos, como progesterona, andrógenos e progestinas, na modulação da reatividade desses vasos (Perusquía *et al*., 2007; He *et al*., 2016). Concomitantemente, tem crescido o interesse pela exploração de produtos naturais como alternativas terapêuticas, dada a ampla diversidade químico-biológica dos metabólitos secundários vegetais (Lautié *et al*., 2020). A literatura descreve diversos compostos naturais com propriedades vasorrelaxantes em modelos animais, incluindo terpenos (Peixoto-Neves *et al*., 2010), flavonoides (Sun *et al*., 2013), alcaloides (Liew *et al*., 2012), cumarinas (Xu *et al*., 2010) e saponinas (Haq *et al*., 2021).

Ainda, estudos como os de Leung *et al*. (2006), Mohammed *et al*. (2017), Britto-Júnior *et al*. (2021), Đukanović *et al*. (2022), Pereira-de-Morais *et al*. (2023), Silva *et al*. (2024) e Lei *et al*. (2025) têm buscado elucidar os mecanismos e as substâncias que possam regular a vasoatividade dos vasos umbilicais. Moléculas como o metil-eugenol e o eugenol (Silva *et al*., 2020; Menezes Dantas *et al*., 2022), o óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Borges *et al*., 2022) e o farnesol (Batista *et al*., 2023a, 2023b) demonstram efeitos vasorrelaxantes, reforçando a validade dos vasos umbilicais humanos como modelo experimental sensível para a investigação da contratilidade vascular e da bioatividade de novos agentes terapêuticos. Entretanto, os estudos envolvendo produtos naturais com potencial vasorrelaxante em mulheres acometidas pela DMG ainda são escassos.

Apesar disso, a lacuna permite a condução e o aprofundamento de estudos voltados à compreensão das respostas vasculares desse tecido específico. Nesse sentido, investigar como os vasos respondem à ação de moléculas naturais bioativas com atividade farmacológica pode contribuir para o desenvolvimento de intervenções naturais voltadas à prevenção ou atenuação de complicações associadas à DMG (Xu, Xi e Qian *et al*., 2019).

Destaca-se entre os compostos de interesse o monoterpeno Eucaliptol (EUC) também conhecido como 1,8-cineol (1,3,3-trimetil-2-oxabiciclo[2.2.2]octano), presente em óleos essenciais de espécies vegetais, como *Eucalyptus globulus,* planta popularmente conhecida como eucalipto (Horváth *et al*., 2013). Segundo Lahlou *et al.* (2002), o EUC promove relaxamento em leitos vasculares isolados de ratos, sugerindo um possível efeito direto sobre a musculatura lisa. Além disso, a substância tem sido amplamente estudada por suas propriedades gastroprotetora (Santos e Rao, 2001), anti-inflamatória, analgésica (Yin *et al*., 2020) e broncodilatadora (Galan *et al*., 2020), o que reforça sua atividade farmacológica multifuncional. Entretanto, até o momento, não há descrições na literatura acerca dos efeitos diretos do eucaliptol sobre vasos do cordão umbilical humano.

Diante dessas evidências, levanta-se a hipótese de que o EUC seja capaz de promover relaxamento da musculatura lisa dos vasos umbilicais humanos, envolvendo mecanismos relacionados à regulação dos íons Ca^{2+} e à participação de canais de K^{+}, com possíveis diferenças entre artérias e veias umbilicais e entre tecidos provenientes de gestantes com e sem DMG.

À luz do exposto, as produções científicas derivadas desta tese consistirão em relatos inéditos da influência de produtos naturais em vasos umbilicais humanos acometidos por DMG, podendo fornecer novos caminhos para terapias naturais com potencial para melhorar os desfechos maternos e oferecer novas perspectivas para o cuidado de gestantes afetadas.

1.2 ESTRATÉGIAS DA PESQUISA

Esta pesquisa foi estruturada para responder aos questionamentos e objetivos propostos, adotando uma abordagem quantitativa, de caráter experimental e finalidade explicativa. O estudo foi desenvolvido em laboratório, mediante a realização de procedimentos experimentais destinados à investigação dos fenômenos de interesse.

Para a obtenção dos tecidos, optou-se pelo cordão umbilical humano, modelo experimental relevante para investigar a fisiologia vascular fetal, dada sua acessibilidade e representatividade das condições hemodinâmicas durante a gestação. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA (nº parecer 6.653.278) e pela Comissão de Ética do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis (anexo 3).

Os cordões umbilicais foram coletados no Hospital e Maternidade São Francisco, localizado no bairro Pimenta, em Crato-CE. Vinculada ao Sistema Único de Saúde (SUS) e reconhecida como referência para a região do Cariri, essa maternidade foi escolhida por sua expressiva demanda de partos diários, além da proximidade física com o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis (LFCE) da URCA, o que facilita a logística de coleta e transporte das amostras.

A amostra foi composta por segmentos de cordão umbilical destinados ao descarte biológico, coletados de parturientes atendidas pelo SUS no Hospital e Maternidade São Francisco. Foram incluídas mulheres entre 18 e 40 anos, com gestação a termo (37ª a 41ª semana), submetidas a parto normal ou cesáreo, com ou sem diagnóstico de DMG, que aceitaram participar mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após a coleta, os cordões foram acondicionados em solução nutritiva de Krebs modificada, mantidos refrigerados e utilizados em até 48 horas. Foram excluídas da pesquisa mulheres com doenças infecciosas, autoimunes, metabólicas ou genéticas, tabagistas, usuárias de drogas, gestantes de múltiplos, casos de natimortos, malformações congênitas, alterações feto-placentárias, além de situações clínicas que pudessem comprometer a análise, conforme critérios previamente estabelecidos.

Durante a etapa de coleta, foram observadas algumas limitações operacionais. Houve dificuldade na obtenção de amostras provenientes de gestantes sem comorbidades associadas, uma vez que grande parte das parturientes atendidas apresentava condições clínicas adicionais que se enquadravam nos critérios de exclusão do estudo. Além disso, a dependência da ocorrência de partos na unidade hospitalar resultou em períodos prolongados de espera para a obtenção das amostras, tornando a coleta irregular e condicionada à disponibilidade dos casos elegíveis.

A investigação dos efeitos vasorrelaxantes do EUC foi realizada por meio da técnica de registro de tensão isométrica em sistema de banho de órgão isolado em uma abordagem empregada para estudar a farmacodinâmica da substância sobre o músculo liso vascular. O método permite análise funcional de tecidos in vitro em condições controladas, permitindo a manutenção controlada de condições físico-químicas relevantes para viabilidade e a responsividade do tecido por meio da manutenção da temperatura, oxigenação e nutrientes essenciais (Erdogan *et al*., 2020).

Entre as principais vantagens dessa metodologia está a possibilidade de exposição direta do tecido a agentes farmacológicos (sejam eles estimulantes, bloqueadores ou relaxantes) permitindo a mensuração precisa das respostas musculares. Essa aplicação é particularmente eficaz na investigação de vias de sinalização intracelular envolvidas nos processos de contração e relaxamento vascular (Fry, 2004). Além disso, vem sendo aplicada com sucesso em modelos animais e humanos, utilizando diferentes tipos de tecidos, como anéis vasculares (Silva *et al*., 2020; Menezes Dantas *et al*., 2022; Borges *et al*., 2022; Batista *et al*., 2023a; Batista *et al*., 2023b), traqueia (Albuquerque *et al*., 2016),

segmentos intestinais (Zhao; Liao e Gregersen, 2008), bexiga (Aizawa; Natsuya e Fujita2024), útero (Silva *et al*., 2025), miocárdio (Cao-Ehlker *et al*., 2023) entre outros (Erdogan *et al*., 2020).

Assim, o protocolo experimental foi elaborado com o objetivo de investigar quais vias estão envolvidas nas respostas vasorrelaxantes observadas, considerando tanto os mecanismos eletromecânicos quanto os farmacomecânicos. A atenção foi direcionada, especialmente, para o papel dos canais iônicos, incluindo os canais de cálcio tipo L e de potássio. Para isso, foram utilizados agonistas e antagonistas específicos, permitindo identificar com maior precisão os alvos moleculares e compreender de forma mais ampla os mecanismos de ação do EUC.

Além dos experimentos realizados em laboratório, também foram conduzidos estudos *in silico*, que consistem em simulações computacionais (Claes, 2006; Raunio, 2011) para prever como o EUC pode interagir com proteínas envolvidas na contração e relaxamento do músculo liso vascular. Para isso, utilizamos a técnica conhecida como *docking* molecular, que permite estimar a afinidade e a forma como essas moléculas se encaixam em alvos específicos, como canais iônicos ou receptores que participam do controle do tônus vascular (Wu *et al*., 2020).

Os dados estruturais das proteínas foram obtidos em bancos de dados públicos, como o *Protein Data Bank* (PDB). Em seguida, as estruturas químicas dos compostos foram preparadas em *softwares* próprios para simulação. Essas análises geram resultados como a energia de ligação, que indica a força e a estabilidade dessa interação, e mostram quais partes da molécula estão envolvidas no processo (Jakher *et al*., 2020).

1.3 ESTRUTURA DA TESE

Este estudo descreve, pela primeira vez, os efeitos do EUC sobre vasos do cordão umbilical humano em situações de normoglicemia e no contexto da Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG). A partir dos dados obtidos, podemos destacar como principal achado que o EUC promove vasorrelaxamento de forma mais eficiente nas veias umbilicais em comparação às artérias. Esse efeito pode ocorrer por mecanismos distintos conforme o estado metabólico: em condições de normoglicemia, o relaxamento é possivelmente mediado pela inibição dos canais de cálcio tipo L, enquanto na presença de DMG, a resposta relaxante pode depender predominantemente da ativação dos canais de potássio. Já nas AUH, a ação do composto envolve a participação conjunta dos canais de cálcio e potássio. Os resultados desta investigação foram organizados em cinco capítulos, descritos a seguir.

O Capítulo I apresenta a fundamentação teórica que norteou este estudo, reunindo referências que nos permitiram delinear o problema, analisar os dados coletados, comparar nossos

achados com os da literatura e aprofundar a discussão dos resultados. As referências utilizadas tanto na introdução quanto na fundamentação teórica estão listadas ao final deste capítulo.

No Capítulo II, está o artigo intitulado "*Eucaliptol (1,8-cineol) relaxa veias umbilicais humanas de parturientes normoglicêmicas e de parturientes com diabetes mellitus gestacional por meio da modulação de canais iônicos: Um estudo ex vivo*", no qual analisamos a atividade do monoterpeno EUC em veias isoladas do cordão umbilical humano, avaliando tanto condições normais quanto aquelas acometidas por DMG. Este artigo encontra-se publicado na revista *Placenta*.

O Capítulo III apresenta o manuscrito "*Atividade vasorrelaxante do eucaliptol (1,8-cineol) em preparações ex vivo e in silico de artéria umbilical humana na ausência e presença de diabetes mellitus gestacional*", em que investigamos a ação do EUC em artérias isoladas do cordão umbilical humano, também considerando os grupos normoglicêmico e com DMG, permitindo assim uma análise comparativa abrangente entre os diferentes tipos de vasos. Este trabalho está submetido na revista *Current medicinal chemistry*.

O Capítulo IV traz as conclusões obtidas ao longo da pesquisa, destacando os principais resultados e interpretações. Por fim, o Capítulo V apresenta uma conclusão geral do estudo, reunindo as principais evidências e achados farmacológicos sobre o EUC em tecido vascular, além de discutir perspectivas e caminhos para investigações futuras envolvendo a ação desse monoterpeno.

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade vasorrelaxante do eucaliptol (1,8-cineol) em vasos do cordão umbilical humano provenientes de parturientes com e sem diabetes *mellitus* gestacional (DMG).

2.2. Objetivos Específicos

1. Investigar o efeito do eucaliptol (1,8-cineol) sobre o tônus basal de anéis de vasos do cordão umbilical humano, comparando os grupos com e sem DMG.

2. Avaliar o efeito do eucaliptol (1,8-cineol) nas contrações da musculatura lisa de vasos do cordão umbilical induzidas por KCl e serotonina, em parturientes com e sem DMG.

3. Verificar a influência dos canais de Ca^{2+}, incluindo os Ca^{2+} tipo L, no efeito do eucaliptol (1,8-cineol) em anéis de vasos do cordão umbilical humano, comparando os grupos com e sem DMG.

4. Investigar a participação dos canais de K^{+} no efeito do eucaliptol (1,8-cineol) sobre a musculatura lisa de vasos do cordão umbilical humano, em tecidos provenientes de parturientes com e sem DMG.

5. Realizar estudos de *docking* molecular para investigar as possíveis interações entre o eucaliptol (1,8-cineol) e proteínas-alvo relacionadas à regulação do tônus vascular.

3.1 Alterações fisiopatológicas associadas ao diabetes

A diabetes *mellitus* (DM) constitui um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por alterações no estado glicêmico, sendo a tolerância diminuída à glicose e a hiperglicemia suas principais manifestações clínicas e diagnósticas. Essas alterações decorrem de deficiência absoluta ou relativa de insulina ou, ainda, de resistência periférica à sua ação (Inzucchi, 2012). A classificação da DM baseia-se em sua patogênese, englobando quatro categorias principais: Diabetes *Mellitus* tipo 1, Diabetes *Mellitus* tipo 2, DMG e outros tipos específicos de diabetes (Maraschin, 2013), sendo que todas apresentam como características comuns a hiperglicemia e a glicosúria (Lawrence, 1955; Solis-Herrera *et al*., 2018).

Entre os processos celulares que sustentam a desregulação metabólica da DM, destaca-se a disfunção das células-β pancreáticas, a qual pode resultar de múltiplos mecanismos, incluindo a perda de fatores transducionais e de transcrição envolvidos na expressão de Pdx-1 (Kaneto *et al.,* 2008) e MafA (Harmon; Stein e Robertson, 2005), além do comprometimento das etapas de especificação das linhagens pancreáticas que culminam na formação dessas células (Robertson e Harmon, 2006). Somam-se a esses processos a ativação do fator nuclear κB (NF-κB) (Lingappan, 2018), da proteína quinase ativada por mitógeno p38 (p38 MAPK) (Yaribeygi; Atkin e Sahebkar, 2019), de receptores toll-like (TLRs) (Lin *et al.*, 2020) e a disfunção mitocondrial (Cojocaru *et al.*, 2023).

A inflamação constitui um dos principais eixos patogênicos da DM (Lontchi-Yimagou *et al.*, 2013; Tsalamandris *et al.*, 2019). Diversos biomarcadores inflamatórios são implicados na indução e na progressão da doença, destacando-se o Fator de Necrose Tumoral α (TNF-α) (Hotamisligil *et al.*, 1993; Hotamisligil *et al.*, 1995), o Fator de Crescimento Transformador β (TGF-β) (Bartolomé *et al.*, 2014; Talakatta, 2018), as interleucinas IL-1, IL-6 e IL-10 (Banerjee e Saxena, 2012), além de adipocinas como leptina (Costa Raposo; Rezende Corrêa, 2022), adiponectina (Kadowaki *et al.*, 2006), proteína quimioatraente de monócitos (Panee, 2012), resistina (Abate *et al.*, 2014) e angiotensinogênio (Correa-Rotter; Hostetter e Rosenberg, 1992). Sabe-se que esses mediadores são vasoconstritores, reduzindo o fluxo feto-placentário e elevando a pressão arterial (Ghanem e Movahed, 2007), o que acarreta prejuízos vasculares, hepáticos, renais e cerebrais (Kahhale e Francisco, 2018).

O processo inflamatório está diretamente relacionado ao estresse oxidativo (Yaribeygi; Atkin e Sahebkar, 2019), uma vez que induz a ativação de monócitos e macrófagos e promove respostas inflamatórias envolvidas na resistência à insulina e no DM (Elmarakby e Sullivan, 2012).

A hiperglicemia persistente contribui para esse processo ao estimular a produção de radicais livres, o que provoca lesão e morte das células beta pancreáticas (Luc *et al*., 2019; Lin; Zhang e Su, 2012; Baumel-Alterzon e Scott, 2022).

Nesse contexto, os efeitos vasculares da diabetes podem ser classificados em microvasculares e macrovasculares. As complicações microvasculares incluem neuropatia, retinopatia e doença renal diabética, enquanto as macrovasculares englobam cardiopatia isquêmica, doença cerebrovascular e doença arterial periférica (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2019).

No contexto de alterações metabólicas, a DMG é definida como um estado de intolerância à glicose decorrente da incapacidade do pâncreas materno em suprir as demandas crescentes de insulina impostas pela gestação, resultando em hiperglicemia detectada pela primeira vez durante a gravidez (McIntyre *et al*., 2019). A alta prevalência de DMG é impulsionada por fatores sociodemográficos (Krou *et al*., 2020), econômicos (Forssas *et al*., 2012), ambientais (Knip *et al*., 2005) genéticos (Permutt; Wasson e Cox, 2005; Pociot e Lernmark, 2016) e aumento global da obesidade, das dietas hipercalóricas e do sedentarismo (Neuenschwander *et al*., 2019). Ademais, aproximadamente 16,7% dos nascidos vivos, totalizando 21,1 milhões, foram afetados por hiperglicemia. A maioria desses casos (80,3%) resultou da DMG, enquanto 10,6% foram atribuídos a diabetes pré-existente antes da gravidez, e 9,1% foram associados ao diagnóstico de diabetes (incluindo tipo 1 e 2) durante a gestação (IDF, 2021).

O ambiente hiperglicêmico e insulinorresistente associado à DMG pode promover alterações na função vascular, envolvendo tanto o endotélio quanto o músculo liso vascular (Garg *et al*., 2017), além de modificar processos relacionados à angiogênese (Al-Ofi *et al*., 2021; Kwon *et al*., 2023) e à regulação da circulação placentária. Essas alterações podem comprometer a adaptação vascular necessária para atender às demandas aumentadas da gestação, afetando a formação, a manutenção e a funcionalidade da rede vascular placentária (Reitter *et al*., 2011; Hengst *et al*., 2025; Zhang *et al*., 2025).

Paralelamente, a disfunção endotelial pode comprometer a disponibilidade e a ação de mediadores vasodilatadores e vasoconstritores, contribuindo para alterações no controle do tônus vascular (Zhang *et al*., 2025). Esse desequilíbrio pode modificar a resposta contrátil e relaxante do músculo liso vascular, cuja atividade é regulada pela integração de sinais metabólicos, vasoativos e mecanismos celulares (Hauspurg *et al*., 2018). Entre eles, destacam-se os canais iônicos, que participam da regulação da excitabilidade e do tônus vascular e cuja atividade pode ser modificada no contexto da DMG (Spiegl *et al*., 2009; Tufiño *et al*., 2014). Além disso, a DMG está associada a complicações para o feto que incluem macrossomia, má formação, desconforto respiratório, hiperbilirrubinemia, hipocalcemia, síndrome do desconforto respiratório, policitemia (Kjos e Buchanan, 1999) e funções neurológicas deficientes (He *et al*., 2021).

Existem fármacos que podem auxiliar no controle dessas situações; a intervenção precoce e intensiva em pacientes com diabetes reduz o risco de complicações e progressão da doença (Blonde, 2005). No contexto da gestação, algumas substâncias podem ser empregadas com segurança relativa (Merrill *et al*., 2002; Binu *et al*., 2020) tais como insulina, metformina e glibenclamida (Farrar *et al*., 2017); no entanto, a escolha desses medicamentos é limitada devido a preocupações com o feto (Garovic, 2000). Além disso, ainda que existam opções de tratamento medicamentoso, vale ressaltar que a reatividade vascular da circulação fetal e materna não são idênticas (Mattos, 1997). Como resultado, o cordão umbilical humano apresenta resposta distinta e frequentemente limitada a certos agentes relaxantes, o que reforça a necessidade de cautela na seleção terapêutica para gestantes (Cohen *et al*., 1953).

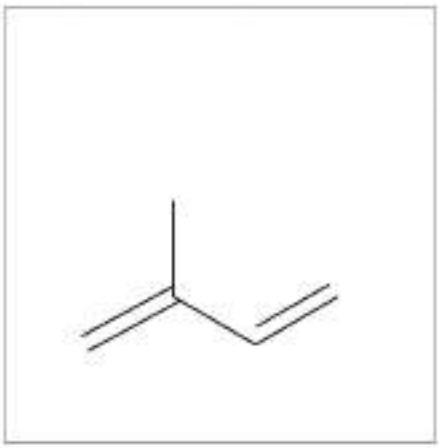
Assim, a procura por novas substâncias bioativas em vasos umbilicais é essencial para detectar possíveis alvos terapêuticos para o tratamento de complicações vasculares resultantes da DMG. Nesse âmbito, os produtos naturais têm se mostrado promissores, devido à diversidade químico-estrutural que esses compostos apresentam (Lautié *et al*., 2020).

3.2 Produtos naturais e terpenos

O interesse na investigação de produtos naturais com efeitos terapêuticos relaciona-se ao fato dessas substâncias possuírem uma vasta aplicação em processos fisiopatológicos incluindo inflamação, estresse oxidativo, infecções microbianas, distúrbios metabólicos, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer (Oliveira *et al*., 2016; Park e Jang, 2017; Mushtaq *et al*., 2018; Lichota, Gwozdzinski e Gwozdzinski. 2019; Blahova *et al*., 2021; Dantas *et al*., 2022; Sun e Shahrajabian, 2023).

As plantas medicinais despertam interesse devido ao seu potencial como fonte de moléculas bioativas relevantes para o desenvolvimento de fármacos, cujos efeitos estão associados aos metabólitos secundários produzidos por essas espécies (Verpoorte, 2000), que produz fenólicos, alcaloides, saponinas, terpenos, entre outros (Hussein & El-Anssary, 2019). Nesse ínterim, alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, taninos, antraquinonas, quinonas e saponinas, são frequentemente descritos na literatura devido às suas propriedades farmacológicas, como visto nos estudos de Ramya *et al*. (2022) e Yimam e Desalew (2022). Os terpenos ou isoprenoides são a classe mais diversificada de produtos naturais decorrentes do metabolismo secundário, com mais de 80.000 compostos já conhecidos (Christianson, 2017). Estes produtos naturais partilham o Pirofosfato de Isopentenilo (Figura 01), a unidade funcional do isopreno nos organismos vivos (Ruzicka, 1953).

Figura 01: Estrutura de isopreno, molécula base dos terpenos



Fonte: https://www.rcsb.org/ligand/CNL (2026).

A variedade estrutural dos terpenos deve-se à grande diversidade de combinações que acontece na natureza, podendo estes serem classificados quanto a unidades de cinco carbonos (C5), assim, os diferentes terpenos incluem hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e politerpenos (> C40) (Ruzicka, 1953; Brock e Dickschat, 2013).

Para produção de terpenos, existem duas rotas biossintéticas: a primeira é a rota AMV (ácido mevalônico), e a segunda é a rota MEP (metileritritol fosfato) (Dewick, 1998). Na rota AMV três moléculas de acetilcoenzima A (Acetil CoA), reagem para formar o ácido mevalônico, através dos processos de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação formando assim o IPP. Na rota no MEP, o gliceraldeído-3- fosfato e dois átomos de carbono do piruvato condensam para formar o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato, posteriormente, essa molécula é reduzida a metileritritol fosfato e convertida em DMAPP (pirofosfato de dimetilalilo) (Dewick, 1998; Henry *et al*., 2018).

Os terpenos têm atraído muita atenção devido aos seus importantes papéis como compostos de defesa ecológica (Abrahim *et al*., 2000), além da produção de aromatizantes (Gordon, 1991; Cravotto, 2007), fragrâncias (Stepanyuk e Kirschning, 2019), biocombustíveis (Zhu *et al*., 2023), alimentos (Chattopadhyay e Bhattacharyya, 2007). Os efeitos farmacológicos dessa classe de metabólitos englobam atividades antitumoral (Paduch *et al*., 2016), anti-inflamatória (Ciaglia *et al*., 2017), antiviral (Santos *et al*., 2022), antioxidante (Rajhi, 2021), sedativa, anticonvulsivante (Passos *et al*., 2009), antifúngica (Wang *et al*., 2010; Leite *et al*., 2015), inseticida (Viegas Júnior, 2003), antinociceptiva (Chirumbolo; Bjørklund, 2017; Costa *et al*., 2020), anti-hipertensiva (Kumar; Kumar e Raja Baccouri, 2010), ansiolítica (Song *et al*., 2021), antiparasitárias (Troncoso *et al*., 2023), gastroprotetora (Klopell *et al*., 2007; Andrade *et al*., 2008; Souza *et al*., 2011) e neuroprotetora (Sánchez-Martínez *et al*., 2021).

Além disso, os monoterpenos limoneno, carveol e álcool perílico apresentaram efeito vasorrelaxante em artéria isolada de ratos (Cardoso-Teixeira *et al*., 2018). Ainda, o carveol tem um efeito relaxante sobre a musculatura lisa da Artéria Umbilical Humana (AUH) (Silva *et al*., 2020). O estudo de Cardoso Lima *et al*. (2012) realizado com artéria mesentérica superior de ratos demonstrou o efeito vasorrelaxante dos monoterpenos rotundifolona, (+)-limoneno epóxido, pulegona epóxido, carvona epóxido, (+)-pulegona e (+)-limoneno. Silva *et al.* (2015) em seu estudo com Aorta isolada de ratos *Wistar* demostraram que *o p* -cimeno tem efeito vasorrelaxante dose-dependente, com envolvimento dos canais K_{IR} e $K_{ATP.}$

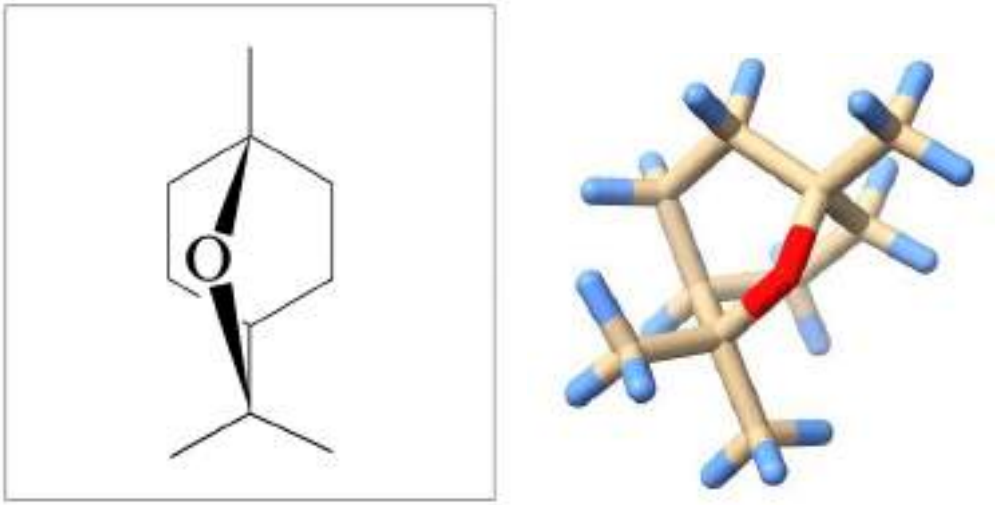
El-Bassossy, Elberry e Ghareib (2016) mostraram que o geraniol aliviou a vasoconstrição em anéis aórticos isolados de ratos *Wistar* machos portadores de DM1 e síndrome metabólica. De forma semelhante, Guedes *et al*. (2002) que a rotundifolona exerce efeito hipotensor ao diminuir a frequência cardíaca e a resistência vascular periférica, provavelmente via ativação não seletiva de receptores muscarínicos.

Além disso, estudos têm contribuído para o avanço no entendimento dos efeitos vasculares de diferentes compostos em artéria umbilical humana (AUH) e veia umbilical humana (VUH). Nesse contexto, Sena Bastos *et al.* (2024) demonstraram os efeitos do álcool perílico sobre a reatividade da AUH, enquanto Sena Bastos *et al.* (2025) investigaram a ação desse monoterpeno em VUH. Ainda, Batista *et al.* (2023a, 2023b) avaliaram os efeitos do (E,E)-farnesol sobre a musculatura lisa da AUH e da VUH. Entretanto, apesar desses avanços, ainda há ausência de investigações que explorem os efeitos de outros metabólitos, como o eucaliptol, em AUH e VUH provenientes de parturientes acometidas por DMG.

3.2.1 Eucaliptol

O eucaliptol (EUC; 1,3,3-trimetil-2-oxabiciclico[2.2.2]octano) ou 1,8- cineol, é um monoterpeno de fórmula molecular $C_{10}H_{18}O$ e peso molecular 154,25 g/mol (Figura 02). O composto apresenta-se como um líquido incolor, pouco solúvel em água. É opticamente inativo e apresenta ponto de fusão de 1 - 2 °C e ebulição entre 176 - 177 °C (Sigma-Aldrich, 2023; Pubchem, 2023).

Figura 02: Estrutura química do Eucaliptol



Fonte: https://www.rcsb.org/ligand/CNL (2026)

O EUC foi encontrado majoritariamente nas espécies *Eucalyptus globulus* Labill, (Horváth *et al*., 2013), *Melaleuca alternifolia* (Carson e Riley, 2001) e em *Lavandula spica* Mill. (Maga *et al*., 2000). Como característica marcante, o EUC apresenta um odor característico e semelhante ao da cânfora (Akhtar *et al*., 2011), por este motivo é muito utilizado como um dos principais ingredientes de perfumaria (Leelaphiwat *et al*., 2012), alimentos, bebidas (Bhowal e Gopal, 2015) e como visto nos estudos de Seol e Kim (2016), Jiang *et al*. (2019); Mishra *et al*. (2021), possui potencial para produção de produtos farmacêuticos.

Evidencia-se sua aplicação no tratamento de doenças das vias aéreas (Koennecke *et al*., 2018), além de efeitos gastroprotetores (Santos; Rao, 2001) e anti-inflamatória em modelo de ratos (Yin *et al*., 2020). Também demonstra atividade analgésica (Yin *et al*., 2020), broncodilatadora (Galan *et al*., 2020); antidiarreica (Jalilzadeh-Amin e Maham, 2015); antiespasmódica (Zavala-Mendoza *et al*., 2016), antimicrobiana (Moo *et al*., 2021) e pró-oxidante (Dörsam *et al*., 2015). Complementarmente, Bahrami; Yaghmaei e Yousofvand (2023) mostram que sua combinação com ibuprofeno exerce efeitos antioxidantes e ansiolíticos em ratos.

Lahlou *et al*. (2002) mostraram que o EUC (0,006–2,6 mM) reduz, de forma dependente da concentração, a contração induzida por K^+ em aorta isolada de ratos. Em cobaias, o composto relaxou as vias aéreas, diminuindo a hiperresponsividade ao KCl e ao carbacol, e controlando parcialmente o efeito da acetilcolina em altas concentrações, indicando ação no acoplamento eletromecânico (Bastos *et al*., 2009). Ainda, diminuiu, *in vivo*, a resistência brônquica em ratos com eficácia semelhante ao fenoterol, relaxando o músculo liso por um mecanismo inespecífico (Nascimento *et al*., 2009). Esses achados sustentam a participação de canais iônicos na ação do composto, especialmente dos VOCC-L, cuja modulação tem sido demonstrada em diferentes modelos experimentais. Evidências adicionais

indicam que essa ação pode se estender a outros canais de Ca^{2+}, bem como a canais de K^+, incluindo Kv e BK_{Ca}, e de Na^+, sugerindo que os efeitos do EUC sobre a excitabilidade celular envolvem a modulação de diferentes componentes da sinalização iônica (Bastos *et al*., 2009; Takaishi *et al*., 2012; Zeraatpisheh; Vatanparast, 2015; Ferreira-da-Silva *et al*., 2015; Jiang *et al*., 2016).

Além de ser uma molécula com vasto cenário de aplicabilidade, o EUC é considerado seguro (Xu *et al*., 2014) e não mutagênico em ensaios *in silico* (Gomes *et al*., 2020). De Vincenzi *et al*. (2002) mostrou que a administração de 28 doses consecutivas do EUC causou pequenas alterações histológicas no fígado e rins de camundongos. Ademais, Bezerra *et al.* (2023) expôs que a administração do EUC (2000 mg/kg, v.o.), levou a uma discreta redução da atividade central em modelo de camundongo.

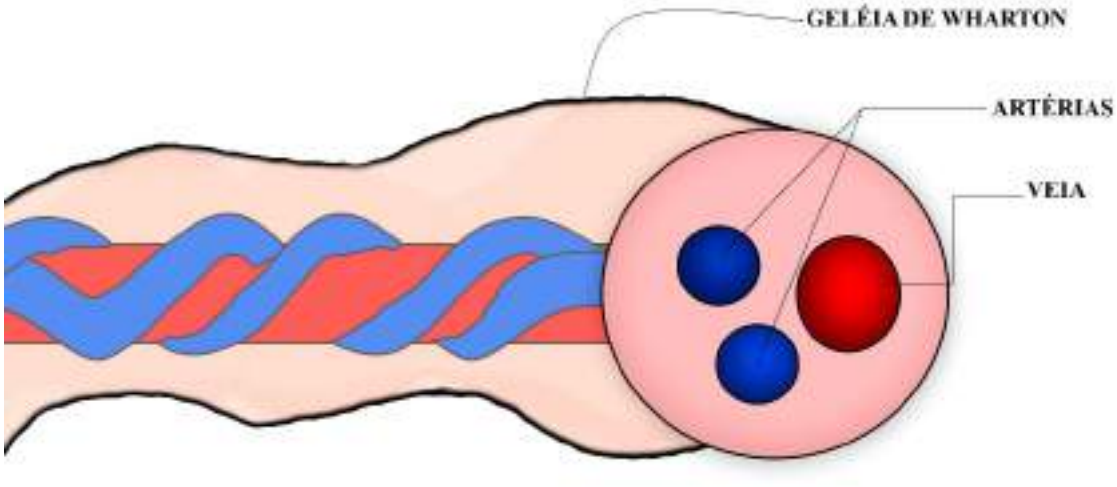
Nos estudos de Caldas *et al*. (2016) o EUC mostrou alterações ocasionais em ratos de ambos os sexos visto em parâmetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos. No entanto, estas alterações mostraram-se pouco relevantes clinicamente. No estudo relativo à toxicidade reprodutiva, em que verificou o efeito da administração oral do EUC (250- 1000 mg/kg) em ratas prenhes, o composto produziu uma redução no peso corporal em ratas tratadas. Apenas doses mais altas induziram uma redução na massa dos fetos (pré-implantação) e fetos mortos (pré-implantação e organogênese).

Apesar dessas observações, o EUC efeitos sobre a reatividade de vasos isolados de ratos, sugerindo um possível efeito direto sobre a musculatura lisa vascular. Entretanto, até o momento, não há relatos que investiguem seus efeitos em vasos humanos, particularmente em AUH e VUH, tecidos que ainda carecem de estudos mais aprofundados.

3.3 Morfologia do cordão umbilical humano

O cordão umbilical humano (CUH) começa a se desenvolver aproximadamente na quinta semana após a concepção, completando sua formação por volta da 12ª semana gestacional (Spurway; Logan e Pak, 2012). Seu desenvolvimento ocorre em três etapas que acompanham o processo de gastrulação: inicialmente forma-se o anel umbilical primitivo, seguido pelo CUH primitivo e, por fim, pelo CUH definitivo (Basta e Lipsett, 2022). O comprimento do CUH pode variar (Dias e Kore, 2023), embora, geralmente, apresente cerca de 50 cm de comprimento e aproximadamente 2 cm de diâmetro (Di Naro *et al*., 2001a). Estruturalmente, é constituído por duas artérias que se espiralam ao redor de uma veia, todas envolvidas pela geleia de Wharton (Fahmy, 2018) (Figura 03).

Figura 03. Representação ilustrativa do cordão umbilical humano



Fonte: Autora (2026).

A geleia de Wharton é um tecido conjuntivo mucoso localizado entre o epitélio amniótico e os vasos umbilicais, envolvendo e fornecendo suporte estrutural às estruturas vasculares. Sua principal função é conferir proteção mecânica aos vasos, reduzindo os efeitos de compressão, torção e flexão e contribuindo para a manutenção da integridade e da patência vascular durante a gestação (Can e Karahuseyinoglu, 2007; Ferguson e Dodson, 2009). Sua composição e espessura podem variar em associação com o crescimento e a expansão dos vasos umbilicais, constituindo uma adaptação estrutural importante para a sustentação da circulação fetoplacentária (Debebe *et al*., 2020).

A geleia de Wharton está localizada entre o epitélio amniótico, sua principal função é proteger os vasos contra compressão, torção e flexão, garantindo o fluxo sanguíneo entre as circulações materno-fetal (Can e Karahuseyinoglu, 2007; Ferguson e Dodson, 2009). Atua também na regulação da contratilidade e do relaxamento vascular, como demonstrado por estudos clássicos (Takechi; Kuwabara e Mizuno, 1993), sua espessura pode variar em resposta à expansão dos vasos sanguíneos, uma adaptação que contribui para a manutenção da saúde vascular (Debebe *et al*., 2020).

Considerando sua relevância estrutural e funcional, alterações no CUH podem acarretar o aparecimento de complicações (Proctor *et al*., 2013; Debebe *et al*., 2020). Cordões mais finos foram correlacionados a um aumento do risco de restrição do crescimento (Di Naro *et al*., 2001b), sofrimento fetal (Sarikaya *et al*., 2023) e pré-eclâmpsia (Raio *et al*., 2002). Em equivalência, estudos indicam um aumento na espessura do CUH em fetos de mães com diabetes gestacional (Binbir *et al*., 2012).

Os vasos sanguíneos exercem inúmeras funções no organismo, sendo responsáveis pelo fornecimento constante de nutrientes e oxigênio tecidos e órgãos e remoção de resíduos (Eble e Niland, 2009). No CUH, as AUH conduzem o sangue pouco oxigenado do feto em direção a placenta, enquanto a VUH transporta sangue oxigenado das vilosidades coriônicas da placenta onde ocorrem

as trocas gasosas (Goplerud e Delivoria-Papadopoulos, 1985; Yampolsky *et al*., 2008; Ferguson e Dodson, 2009).

Esses vasos apresentam diferenças estruturais e funcionais que contribuem para características distintas de reatividade vascular. As AUH possuem parede mais espessa e maior proporção de músculo liso, enquanto a VUH apresenta menor muscularização; entretanto, essa diferença estrutural não implica necessariamente menor reatividade, uma vez que a VUH pode apresentar respostas contráteis superiores às da AUH diante de determinados estímulos, como 5-HT, U46619 e KCl. Essa diferença pode estar relacionada, entre outros fatores, a particularidades no manejo intracelular de Ca^{2+} e na sinalização contrátil, contribuindo para que a resposta a diferentes substâncias vasoativas varie entre AUH e VUH em decorrência das características estruturais e funcionais próprias de cada vaso (Peyter *et al*., 2024).

Em ambos os vasos, o Ca^{2+} constitui elemento central para a contração das células musculares lisas, enquanto os canais de K^+ participam da determinação do potencial de membrana e, consequentemente, da atividade dos canais de Ca^{2+} (Ghosh *et al*., 2017). Tanto na AUH quanto na VUH, canais de K^+ participam da regulação da reatividade vascular, incluindo canais Kv, BK_{Ca} e K_{ATP}, embora a caracterização e a contribuição funcional de cada subtipo possam variar entre os vasos. Na AUH, também há evidências para a presença de canais K_{IR} e K_{2P} (Lorigo; Oliveira; Cairrao, 2020), enquanto, na VUH, a participação de canais K_{ATP} (Djokic *et al*., 2019) e Kv foi demonstrada no músculo liso vascular, inclusive em estudos envolvendo DMG (Djokic *et al*., 2023).

Ademais, a pressão arterial nos vasos umbilicais é relativamente baixa em comparação com a pressão arterial sistêmica típica. Em um feto saudável, a pressão arterial média nas AUH é geralmente em torno de 88 mmHg (milímetros de mercúrio) e a venosa 41 mmHg (Malpas e Symonds, 1967). Comparativamente, a pressão arterial sistêmica em adultos saudáveis é geralmente medida em torno de 120/80 mmHg (Desai, 2020). Essas diferenças refletem a organização própria da circulação fetal, na qual a placenta atua como órgão responsável pelas trocas gasosas e de nutrientes entre os compartimentos materno e fetal, enquanto o coração fetal impulsiona o sangue pela circulação fetal e através dos vasos umbilicais (Schneider, 2011).

De acordo com Can e Karahuseyinoglu (2007) estudos com o CUH não eram populares nas décadas de 70 e 80, provavelmente por ser um material descartado após o parto. Entretanto, atualmente são desenvolvidas abrangentes pesquisas sobre o CUH que abordam áreas, como a medicina regenerativa (Main *et al*., 2021), terapias celulares (Zhou *et al*., 2022) e tratamento de doenças (Baharlooi *et al*., 2021). Além disso, vem destacando-se um modelo promissor para a descoberta de compostos vasoativos (Silva *et al*., 2020; Menezes Dantas *et al*., 2022; Borges *et al*., 2022; Batista *et al*., 2023a; Batista *et al*., 2023b).

3.3.2 Artéria umbilical humana

A artéria umbilical humana (AUH) é composta por três camadas concêntricas, conhecidas como túnicas (íntima, média e adventícia), que são características das paredes dos vasos sanguíneos (Meyer *et al*., 1978). Essas camadas proporcionam resistência, elasticidade e regulação funcional às artérias (Arpi, 2018). A túnica interna ou endotélio desempenha um papel importante na regulação do tônus vascular (Lüscher e Tanner, 1993; Sandoo *et al*., 2010; Mangana; Lorigo e Cairrao, 2021), essa é a camada mais próxima à luz da artéria, e consiste em uma fina porção de tecido conjuntivo e células endoteliais que revestem o interior do vaso sanguíneo (Galley e Webster, 2004).

As células endoteliais produzem e liberam mediadores vasculares, que influenciam diretamente a contração ou relaxamento das Células Musculares Lisas (CML) na camada média da parede vascular (Thiemermann, 1991; Lüscher e Noll, 1995). Um dos mediadores mais conhecidos é o Óxido Nítrico (NO), liberado pelas células endoteliais em resposta a vários fatores, como a estimulação nervosa ou a presença de substâncias específicas no sangue. Uma vez liberado, o NO atua nas CML da túnica média, induzindo a vasodilatação (Ignarro, 1989; Rees; Palmer e Moncada, 1989; Félétou; Köhler e Vanhoutte, 2012). Além do NO, como prostaglandinas e endotelinas, também desempenham papéis importantes na regulação do tônus vascular, influenciando a contração ou relaxamento das CML (Busse *et al*., 1984; Masaki, 1995; Wong *et al*., 2010).

A túnica média é composta principalmente de CML e fibras elásticas, ela é responsável pela regulação do diâmetro da artéria, controlando assim o fluxo sanguíneo. Além disso, devido à contração causada por esta camada ocorre o fechamento fisiológico das AUH (Röckelein e Schneider, 1992). Já a túnica externa, denominada adventícia, é constituída predominantemente por tecido conjuntivo, contendo fibras colágenas que fornecem suporte estrutural à parede arterial. Externamente à adventícia, encontra-se a geleia de Wharton, um tecido conjuntivo mucoso que envolve e sustenta os vasos umbilicais, conferindo proteção mecânica (Ferguson e Dodson, 2009).

A distinção principal entre a AUH e os vasos sistêmicos reside na ausência de fibras nervosas. Esta característica implica que a regulação fisiológica local do tônus vascular, responsável pelo controle da contração e relaxamento muscular, ocorre de forma independente da influência da regulação nervosa (Ferguson e Dodson, 2009). Segundo Lorigo *et al*. (2018) mesmo que ocorra uma distinção entre essas artérias, os estudos com a AUH são essenciais para analisar diversas patologias cardiovasculares e afins.

As características das AUH em diferentes contextos gestacionais têm sido amplamente investigadas. Estudos abordam, por exemplo, casos de prematuridade (Roffino *et al*., 2012), gestações múltiplas, malformações congênitas (Ebbing *et al*., 2020), complicações obstétricas como a pré-eclâmpsia (Pereira-De-Morais *et al*., 2023) e a restrição do crescimento fetal (Predanic *et al*., 2005).

Também há interesse em compreender como doenças cardiovasculares materno-fetais como DMG (Radenković *et al*., 2009) e a hipertensão (Johnstone *et al*., 1987; Haugen, 1996) influenciam essas estruturas.

A DMG tem sido associada ao aumento da pressão perinatal (Singh, 1986), ao aumento do estresse oxidativo e à redução da biodisponibilidade de NO (Lappas *et al*., 2011; Vural *et al*., 2012). Do ponto de vista histológico, observa-se estreitamento do lúmen arterial (Singh, 1986; Hershkovitz *et al*., 2001; Kaya; Nergiz; Turgut, 2019), espessamento da túnica média sem alterações significativas da túnica adventícia (Hershkovitz *et al*., 2001; Sarıkabadayı *et al*., 2012), aumento da rigidez arterial (Seck *et al*., 2018), degeneração das fibras musculares lisas (Pooransari *et al*., 2020) e maior deposição de colágeno na parede arterial, resultando em redução da complacência vascular (Kaya; Nergiz; Turgut, 2019)

Nesse contexto de aumento do estresse oxidativo e comprometimento da função vascular observado na DMG, estudos prévios em AUH demonstram que compostos naturais com propriedades antioxidantes, como o resveratrol, o CAPE e a silibinina, são capazes de promover relaxamento em AUH pré-contraídas por 5-HT, sem alterar o tônus basal (Karabaş e Şahin, 2025). Considerando que o EUC foi descrito por Juergens *et al.* (2018) como um agente capaz de modular o estresse oxidativo e as respostas pró-inflamatórias, seu uso desponta como uma alternativa promissora na investigação dos mecanismos de regulação vascular em condições gestacionais. Em consonância com essa perspectiva, Linghu *et al*. (2016) demonstraram que o 1,8-cineol é capaz de suprimir a secreção de interleucinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8, além de restaurar os níveis de NO a valores fisiológicos.

3.3.3 Veia umbilical humana

As veias umbilicais humanas (VUH) são essenciais durante o desenvolvimento fetal, desempenhando um papel na transferência de nutrientes, oxigênio e resíduos metabólicos entre placenta e feto (Ferguson e Dodson, 2009). Sua organização estrutural é semelhante à das AUH; contudo, conforme descrito por Kellow e Feldstein (2011), as VUH apresentam paredes ligeiramente mais finas.

Morfologicamente, a VUH é formada por três túnicas principais: íntima, média e adventícia (Meyer *et al*., 1978; Thomas *et al*., 2020). As VUH têm um lúmen que pode assumir uma configuração circular ou triangular e são permeáveis quando observadas em seções transversais (Thomas *et al*., 2020). A túnica média é composta por duas a três camadas de células musculares, contendo mucopolissacarídeos entre elas, sem apresentar uma organização celular distinta em termos de orientação (Kellow e Feldstein, 2011; Rodríguez-Rodríguez *et al*., 2018). Quanto à túnica

adventícia, ela é composta de tecido conjuntivo fibroso e elástico, com quantidades variáveis de colágeno e fibras elásticas. É caracterizada por ser composta de tecido conjuntivo menos denso em comparação com as outras camadas (De Freitas *et al*., 2017).

Durante a condução experimental observa-se que sua parede se confunde à geleia de Wharton o que dificulta o processo de dissecação (Fernandes, 2015). Talvez isso justifique a menor quantidade de estudos *ex vivo* com veias em comparação com AUH. Contudo, é visto no estudo de Medina-leyte *et al.* (2020) que ensaios envolvendo VUH revelam um notável potencial para a investigação de alterações vasculares, inclusive aquelas de natureza fetal.

A VUH responde muito ativamente a estímulos anormais no microambiente diabético. Observa-se maior dilatação vascular, associada ao aumento da concentração de adenosina no sangue umbilical (San Martín; Sobrevia, 2006; Fredholm, 2014), além de alterações na expressão de receptores de insulina (IRs) e adenosina (ARs) no endotélio fetoplacentário (Guzmán-Gutiérrez et al., 2014) e na função dos canais K^+ ATP no músculo liso vascular (Djokic, 2019). A hiperglicemia característica do DMG também contribui para lesão endotelial, aumentando a adesão monócito-endotelial via regulação de Cx43 em HUVECs (Zhang et al., 2021). Estruturalmente, observa-se espessamento da parede vascular, redução do lúmen venal (Kadivar et al., 2020) e desorganização das camadas da túnica média (Ennazhiyil et al., 2025).

Em conjunto, esses fatores demonstram que a VUH em DMG é altamente reativa e sujeita a alterações funcionais e estruturais que podem comprometer o fluxo sanguíneo fetoplacentário. Nesse contexto, conforme descrito por Batista *et al.* (2023) investigações sobre a atividade vasorrelaxante de compostos naturais na VUH possuem grande relevância para a fisiofarmacologia, pois podem apontar novos alvos terapêuticos em distúrbios obstétricos de origem hipertensiva e/ou metabólica, que afetam a vasculatura umbilical e a viabilidade fetal.

Além disso, são vistos na literatura estudos com VUH que abordam a utilização das células endoteliais desse vaso para estudos moleculares, sendo este um modelo bem estabelecido para avaliar diversas patologias vasculares (Medina Leyte *et al*., 2020). Além destes, são encontrados trabalhos que avaliam e descrevem o estresse de cisalhamento em VUH (Sharmin *et al*., 2021) e pesquisas que demonstram efeitos protetores de produtos naturais em VUH sob estresse oxidativo (Borges *et al.*, 2022). Entretanto, conforme menciona Batista *et al.* (2023), ainda são escassos os estudos sobre a ação vasoativa de produtos naturais nesse modelo, tornando o referido trabalho relevante para compreender sua atuação na circulação venosa umbilical humana.

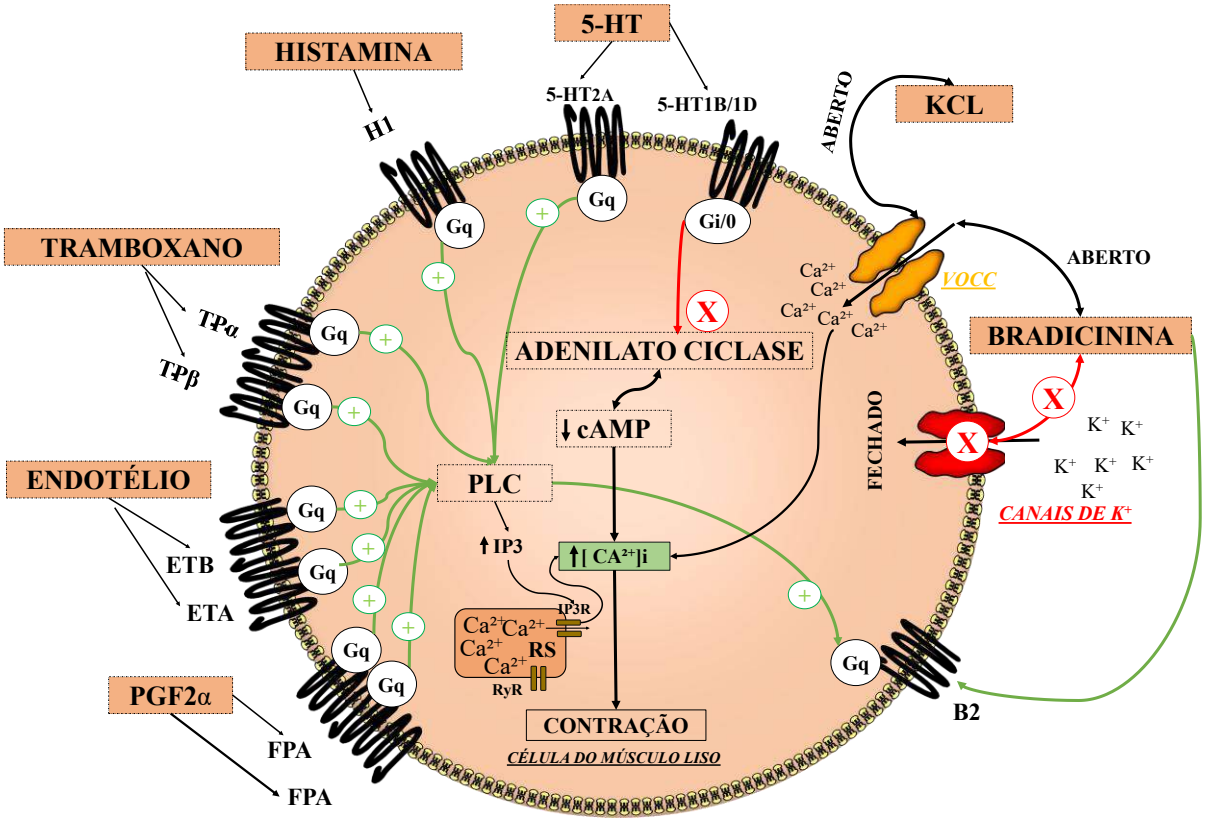
3.3.4 Acoplamento excitação-contração em vasos do cordão umbilical humano

As Células Musculares Lisas (CML) são uma unidade de controle básico, são alongadas, fusiformes, geralmente possuem um único núcleo central (Skinner e Johnson, 2017), e possuem capacidade de sofrer diferenciação fenotípica (Intengan e Schiffrin, 2000; Shi e Chen, 2016). Cada célula é capaz de contrair de forma independente, o que permite uma cooperação suave e eficaz das atividades contráteis em órgãos e estruturas onde o músculo liso está presente (Horowitz *et al*., 1996; Webb, 2003).

Além disso, as células do músculo liso vascular desempenham um papel na regulação do diâmetro do lúmen vascular e, consequentemente, no controle do fluxo sanguíneo (Knot; Brayden e Nelson, 1996; Owens; Kumar e Wamhoff, 2004; Amberg e Navedo, 2013), processo indispensável para a manutenção da pressão arterial e para a distribuição adequada de sangue aos tecidos (Bakker *et al*., 2008). Essa capacidade regulatória decorre de mecanismos celulares, que incluem a despolarização da membrana, o influxo ou efluxo de íons cálcio e a subsequente ativação de proteínas contráteis responsáveis pela modulação do tônus vascular (Lorigo *et al*., 2018) (Figura 04).

Podem participar dessa ação mediadores com propriedades vasoconstritoras e vasodilatadoras, como hormônios (Takata *et al*., 1990; Dünser e Meier, 2017) e neurotransmissores (Chamary *et al*., 2006). A atuação de mediadores locais de ação parácrina também é essencial, envolvendo substâncias liberadas por células próximas que afetam a musculatura lisa de maneira localizada (Knot; Brayden e Nelson, 1996; Owens; Kumar e Wamhoff, 2004; Lorigo *et al*., 2018).

Figura 04: Representação dos principais receptores que participam da contratilidade dos vasos umbilicais



Nota: Gq: subunidade da proteína G, $[Ca^{2+}]i$: concentração intracelular do íon Ca^{2+}, 5-HT: Serotonina, Ca^{2+}: cálcio, AMPc: adenosina monofosfato cíclico, IP3: inositol 1,4,5- trifosfato, K^{+}: potássio, KCl: cloreto de potássio, PGF2α: prostaglandina F2α, PLC: fosfolipase C, VOCC: canais Ca^{2+} operados por voltagem, cAMP: monofosfato de adenosina cíclico, RS: retículo sarcoplasmático, RyR: receptores de Rianodina.
Fonte: Adaptado de Lorigo *et al* (2018).

O desencadeamento da contração da musculatura lisa vascular pode ocorrer por meio de vários fatores. A despolarização da membrana, como a provocada pela exposição da célula a elevadas concentrações de potássio, representa um esquema conhecido como acoplamento eletromecânico (Schneider, 1981, Blunck e Batulan, 2012). Outra via de ativação envolve agonistas contráteis que estimulam a entrada de Ca^{2+} por meio de canais controlados por voltagem, constituindo o acoplamento farmacomecânico (Somlyo e Somlyo, 1968; Somlyo *et al.*, 1999). Esses eventos convergem no aumento da concentração de $Ca^{2+}{}_{i}$ (Somlyo e Somlyo, 1968; Somlyo e Somlyo, 2003), que pode originar-se do aumento transitório e rápido devido à liberação de Ca^{2+} armazenado no Retículo Sarcoplasmático (RS) (Wray e Burdyga 2010; Cauvin *et al.*, 2019), ou de um influxo prolongado de Ca^{2+} vindo do meio extracelular, através dos canais de Ca^{2+} (Fan *et al.*, 2019).

Além disso, é importante destacar que a contração também depende da ação de substâncias vasoativas liberadas localmente ou presentes na circulação. Essas substâncias atuam em receptores

específicos localizados nas células da musculatura lisa de artérias e veias umbilicais, modulando a reatividade vascular e contribuindo para a regulação do tônus desses vasos. Entre elas, destacam-se a Serotonina (5-HT) (Nishihira *et al*., 2008; Guevara e Trejo, 2021), Histamina (His) (Jo *et al*., 2021; Jones; Mingin e Tykocki, 2022), Tromboxano (Svensson *et al*., 1977; Yuui; Kudo e Kasuda, 2021), Bradicinina (Eguchi *et al*., 1997; Higashikuni e Sata, 2023), Endotelina e Prostaglandina F2α (PGF2α) (Sumner *et al*., 1992).

O acoplamento eletromecânico acontece mediante uma mudança de voltagem através da membrana celular que pode resultar na abertura dos Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem (VOCC) e consequentemente, na entrada de Ca^{2+} (Hofmann; Lacinova e Klugbauer, 2005; Bagur e Hajnóczky, 2017). Os VOCC são classificados em L, T, R, P/Q e N com base em suas propriedades de ativação e nas correntes que geram (Ertel *et al*., 2000). Dentre esses, os VOCC L e T são muito comuns em vasos umbilicais (Cairrão *et al*., 2009).

Na literatura, os VOCC-L são objeto de extensiva pesquisa no contexto do músculo liso, essa atenção especial pode ser atribuída ao papel que, de acordo com Zhou e January (1998), desempenham no processo de excitação/contração. São canais ativados por alta voltagem (Zamponi *et al*., 2015) possuindo condutância entre de 20-28pS, e demonstram alta seletividade ao cálcio em comparação com outros íons (Tsien *et al*., 1987). As classes de antagonistas frequentemente utilizados para modular sua atividade são: dihidropiridinas (nifedipina, nisoldipina e isradipine), fenilalquilaminas (verapamil) e benzotiazepinas (diltiazem) (Diochot *et al*., 1995; Toyo-Oka e Nayler, 1996).

Também pode ocorrer hiperpolarização pela abertura de canais de K^+ (Clark *et al*., 2020). Esses canais, incluem os do tipo K_V (Voltagem-Dependentes) (Brayden, 1996), K_{Ca} (Ativados por Cálcio) (Vergara *et al*., 1998), K_{IR} (Retificadores Internos) (Nichols e Lopatin, 1997) e os K_{2P} (Domínio de 2 Poros) (Sanders e Don Koh, 2006). A atuação desses canais sobre o estado elétrico da membrana torna-se particularmente evidente quando se considera o Potencial de Repouso (E_m) da membrana em CML, que geralmente varia entre -75 a -50 mV. O potencial de equilíbrio eletroquímico do cálcio, situa-se em uma faixa mais positiva em relação ao E_m (-60 a -40 mV), e considerando que a concentração extracelular de cálcio é significativamente maior do que no meio intracelular, estabelece-se um forte gradiente eletroquímico que favorece o influxo de cálcio para o interior da célula (Nelson *et al*., 1990).

Entretanto, conforme demonstra Edman e Schild (1961); Tahara *et al.* (2000); Challiss e Blank (2020) e Alqudah *et al.* (2022), sob o efeito de um agente despolarizante, quando o potencial de membrana atinge a faixa de ativação dos VOCC, ocorre o influxo de cálcio do meio extracelular para o intracelular, aumentando a concentração intracelular de cálcio e desencadeando a contração muscular.

Esse mecanismo serve como alvo para drogas inibidoras de canais de cálcio, como é o caso de alguns agentes anti-hipertensivos como a nifedipina (Swanson e Green, 1986). Neste aspecto esse mecanismo é alvo de investigações para biomoléculas e suas possíveis interações com esses canais. Estudos já demostram efeitos vasorrelaxantes similares aos da nifedipina para o farnesol (Batista *et al*., 2023), para o óleo essencial de *Lippia alba* (Borges *et al*., 2022) e para o (−)-carveol (Silva *et al*., 2020).

Além disso, é importante mencionar que a presença da DMG não parece comprometer a expressão dos VOCC- L, uma vez que a secreção de insulina depende diretamente da presença e da atividade de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (Rorsman, 1997). Entretanto, a desregulação do Ca^{2+} intracelular é uma complicação bem estabelecida tanto no diabetes *mellitus* tipo 1 quanto no tipo 2 (Wang *et al*., 2000; Dillmann, 2019). Nesse contexto, é plausível que as alterações metabólicas observadas nessas condições também se estendam ao DMG, promovendo modificações na funcionalidade e na sensibilidade dos VOCC- L.

Entretanto, estudos indicam que a DMG está associada à redução da expressão de canais BK_{Ca} (Li *et al*., 2022) e K_{ATP} (Li *et al*., 2018) em AUH. Em contrapartida, a função dos canais Kv parece não ser afetada no contexto diabético em VUH (Djokić *et al*., 2023). Embora ainda sejam escassos estudos específicos sobre canais K_{IR} em DMG, evidências provenientes de modelos de diabetes tipo 2 mostram redução da expressão de K_{IR} em músculo liso vascular (Rajković *et al*., 2024).

No acoplamento farmacomecânico, a regulação da força de contração está intrinsecamente vinculada à resposta celular diante das flutuações na concentração de íons de cálcio, diferentemente da dependência da despolarização (Itoh, 1991). Por exemplo, quando ocorre uma alteração na sensibilidade das proteínas contráteis ao cálcio, a célula pode manifestar respostas distintas, essa sensibilidade pode ser, por exemplo, modulada por processos moleculares, como fosforilação de proteínas específicas, afetando a capacidade das proteínas contráteis de responderem às variações na concentração de cálcio e, assim, regulando a contração muscular (Stall *et al*., 1979; Hori e Karaki, 1998).

De maneira geral, o aumento da concentração intracelular de íons de cálcio ($[Ca^{2+}]$) é mediado por diferentes vias, uma das quais envolve a interação de um agonista com um receptor acoplado à proteína G (GPCRs) (Strange, 2008). Quando um agonista se liga ao domínio extracelular do GPCR, ocorre a ativação do receptor, desencadeando uma alteração conformacional no lado intracelular da membrana. Consequentemente, a proteína G, composta por três subunidades (α, β e γ), é ativada em resposta a essa mudança conformacional (Dhyani *et al*., 2020).

Este processo desencadeia a ativação da cascata do inositol, através das proteínas Gq/11. O receptor ativado pela ligação do agonista estimula a produção de dois segundos mensageiros: o 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3) e o Diacilglicerol (DAG). O IP_3, por sua vez, induz a liberação de cálcio

a partir de reservatórios intracelulares, contribuindo para o aumento da concentração de $[Ca^{2+}]_i$. (Bastin e Heximer, 2011). Outro mecanismo de aumento de $[Ca^{2+}]_i$ envolve a fosforilação direta de canais de cálcio por proteínas quinases, como as quinases A ou C. Essa fosforilação modula a atividade dos canais de cálcio, promovendo a entrada de cálcio do meio extracelular para o citoplasma (Schubert e Nelson, 2001).

Como dito, o IP_3 desencadeia a liberação de íons de cálcio (Ca^{2+}) do RS ao ativar os receptores de IP_{3R} (Lin *et al*., 2016). Simultaneamente, o DAG ativa a proteína Quinase C (PKC), a qual, modula o aumento na concentração intracelular de cálcio ao fosforilar canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem e canais de K^+, favorecendo a despolarização da membrana e o aumento do influxo de Ca^{2+} (Christova; Duridanova e Setchenska, 1997; (Bastin e Heximer, 2011). O aumento na concentração intracelular de cálcio favorece a ligação do cálcio à calmodulina (CaM), formando o complexo Ca^{2+}-CaM. Este complexo ativa a Quinase da Cadeia Leve Da Miosina (MLCK). Uma vez ativada, a MLCK promove a fosforilação da Cadeia Leve Regulatória da Miosina (rMLC). Essa fosforilação facilita a interação dos filamentos de miosina e actina, iniciando o processo de contração (Bastin e Heximer, 2011).

Na figura 04, é possível observar alguns dos processos mencionados anteriormente, mas é importante ressaltar o que ocorre. O endotélio vascular regula a vasoconstrição através dos receptores de endotelina ETA e ETB, que, acoplados à proteína Gq, ativam a PLC, aumentando os níveis IP_3 e promovendo a contração do músculo liso vascular. A bradicinina, também associada ao endotélio, exerce efeitos dependentes da ativação do receptor β2-adrenérgico, resultando na ativação de canais de cálcio e na inibição de canais de potássio (Lorigo *et al*., 2018).

O potente vasoconstritor 5-HT (McGrath *et al*., 1986) tem seu efeito contrátil devido à ativação dos receptores $5\text{-}HT_{2A}$, e parcialmente devido à ativação dos receptores $5\text{-}HT_{1B}$/$5\text{-}HT_{1D}$. O $5\text{-}HT_{2A}$ está acoplado a proteína Gq e ativa o PLC, resultando em um aumento de níveis de IP_3. Por outro lado, o $5\text{-}HT_{1B}$ e os receptores $5\text{-}HT_{1D}$ são acoplados à proteína Gi/o inibindo a adenilciclase. Ademais, a HIS causa vasoconstrição pela ativação dos receptores H1, acoplados à proteína Gq, desencadeando a cascata PLC/IP_3 e aumentando o cálcio intracelular. O tromboxano e a PGF2α induzem vasoconstrição ao ativar os receptores TPα, TPβ, FPA e FPB (via Gq/PLC/IP_3), aumentando o cálcio intracelular e provocando contração (Lorigo *et al*., 2018).

Durante a gestação normal, ocorre um aumento na síntese e liberação de 5-HT, decorrente da regulação positiva das enzimas triptofano hidroxilase (TPH_1 e TPH_2) nas células β pancreáticas, o que contribui para as adaptações metabólicas maternas e a manutenção da homeostase glicêmica (Rieck *et al*., 2009; Kim *et al*., 2010b). No entanto, em gestações complicadas por DMG, o efeito contrátil da 5-HT em vasos umbilicais tende a ser reduzido, frequentemente associado a disfunção endotelial. Em ambas as condições, os canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes e a Na^+/K^+-ATPase

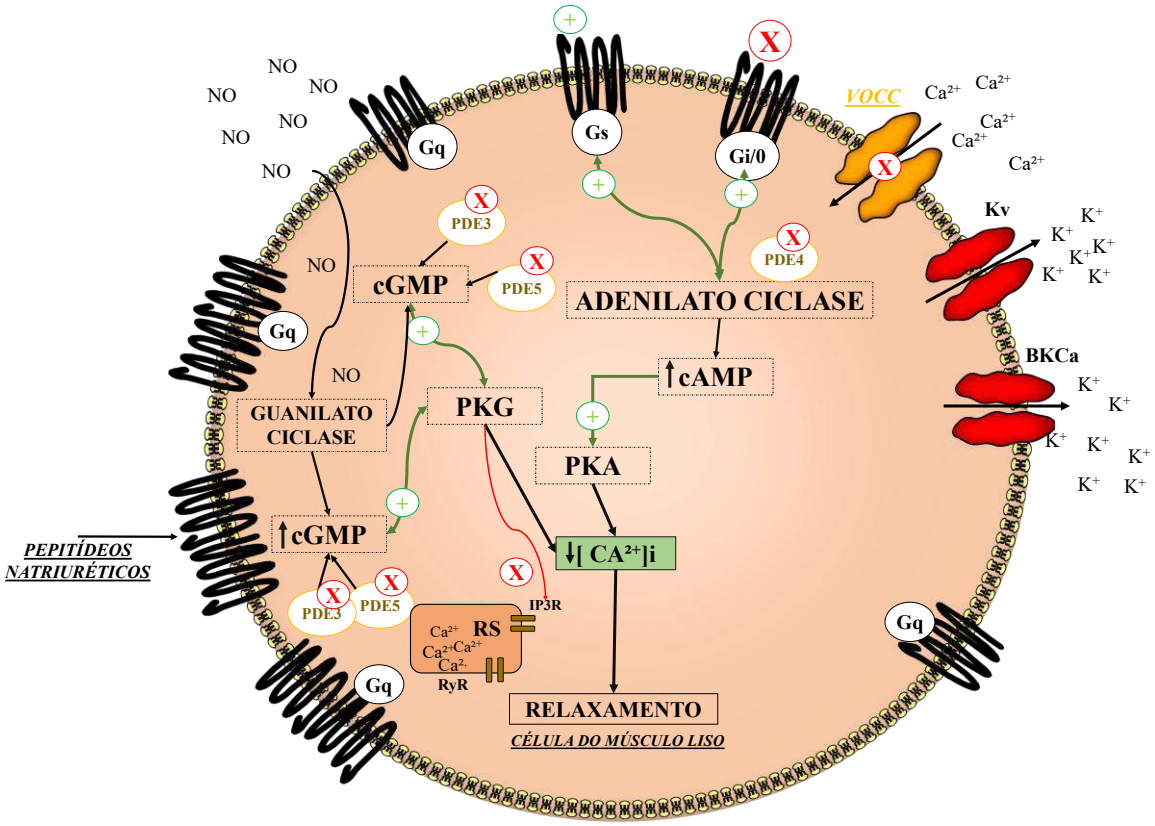
contribem para a contração evocada pela 5-HT e para regulação do tônus vascular basal; entretanto, essas ações encontram-se prejudicadas na DMG (Radenkovic *et al*., 2009).

Ainda, o estudo de Viau, Lafond e Vaillancourt (2009) demonstra uma diminuição da expressão de receptores 5-HT_{2A} e sugere alterações no sistema serotoninérgico em placentas de gestações complicadas por DMG. Além disso, os dados apontam que o organismo materno atua de forma compensatória para assegurar um desenvolvimento fetal saudável. Assim, é possível que a redução na densidade desses receptores ou mudanças compensatórias no organismo materno alterem a dinâmica de contração dos vasos umbilicais.

Além disso, Gokina *et al.* (2013), investigaram a disfunção vascular uteroplacentária durante a gestação de ratos diabéticos, e demonstraram que a vasodilatação induzida por ACh foi prejudicada, acompanhada de respostas de $[Ca^{2+}]i$ reduzidas nas CML, sugerindo que a capacidade contrátil dessas células se encontra alterada. Além disso, a hiperpolarização induzida por ACh, mecanismo crucial para modular a abertura VOCCs, também foi atenuada em vasos diabéticos, contribuindo para uma resposta contrátil desregulada. De forma concomitante, os níveis basais de $[Ca^{2+}]i$ em células endoteliais foram significativamente reduzidos, indicando que a sinalização endotelial necessária para a produção de fatores relaxantes encontra-se comprometida.

Por outro lado, igualmente relevante é o processo de relaxamento da musculatura lisa vascular. A Figura 05 mostra uma representação esquemática de como relaxamento do músculo liso vascular do CUH. O relaxamento da AUH ocorre predominantemente devido à diminuição da concentração de íons Ca^{2+} livres no interior das células, ou do citosol. A diminuição do $Ca^{2+}{}_i$ acontece por meio da Ca^{2+}-ATPase do RS, ou para o meio extracelular, mediante a ação da Ca^{2+}-ATPase de membrana plasmática e do trocador Na^+/Ca^{2+} (NCX) (Lorigo *et al*., 2018).

Figura 05: Representação dos principais receptores e vias que participam do relaxamento dos vasos umbilicais



Nota; Gq/ Gs/ Gi/0: subunidades da proteína G, $[Ca^{2+}]i$: concentração intracelular do íon Ca^{2+}, AMPc: adenosina monofosfato cíclico, K^+: potássio, KCl: cloreto de potássio, VOCC: canais Ca^{2+} operados por voltagem, cAMP: monofosfato de adenosina cíclico, RS: retículo sarcoplasmático, RyR: receptores de Rianodina, BKCa: canais K+ ativados por Ca^{2+} de alta condutância; Ca^{2+} cálcio; cGMP, guanosina monofosfato cíclico; Kv: canais de K+ com tensão controlada; NO: óxido nítrico; PDE: fosfodiesterases; PKA: proteína quinase A; PKG: proteína quinase G.
Fonte: Adaptado de Lorigo *et al* (2018).

Além disso, o relaxamento pode ser induzido tanto por compostos exógenos quanto por mediadores endógenos. Os primeiros atuam reduzindo o tônus vascular por múltiplos mecanismos, como o bloqueio de receptores envolvidos na contração e a modulação de enzimas da via contrátil (Lorigo *et al*., 2018). Já os compostos endógenos exercem sua ação predominantemente sobre as células do músculo liso e o endotélio, contribuindo para a regulação fisiológica do tônus vascular (Zelis, 1983). Entre os principais mediadores intracelulares envolvidos nesse processo, destacam-se os nucleotídeos cíclicos, especialmente o AMPc. O aumento de seus níveis ocorre por meio da ativação de receptores acoplados à proteína Gs ou pela inibição de receptores acoplados à proteína Gi/o, modulando a atividade de vias sinalizadoras que culminam na diminuição da contratilidade (Morgado *et al*., 2012).

De modo complementar, a ação do NO, promove o relaxamento vascular ao aumentar os níveis de cGMP, contribuindo para a vasodilatação e a redução do tônus vascular (Busse *et al*., 1984; Masaki, 1995; Wong *et al*., 2010). O aumento nos níveis de AMPc e GMPc desencadeia a ativação

de PKA e PKG (Ignarro e Kadowitz, 1985). Essa ativação subsequente tem o efeito de reduzir a concentração intracelular de Ca^{2+} e sensibilizar menos os miofilamentos ao Ca^{2+} nas CML, resultando no relaxamento (Morgado *et al*., 2012; Lorigo *et al*., 2018).

O tônus do músculo liso é intricadamente regulado pelo fluxo de íons, destacando-se a ativação dos canais de K^+ como o principal mediador do relaxamento (Bevan, 1993; Jackson, 2000). Estes canais, além de serem os mais abundantes nas CML, desempenham um papel na regulação do potencial de repouso, influenciando diretamente concentrações de K^+ e, de maneira indireta, as concentrações Ca^{2+} (Dogan *et al*., 2019). Sua abertura pode ser mediada por substâncias vasoativas, como o NO (Bolotina *et al*., 1994), Peptídeos Natriuréticos (NP) (Hamad *et al*., 2003) e prostaciclinas, por meio da ativação de proteínas quinase (Brayden, 1996).

3.4 *Docking* molecular e estudos *in silico* no planejamento e desenvolvimento de novos fármacos

O termo *in silico* corresponde a estudos que são executados através de modelos computacionais (Claes, 2006; Raunio, 2011). A modelagem e simulação podem ser utilizadas para reduzir, refinar e substituir a experimentação animal (Leelananda e Lindert, 2016; Jean-Quartier *et al*., 2018; Viceconti *et al*., 2021). Além disso, destacam-se pelo baixo custo de produção, rapidez dos protocolos executados, facilidade de repetição dos testes, falta de preocupação com protocolos éticos e legais relacionados a pesquisas com animais (Leelananda e Lindert, 2016; Viceconti *et al*., 2021).

O desenvolvimento da tecnologia de simulação computacional, ocorreu no século XIX (Wang *et al*., 2022), na década de 1980 (Kuntz *et al*., 1982), a partir de então tem sido subsídio para estudos químicos e farmacológicos (Jorgensen, 2004). Abel *et al.* (2017) faz um relato, em que é possível constatar que com o passar dos anos, a docagem vem se refinando graças a melhoria na tecnologia computacional e avanços na informática.

Os métodos computacionais aplicados ao desenvolvimento de fármacos podem ser divididos em duas abordagens principais: Baseados na Estrutura do Alvo Molecular (DDBE) e Baseados nas Características dos Ligantes (DDBL). Na abordagem DDBE, a análise da estrutura tridimensional do alvo molecular permite identificar os locais de interação mais promissores, bem como as condições que favorecem a ativação do receptor. Isso possibilita determinar as propriedades essenciais que um ligante deve possuir para se ligar de forma eficaz ao alvo (Yu e Mackerell, 2017). Por outro lado, os métodos DDBL utilizam informações já disponíveis sobre as características estruturais e funcionais de fármacos conhecidos, responsáveis por seu efeito biológico, para identificar novas substâncias com propriedades semelhantes (Acharya *et al*., 2011).

Um dos principais métodos de DDBE, é o *docking* molecular, técnica capaz de prever como pequenas moléculas e receptores se ligam, essas informações são utilizadas para delinear a energia

de ligação entre ligantes e receptores (Wu *et al*., 2020). Os modelos também trazem informações sobre à solvatação, efeitos entrópicos (Jakher *et al*., 2020). Atualmente, a docagem molecular é frequentemente utilizada para o estabelecimento de novos medicamentos com melhor eficácia e maior especificidade (Guedes; De Magalhães e Dardenne, 2014; Bartuzi *et al*., 2017), podendo ser utilizada como ferramenta complementar aos ensaios experimentais (Ghafourzadeh *et al*., 2026).

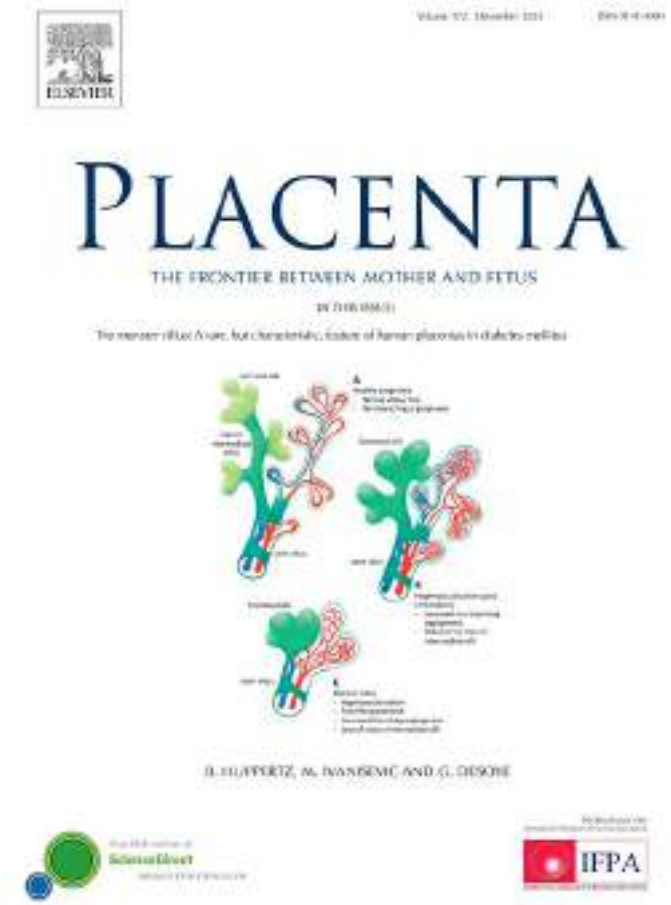
Algumas aplicações de *Docking* evidenciam a atividade anticancerígena de produtos isolados do metabolismo secundário de plantas (Phosrithong e Ungwitayatorn, 2010). Ainda, o estudo de Al-salahi *et al.* (2019) revelou as possíveis interações entre os modelos de ligação e as atividades antioxidantes de derivados de 2-tióxobenzo[g] quinazolina (Al-Salahi *et al*., 2019). Ademais, a ancoragem molecular auxiliou na demonstração de atividade anti-inflamatória de derivados aza-bicíclicos de isoxazolina acilhidrazona (Mota *et al*., 2019), efeitos antinociceptivos, relaxantes da musculatura lisa e sedativo (Alhumaydhi *et al*., 2021). A modelagem também está evoluindo na área do vasorrelaxamento e tem auxiliado na descoberta de mecanismos de ação de produtos naturais que desempenham atividade vasorrelaxante, como visto nos trabalhos de Awadallah *et al.* (2012), Pinto-Junior *et al.* (2017), Haghighi *et al.* (2019), Latek *et al.* (2019) e Mowlazadeh *et al*. (2019). Entretanto, cabe destacar que o *docking* gera hipóteses sobre possíveis interações entre o composto e seus alvos moleculares, mas não comprova, isoladamente, afinidade, ativação ou inibição farmacológica (Sousa; Fernandes; Ramos, 2006).

Artigo 1: **Eucaliptol (1,8-cineol) relaxa veias umbilicais humanas de parturientes normoglicêmicas e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional por meio da modulação de canais iônicos: Um estudo *ex vivo***

Sara Tavares de Sousa Machado, Paulo Ricardo Batista, Franscisca Daliane Severino da Silva, Luís Pereira-de-Morais, Laíza Maria Ulisses Magalhães, Roseli Barbosa

Placenta/ https://www.sciencedirect.com/journal/placenta/ A1 ciências biológicas II |

Situação: publicado (https://doi.org/10.1016/j.placenta.2026.06.022)



RESUMO

Introdução: O monoterpenoide eucaliptol (EUC; 1,8-cineol) possui ação vasodilatadora em artérias de ratos, entretanto seus efeitos na vasculatura fetoplacentária humana ainda não tinham sido descritos. Assim, o objetivo desse estudo é avaliar o efeito vasorrelaxante independente de endotélio do EUC em veias umbilicais humanas de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG) e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG).
Método: Anéis desnudados de VUH foram montados em banho de órgãos para registros isométricos em diferentes protocolos experimentais na presença de EUC (1-3000 µM).
Resultados: EUC (1-3000 µM) inibiu a vasoconstrição induzida por KCl (60 mM) e 5-HT (10 µM), exibindo maior potência em VUH-DMG. EUC (3000 µM) preveniu a vasoconstrição induzida por $CaCl_2$ ou $BaCl_2$ (0,1-30 mM) em VUH-NG. Entretanto, sua eficácia para prevenir a vasoconstrição induzida por altas concentrações de $BaCl_2$ foi atenuada em VUH-DMG. A presença de bloqueadores de canais de potássio (TEA, 4-AP, GLI e $BaCl_2$) reduziu a eficácia e potência vasorrelaxante do EUC, de modo diferencial em VUH-NG e VUH-DMG.
Discussão: Os resultados sugerem que EUC atua por meio da modulação de canais iônicos para induzir vasorrelaxamento em VUH, possivelmente inibição de canais de cálcio operados por voltagem e ativação de canais de potássio no músculo liso vascular. Além disso, as modificações fisiopatológicas induzidas pelo DMG na VUH parecem alterar a farmacodinâmica de EUC, ainda assim o efeito vasorrelaxante do EUC foi mais potente sobre vias eletromecânica e farmacomecânica em VUH-DMG. Assim, o estudo atual fornece uma base consistente para o desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas vasodilatadoras.

Palavras-chave: veia umbilical humana; efeito vasorrelaxante; ensaios *ex vivo*; canais iônicos.

1. Introdução

Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG) é definido como hiperglicemia diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez [1]. Seus principais fatores de risco incluem idade materna avançada, sobrepeso, obesidade, histórico familiar de diabetes ou DMG prévio. Estima-se que cerca de 14% das gestações em todo o mundo sejam afetadas, trazendo repercussões metabólicas e vasculares para a mãe e o feto [2], além de causar alterações histomorfológicas na placenta e cordão umbilical [3].

Nesse sentido, DMG tem sido associado a alterações no sistema serotoninérgico placentário [4] e na vasoconstrição induzida por serotonina (5-HT) em artérias umbilicais humanas [5]. Exclusivamente nas veias umbilicais humanas (VUH), ocorre aumento do lúmen acompanhado de diminuição de fibras elásticas [6], aumento da expressão/atividade de canais de Ca^{2+} operados por voltagem (VOCC) [7], e redução da expressão/atividade de canais de K^+ (e.g., K_{ATP}) [8].

Em conjunto, esses eventos podem comprometer a homeostase vascular fetoplacentária, e prejudicar a oxigenação/nutrição fetal que é realizada pela VUH [9]. Desse modo, a compreensão do tônus vascular de mulheres com DMG é fundamental para antecipar complicações materno-fetais, e estratégias terapêuticas capazes de reduzir os impactos do DMG são necessárias, incluindo orientação nutricional [10] e uso de agentes farmacológicos [11].

Substâncias bioativas que atuam na VUH podem ser matérias-primas promissoras para novos alvos terapêuticos. Um destaque especial deve ser dado aos terpenos, um grupo de metabólitos secundários de plantas com ampla diversidade estrutural [12], reconhecido por sua atividade vasodilatadora, inclusive em vasos umbilicais humanos [13–18].

Eucaliptol (EUC; 1,8-cineol) é um terpenoide que possui efeito vasorrelaxante em artérias aortas de ratos por meio de vias dependentes e independentes de endotélio [19–21]. No entanto, até onde sabemos, seus efeitos em VUH não tinham sido investigados. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito vasorrelaxante independente de endotélio do EUC em VUH de parturientes normoglicêmicas e de parturientes com DMG, buscando elucidar possíveis mecanismos de ação no nível do músculo liso vascular (MLV), evitando a interferência de mediadores liberados pelas células endoteliais. Assim, a caracterização farmacológica fornecida contribui para a descoberta de novas drogas vasodilatadoras diretas.

2. Materiais e métodos

2.1 Soluções e drogas

Foram utilizadas solução Krebs-Henseleit isosmótica (318,79 mOsm/L) com composição (mM): NaCl [118], KCl [4,7], $CaCl_2$ [2,5], $MgSO_4$ [1,2], KH_2PO_4 [1,2], $NaHCO_3$ [25], glicose [11] e EDTA [0,01]; e solução Krebs-Henseleit isosmótica (318,36 mOsm/L) de alto K^+: NaCl [63,4], KCl [60], $CaCl_2$ [1,9], $MgSO_4$ [1,2], KH_2PO_4 [1,2], $NaHCO_3$ [25], glicose [11] e EDTA [0,01]; ambas com pH 7,40±0,01 (ajustado com HCl/NaOH), e mantidas a 37 °C com aeração contínua (95% O_2 + 5% CO_2).

Todos os sais e drogas foram dissolvidos em água destilada, exceto nifedipina (em etanol), e eucaliptol (EUC) inicialmente preparado em solução estoque (1 M) usando solução Krebs-Henseleit e Tween® 80 (1,2% v/v).

A contribuição de 5-HT ou dos bloqueadores de canais de K^+: tetraetilamônio (TEA), 4-aminopiridina (4-AP), glibenclamida (GLI), e cloreto de bário ($BaCl_2$) para a osmolaridade final das soluções foi ≤ 3 mOsm/L. $BaCl_2$ e $CaCl_2$ foram testados até 30 mM conforme estudos *ex vivo* anteriores [16,22,23], produzindo 90 mOsm/L da osmolaridade total.

2.2 Obtenção e preparação da veia umbilical humana

Após aprovação pelo Comitê de Ética institucional (CEP/URCA nº 6.841.548), secções (~10 cm) de cordões umbilicais humanos foram obtidos com o consentimento livre e esclarecido das

mães/doadoras, que atendiam aos seguintes critérios: faixa etária (18–40 anos), idade gestacional (37–41 semanas), e modo de parto (vaginal ou cesárea). Um total de 60 cordões umbilicais foi utilizado nesse estudo (32 de gestações normoglicêmicas e 28 de gestações com DMG). As amostras foram mantidas a 4-8 °C por até 48 horas; as VUH foram isoladas da geleia de Wharton e seccionadas em anéis de 3-4 mm, e o endotélio foi removido mecanicamente por fricção suave da superfície luminal.

2.3 Experimentos de contratilidade vascular ex vivo

Anéis de VUH desnudados foram montados em banhos de órgãos isolados (ADInstruments; Insight) contendo solução de Krebs-Henseleit, sob tensão isométrica de 3 g. Outros estudos demonstram detalhes sobre estabilização, viabilidade e registro isométrico [17,24].

O efeito do EUC (1-3000 µM) foi avaliado na tensão de repouso por meio de adições crescentes e cumulativas a cada 5 minutos, e também após estimulação das preparações venosas com KCl (60 mM) ou 5-HT (10 µM), com o objetivo de avaliar a inibição dos acoplamentos eletromecânico e farmacomecânico, respectivamente.

Alternativamente, experimentos foram realizados em solução livre de Ca^{2+}. Nesse caso, os anéis de VUH desnudados foram contraídos com KCl (60 mM; 15 min), e então pré-incubados com EUC (3000 µM; 20 min) ou nifedipina (10 µM). Em seguida, contrações foram induzidas por $CaCl_2$ ou $BaCl_2$ (0,1-30 mM), permitindo avaliar, respectivamente, o envolvimento não seletivo de canais de Ca^{2+} e seletivo de VOCC tipo L no modo de ação do EUC [24].

Em outros experimentos, anéis de VUH desnudados foram pré-contraídos com 5-HT (10 µM; 15 min) e incubados (30 min) com diferentes bloqueadores de canais de K^+ em experimentos separados: TEA (1 mM) para canais de K^+ ativados por Ca^{2+} de grande condutância (BK_{Ca}) [25]; 4-AP (1 mM) para canais dependentes de voltagem (K_V) [26]; GLI (10 µM) para canais de K^+ sensíveis a ATP (K_{ATP}) [27]; ou $BaCl_2$ (500 µM) para canais de K^+ retificadores de entrada (K_{IR}) [28]. Para cada concentração de EUC, aguardou-se 8-10 min para estabilização da resposta vasorrelaxante; e a reversibilidade do efeito foi verificada com KCl após lavagem.

2.4 Análise Estatística

Os dados foram expressos como média±SEM, analisados e ilustrados utilizando SigmaPlot. Resultados com $p<0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Para comparações de médias, foi aplicado teste *t* de Student ou análise de variância (one-way ANOVA), seguida pelo teste de Holm-Sidak. Valores de IC_{50} foram calculados utilizando interpolação linear. *n* corresponde ao

número de anéis de VUH, considerando-se variabilidade genética de 5-8 cordões por protocolo experimental.

3. Resultados

3.1 Efeito do eucaliptol no tônus basal e nas contrações evocadas por KCl (60 mM) e 5-HT (10 µM)

O eucaliptol (1-3000 µM) promoveu relaxamento dependente da concentração no tônus basal de VUH de forma reversível (Fig. S1). Esse efeito foi significativo a partir de 800 µM em VUH de gestantes normoglicêmicas (VUH-NG) e 2000 µM em VUH de gestantes com DMG (VUH-DMG; p<0,001, one-way ANOVA; Fig. 1).

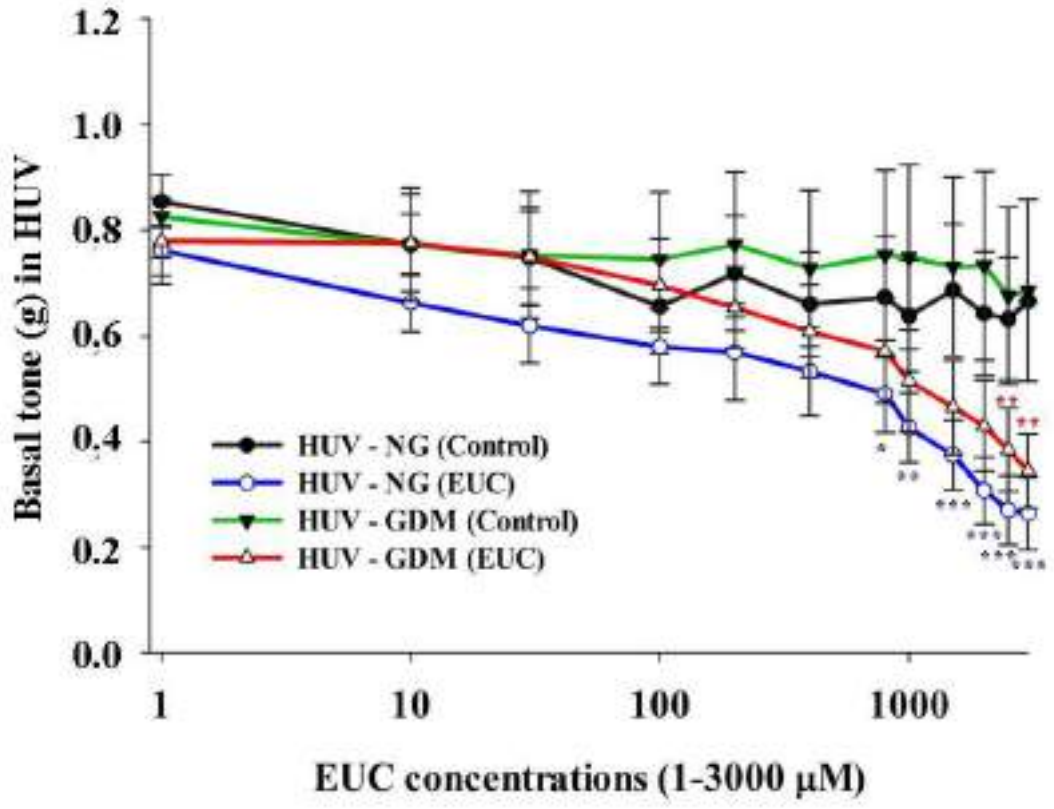


Fig. 1. Efeito do eucaliptol (EUC; 1–3000 µM) no tônus basal de anéis desnudados da veia umbilical humana (VUH) de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG; n = 13) e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG; n = 10). Controle: solução salina fisiológica (Krebs-Henseleit) na ausência da substância de teste. Os valores são expressos como média±SEM. Os símbolos *, ** e *** indicam diferenças estatisticamente significativas, conforme determinado pela análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste *post hoc* de Holm-Sidak, correspondendo a p<0,05, p<0,01 e p< 0,001, respectivamente.

Anéis de VUH-NG pré-contraídos com KCl (60 mM) foram relaxados completamente por EUC (1-3000 µM), esse efeito foi significativo a partir de 200 µM, com IC_{50} 538,41±6,20 µM. Em VUH-DMG, o relaxamento significativo começou em 100 µM, com IC_{50} 403,77±4,95 µM (Figs. 2A–C). Nos anéis pré-contraídos com 5-HT (10 µM), o relaxamento foi significativo a partir de 200 µM (VUH-NG) e 400 µM (VUH-DMG), com IC_{50} 744,38±5,78 µM e 626,02±5,47 µM, respectivamente (p<0,001, one-way ANOVA; Figs. 2D–F).

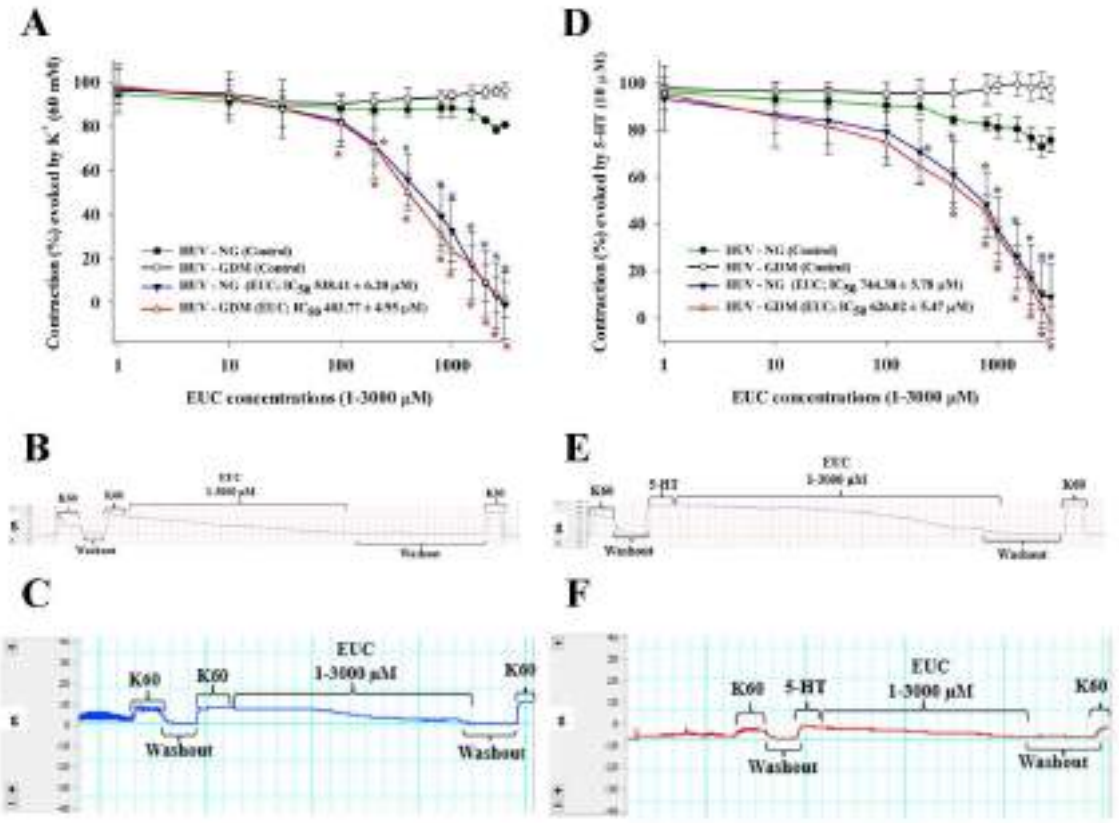


Fig. 2. Efeito vasorrelaxante do eucaliptol (EUC) no acoplamento eletromecânico e farmacomecânico em preparações desnudadas de veia umbilical humana (VUH) de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG) e de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG). **(A)** Curvas concentração-resposta do EUC (1–3000 µM) em preparações desnudadas de VUH-NG (n = 15) e VUH-DMG (n = 8) pré-contraídas com cloreto de potássio (KCl; 60 mM). **(B,C)** Traçados originais representativos mostrando a reversibilidade do efeito do EUC no acoplamento eletromecânico (KCl 60 mM ou K60) após lavagem, nos grupos VUH-NG desnudados **(B)** e VUH-DMG desnudados **(C)**. **(D)** Curvas concentração-resposta de EUC (1–3000 µM) em preparações desnudadas de VUH-NG (n = 14) e VUH-DMG (n = 7) contraídas com serotonina (5-HT; 10 µM). **(E,F)** Traçados originais representativos mostrando a reversibilidade do efeito do EUC no acoplamento farmacomecânico (5-HT 10 µM) após lavagem, nos grupos VUH-NG desnudados **(E)** e VUH-DMG desnudados **(F)**. Controle: solução salina fisiológica (Krebs-Henseleit) na ausência da substância de teste. Os valores são expressos como média±SEM. O símbolo * indica diferença estatisticamente significativa, conforme determinado pela análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste *post hoc* de Holm-Sidak, correspondendo a p<0,001).

3.2 Contribuição dos canais de Ca^{2+} no efeito relaxante do eucaliptol

As contrações induzidas por $BaCl_2$ em VUH-NG e VUH-DMG foram dependentes da concentração, atingindo a resposta máxima em 20 mM (1,8g e 1,9g, respectivamente). O EUC reduziu a resposta vasoconstritora do $BaCl_2$ para 0,29g em VUH-NG e 1,5g em VUH-DMG, enquanto a nifedipina (10 µM) diminuiu para 0,55g e 0,82g, respectivamente (Figs. 3A,B).

A adição cumulativa de $CaCl_2$ produziu contrações dependentes da concentração em VUH-NG e VUH-DMG, atingindo a resposta máxima em 2,2g e 2,5g, respectivamente. O EUC reduziu a contração induzida por $BaCl_2$ (20 mM) para 0,5g em VUH-NG e 1g em VUH-DMG. A nifedipina foi mais eficaz em VUH-NG (0,76g) do que em VUH-DMG (0,96g) (Figs. 3C,D).

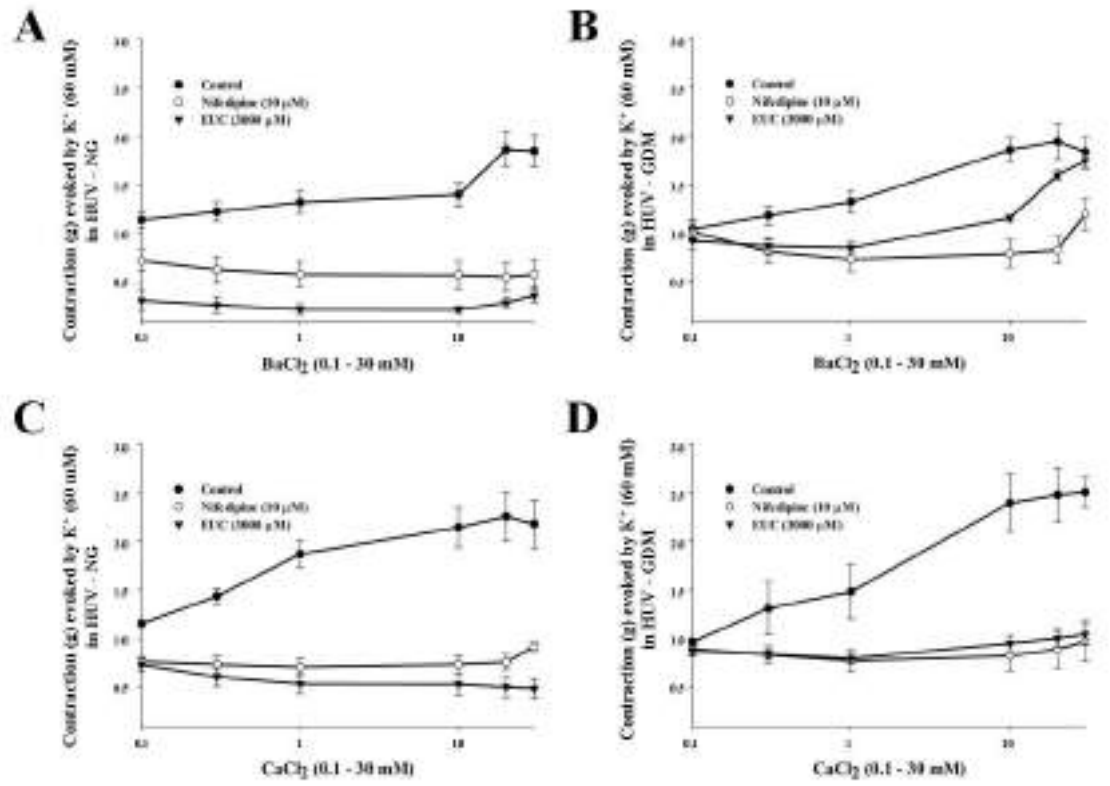


Fig. 3. Efeito do eucaliptol (EUC) nas contrações induzidas por cloreto de bário ($BaCl_2$) e cloreto de cálcio ($CaCl_2$) em preparações desnudadas de veia umbilical humana (VUH) previamente despolarizadas por cloreto de potássio (KCl; 60 mM). Nifedipina (10 µM) foi usada como controle positivo para canais de cálcio operados por voltagem. **(A)** Efeito do EUC (1–3000 µM) nas contrações induzidas por $BaCl_2$ (0,1–30 mM) em VUH desnudadas de parturientes normoglicêmicas (VUH-NG) (n = 5). **(B)** Efeito do EUC (1–3000 µM) nas contrações induzidas por $BaCl_2$ (0,1–30 mM) em VUH desnudadas de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (VUH-DMG) (n = 5). **(C)** Efeito do EUC (1–3000 µM) nas contrações induzidas por $CaCl_2$ (0,1–30 mM) em VUH-NG desnudadas (n = 7). **(D)** Efeito do EUC (1–3000 µM) nas contrações induzidas por $CaCl_2$ (0,1–30 mM) em VUH-DMG desnudadas (n = 8). Controle: solução salina fisiológica (Krebs-Henseleit) e isosmótica de alto potássio na ausência das substâncias de teste. Os valores são expressos como média±SEM.

3.3 Efeito relaxante do eucaliptol na presença de bloqueadores de canais de K^+: TEA (1 mM), 4-AP (1 mM), GLI (10 µM) e $BaCl_2$ (500 µM)

Em VUH-NG, o TEA reduziu o relaxamento induzido por EUC (1-3000 µM) em aproximadamente 45%, com aumento na IC_{50} de 744,38±5,78 µM para 2691,44±6,32 µM. O efeito foi significativo a partir de 200 µM (Fig. 4A). Em VUH-DMG, um padrão semelhante foi observado, com aumento na IC_{50} de 626,02±5,47 µM para 1010,01±5,96 µM, e significância estatística a partir de 400 µM (Fig. 4B).

Na presença de 4-AP, houve aumento na IC_{50} de 744,38±5,78 µM para 2198,13±7,07 µM em VUH-NG (Fig. 4A) e de 626,02±5,47 µM para 884,14±6,19 µM em VUH-DMG (Fig. 4B). Concentrações significativas foram ≥400 µM em VUH-NG e ≥1000 µM em VUH-DMG (p<0,001, one-way ANOVA).

Na presença de GLI, a IC_{50} foi aumentada de 744,38±5,78 µM para 1134,77±4,51 µM em VUH-NG (Fig. 4A) e de 626,02±5,47 µM para 1470,20±4,05 µM em VUH-DMG (Fig. 4B), com redução na eficácia do EUC em ambas as preparações. As concentrações foram estatisticamente significativas a partir de 2000 µM (VUH-NG) e 1000 µM (VUH-DMG).

Na presença de $BaCl_2$, a IC_{50} aumentou de 744,38±5,78 µM para 2793,43±9,60 µM em VUH-NG (Fig. 4A) e de 626,02±5,47 para 1935,88±6,07 µM em VUH-DMG (Fig. 4B), com efeitos significativos a partir de 400 µM (VUH-NG) e 2000 µM (VUH-DMG).

A Tabela S1 mostra as diferenças nos valores de IC_{50} entre VUH-NG e VUH-DMG para todos os agentes contráteis e bloqueadores utilizados.

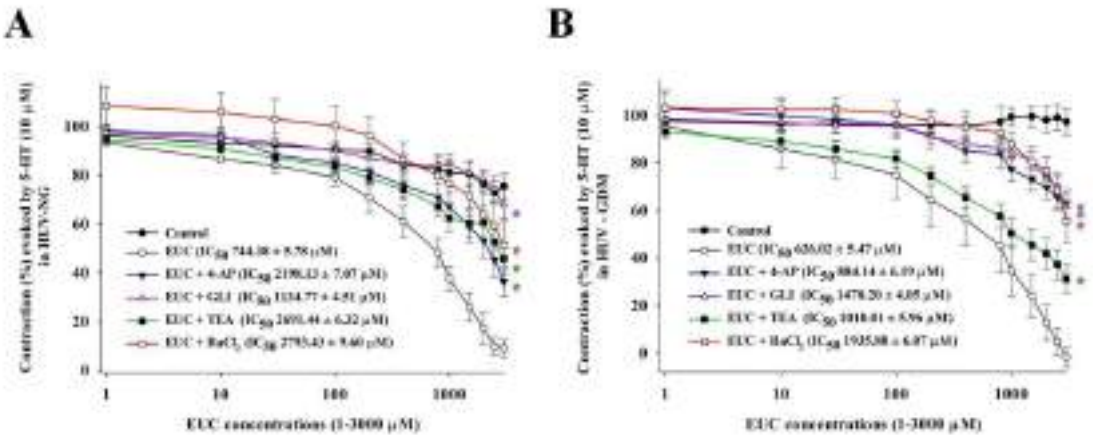


Fig. 4. Efeito relaxante do eucaliptol (EUC) em anéis desnudados de veia umbilical humana (VUH) na presença de bloqueadores de canais de potássio: 4-aminopiridina (4-AP; 1 mM), glibenclamida (GLI; 10 µM), tetraetilamônio (TEA; 1 mM), e cloreto de bário ($BaCl_2$; 500 µM). **(A)** VUH desnudadas de parturientes normoglicêmicas. **(B)** VUH desnudadas de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (DMG). Controle: solução salina fisiológica (Krebs-Henseleit) na ausência da substância de teste. Os valores são expressos como média±SEM; n = 7–14. O símbolo * indica diferença

estatisticamente significativa, conforme determinado pela análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste *post hoc* de Holm-Sidak, correspondendo a $p<0,001$.

4. Discussão

Nossos resultados demonstram, pela primeira vez, o efeito vasorrelaxante do EUC no MLV de VUH-NG e VUH-DMG. EUC reduziu o tônus basal em ambos os grupos vasculares, embora tenha sido observada diferença na sensibilidade ao EUC.

As características centrais do DMG incluem hiperglicemia, disfunção endotelial [29,30], estresse oxidativo [31] e inflamação vascular [32]. Adicionalmente, experimentos *ex vivo* usando vasos umbilicais humanos isolados demonstraram comprometimento da atividade dos canais iônicos [8,33]. Nossos achados funcionais com VUH desnudadas indicam que esses vasos mantém sua capacidade de responder a estímulos vasorrelaxantes.

VUH transporta sangue oxigenado da placenta para o feto [34] e, por não possuir inervação autonômica, depende de mecanismos regulatórios locais para controlar o tônus vascular [35]. Além disso, apresenta atividade contrátil sustentada por meio de mecanismos miogênicos dependentes de junções comunicantes, reservas intracelulares de Ca^{2+} [36] e canais K_{ATP} [37]. VUH isoladas de parturientes com DMG também apresenta menor dilatação induzida por adenosina e insulina, associada ao aumento de adenosina extracelular e alterações nos receptores de insulina [38], e expressão diminuída de canais K_{ATP} [8].

No estudo atual, EUC promoveu relaxamento no MLV de forma dependente da concentração em preparações pré-contraídas com KCl ou 5-HT, mostrando maior potência na reversão do acoplamento eletromecânico em ambas as condições (NG e DMG). Esses achados corroboram estudos anteriores que avaliaram a ação de produtos naturais (e.g., (*E*,*E*)-farnesol [17], metil-eugenol e eugenol [24]) em VUH-NG, demonstrando medidas de potência farmacológica maiores no acoplamento eletromecânico induzido por KCl. Em contraste, (–)-álcool perílico exibiu maior potência na reversão de acoplamentos farmacomecânicos em VUH-NG [14].

A vasoconstrição induzida por 5-HT em VUH é mediada por receptores $5\text{-}HT_{2A}$ e $5\text{-}HT_{1B}$ [39,40]. Em geral, no MLV, receptores $5\text{-}HT_{2A}$ são acoplados à proteína Gq, para ativar a via PLC/IP_3 aumentando a $[Ca^{2+}]_i$, enquanto receptores $5\text{-}HT_{1B}$ são acoplados à proteína Gi/o e promovem contração inibindo adenilato ciclase [41]. Nossos achados demonstram que EUC promove relaxamento das contrações induzidas por 5-HT, com menor IC_{50} em preparações de VUH-DMG, provavelmente devido a modificações patológicas na sinalização serotoninérgica do MLV.

Em artérias umbilicais de gestações com DMG, à vasoconstrição induzida por 5-HT é reduzida aparentemente devido disfunção endotelial, conforme experimentos usando indometacina.

Adicionalmente, a atividade de VOCC e da Na^+/K^+-ATPase parece contribuir para a resposta da 5-HT no DMG, porém de forma alterada [5]. Além disso, a expressão de receptores 5-HT_{2A} é reduzida em placentas de gestações com DMG [4]. Assim, se essas modificações também se estendem para o MLV de VUH, poderia explicar, pelo menos em parte, a maior sensibilidade da VUH-DMG ao relaxamento induzido por EUC na via serotoninérgica.

Embora não dispomos de evidências suficientes para afirmar que a interação do EUC com receptores serotoninérgicos seja a principal responsável pela vasodilatação observada, é plausível que EUC possa atuar em pelo menos um elemento a jusante no MLV, e.g., VOCC. Essa hipótese é apoiada inicialmente pela vasodilatação induzida por EUC no acoplamento eletromecânico.

EUC (1-3000 µM) promoveu relaxamento da vasoconstrição induzida por KCl em todas as preparações venosas umbilicais desnudadas. Do mesmo modo, EUC (3000 µM) foi capaz de prevenir a vasoconstrição induzida por $CaCl_2$ e $BaCl_2$ em VUH-NG desnudadas, indicando que EUC interfere na mobilização de Ca^{2+} extracelular no MLV. Esses dados estão em boa concordância com o efeito inibitório do EUC (6-2600 µM) sobre contrações induzidas por KCl em preparações de aortas isoladas [21]. Em geral, o mecanismo de contração vascular induzido por KCl se deve principalmente ao influxo de Ca^{2+} por VOCC no MLV [41,42], apoiando a hipótese de que EUC atua bloqueando essa entrada em condições normais.

A maior potência de EUC para inibir a vasoconstrição por KCl no MLV de VUH-DMG pode refletir uma maior dependência desses vasos do influxo de Ca^{2+}, uma vez que o DMG aumenta a expressão/atividade de canais VOCC em VUH [7]. Por outro lado, o DMG reduz transportadores de cálcio (e.g., CaBP28K e PMCA3) em tecidos placentários [43].

Em outras séries de experimentos, os anéis foram incubados em solução livre de Ca^{2+} e em seguida despolarizados com alto K^+, então adicionamos $CaCl_2$ para permear canais de Ca^{2+} presentes no MLV de VUH, de forma não seletiva, ou $BaCl_2$ para permear seletivamente VOCC tipo-L [23,44–48], a fim de direcionar o modo de ação do EUC para esses canais.

O controle positivo (nifedipina) utilizado é reconhecidamente um bloqueador de VOCC tipo L de uso clínico para distúrbios hipertensivos gestacionais [49], e preveniu efetivamente tanto a vasoconstrição por $CaCl_2$ quanto por $BaCl_2$ em VUH-NG e VUH-DMG desnudadas, sugerindo que VOCC tipo-L é o subtipo mais importante para a resposta contrátil mediada por esses íons divalentes no MLV.

Essa descoberta é consistente com o efeito do EUC na diminuição da contratilidade miocárdica de ratos supostamente devido sua ação como bloqueador de canais de Ca^{2+} [50], reforçando a importância desses canais em VUH como alvos de compostos naturais [17,24,14]. Adicionalmente, EUC inibiu a resposta contrátil ao Ba^{2+} em traqueia de cobaia [51] e íleo bovino [52]. Outros monoterpenos (e.g., limoneno, carveol, álcool perílico, carvacrol) também foram capazes

de inibir a vasoconstrição induzida por BayK-8644 (um ativador de VOCC tipo-L) [13,16]. Em conjunto essas evidências apóiam a hipótese da inibição de VOCC tipo-L no MLV por EUC.

Demonstramos também que o efeito de EUC sobre a resposta ao $CaCl_2$ foi ligeiramente superior ao da nifedipina indicando que EUC também pode atuar por mecanismos vasorrelaxantes adicionais (e.g., ativação de canais de K^+) em condições normais. Entretanto em VUH-DMG desnudadas, a eficácia de EUC para prevenir a vasoconstrição induzida por $CaCl_2$ foi ligeiramente reduzida, resultando em uma resposta de extensão equiparável a da nifedipina. Em contraste, a eficácia de EUC para prevenir a vasoconstrição induzida por $BaCl_2$ foi substancialmente reduzida.

Nossa interpretação desses dados é que o aumento da atividade/expressão de VOCC tipo-L em VUH induzido por DMG [7] possa ter amplificado o influxo de Ca^{2+} no MLV sobrepujando o bloqueio putativo de EUC nesses canais, e/ou ainda que as vias relaxantes alternativas no MLV (e.g., canais de K^+) que poderiam ser utilizadas pelo EUC estariam prejudicadas pelo DMG, em conformidade com a redução da expressão/atividade de canais K_{ATP} no MLV de VUH [8].

Para investigar mais a fundo a modulação de canais de K^+ por EUC no MLV usamos uma série de bloqueadores seletivos. Em geral, canais de K^+ regulam o tônus vascular, sua abertura promove efluxo de K^+, resultando em hiperpolarização da membrana do MLV e no relaxamento vascular. Assim, a investigação desses canais pode ter implicações clínicas na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares durante a gravidez [28]. Compostos naturais parecem modular canais de K^+ para induzir vasodilatação em VUH-NG, e.g., naringenina, resveratrol [53], (*E*,*E*)-farnesol [17], metil-eugenol e eugenol [24].

Nossos resultados indicam que esses canais contribuem para o efeito vasorrelaxante independente de endotélio do EUC em ambos os grupos, com perfil diferencial: K_{IR}>BK_{Ca}>K_V>K_{ATP} em VUH-NG; e K_{IR}>K_{ATP}>BK_{Ca}>K_V em VUH-DMG (vide alterações nos valores de IC_{50} na Tabela S1). Assim, o mecanismo de ação do EUC parece envolver predominantemente canais K_{IR}, embora não tenhamos conhecimento de alterações na expressão/atividade de canais K_{IR} no MLV pelo DMG, a função desses canais já foi estudada em VUH de gestações saudáveis por meio do inibidor farmacológico $BaCl_2$ [53].

Do mesmo modo, alterações na expressão/atividade de canais BK_{Ca} induzidas pelo DMG no MLV de VUH são desconhecidas por nós, entretanto no MLV de artérias umbilicais humanas, DMG reduz a expressão/atividade desses canais [33]. Se isso também se estende para o MLV de VUH, poderia explicar porque a participação desses canais no vasorrelaxamento do EUC foi menor em VUH-DMG do que em VUH-NG.

Estudos indicam que DMG não altera a expressão de canais de K^+ dependentes de voltagem no MLV de VUH [54,55]. Talvez por isso, a participação desses canais tenha sido menos expressiva tanto em VUH-NG quanto em VUH-DMG. Em contrapartida, a participação de canais K_{ATP} no efeito

vasorrelaxante do EUC em condições normais foi menor do que no DMG, o que contrasta com a redução da expressão/atividade de canais K_{ATP} no MLV de VUH pelo DMG [8].

A Fig. 5 resume os possíveis mecanismos de ação do EUC no MLV de VUH.

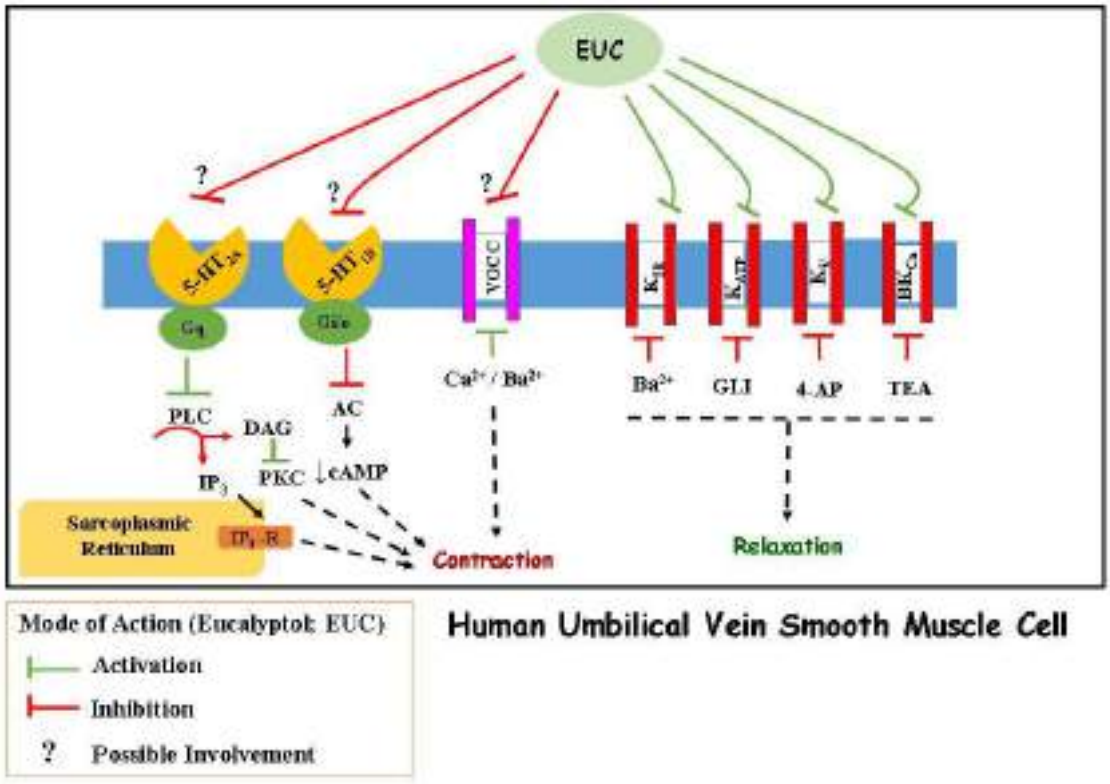


Fig. 5. Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos do eucaliptol sobre o tônus basal e ativo das veias umbilicais humanas desnudadas.

Por fim, a relação entre nossas descobertas (*ex vivo*) com condições *in vivo* deve ser interpretada com cautela, pois no estudo atual isolamos o modo de ação do EUC no nível de MLV. Desse modo, considerando que EUC também atua por vias dependentes de endotélio [19–21], não descartamos a hipótese de que o efeito vasorrelaxante do EUC possa ser potencializado em situações *in vivo*, uma questão que pode ser abordada por experimentos futuros. Além disso, embora EUC possa atravessar a barreira placentária de ratas [56], não sabemos se essa propriedade é transponível para placentas humanas, e qual concentração de EUC seria atingida nas VUH, essa questão também deve ser respondida por novos estudos.

5. Conclusão

Em resumo, EUC induz relaxamento discreto no tônus basal de VUH-NG e VUH-DMG desnudadas, e relaxa predominantemente a vasoconstrição induzida no MLV por despolarização em

comparação a vasoconstrição induzida por agonista, tanto em VUH-NG quanto em VUH-DMG. O mecanismo de ação do EUC parece envolver bloqueio de VOCC tipo-L e ativação de uma variedade de canais de K^+ no MLV de VUH de forma diferencial em relação às condições clínicas das parturientes (i.e., NG e DMG).

Além disso, as modificações fisiopatológicas induzidas pelo DMG no nível de MLV de VUH parecem alterar a farmacodinâmica de EUC, ainda assim o efeito vasorrelaxante do EUC foi mais potente sobre vias eletromecânica e farmacomecânica em VUH-DMG desnudadas. Assim, o estudo atual fornece uma base consistente para o desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas.

Financiamento

Fundação Cearense de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), por meio da bolsa de pós-doutorado (Edital nº 09/2023 – FUNCAP, número do processo FPD-0213-00019.01.00/23); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio do auxílio do programa de Bolsas de Produtividade em Pesquisa (PQ–C) (Chamada CNPq Nº 18/2024 – número do processo: 303515/2024-4); a Financiadora de Estudos e Projetos – Brasil (FINEP).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não ter conhecimento de quaisquer conflitos de interesse financeiros ou relações pessoais que possam ter influenciado a pesquisa relatada neste artigo.

Declaração de contribuição de autoria CRediT

Sara Tavares de Sousa Machado: Conceitualização, Curaçao dos dados, Investigação, Metodologia, Análise formal, Redação – rascunho original, Redação – revisão e edição. **Paulo Ricardo Batista:** Investigação, Redação – revisão e edição. **Franscisca Daliane Severino da Silva:** Curação de dados, Investigação, Metodologia. **Luís Pereira-de-Morais:** Metodologia, Redação – revisão e edição. **Laíza Maria Ulisses Magalhães:** Curação de dados, Investigação. **Roseli Barbosa:** Obtenção de financiamento, Recursos, Supervisão, Metodologia, Validação, Redação – revisão e edição.

Referências

[1] World Health Organization, Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy, World Health Organization, Geneva, 2013.

[2] Federação Internacional de Diabetes, IDF Diabetes Atlas, 10ª ed., 2021.

[3] M. Kadivar, M.E. Khamseh, M. Malek, A. Khajavi, A.H. Noohi, L. Najafi, Histomorphological changes of the placenta and umbilical cord in pregnancies complicated by gestational diabetes *mellitus*, Placenta 97 (2020) 71–78.

[4] M. Viau, J. Lafond, C. Vaillancourt, Expression of placental serotonin transporter and 5-HT_{2A} receptor in normal and gestational diabetes *mellitus* pregnancies, Reprod. Biomed. Online 19 (2009) 207–215.

[5] M. Radenković, N. Radunović, P. Momčilov, L. Grbović, Altered response of human umbilical artery to 5-HT in gestational diabetic pregnancy, Pharmacol. Rep. 61 (2009) 520–528.

[6] S.V. Ennazhiyil, A.V. Rajeev, M.K. Damodaran, T.T. Sukumaran, C. Srinivasan, R.P. Kunnathu, Effect of gestational diabetes *mellitus* and its management on the histological and histomorphometric structure of umbilical cord: a comparative study, Anat. Cell Biol. 58 (2025) 22–34.

[7] Y. He, Q. Ni, C. Zhang, I. Zhou, S. Li, Y. Tao, L. Liu, GDM enhanced acetylcholine induced vasoconstriction in human umbilical vein via CHRM3 and CACNA1C upregulation linked to promoter hypomethylation, Sci. Rep. 15 (2025) 24308.

[8] V. Djokic, S. Jankovic-Raznatovic, R. Novakovic, M. Kostic, J. Rajkovic, M. Labudovic-Borovic, L. Gojkovic-Bukarica, Effect of gestational diabetes *mellitus* and pregnancy-induced hypertension on human umbilical vein smooth muscle K_{ATP} channels, Exp. Mol. Pathol. 111 (2019) 104323.

[9] L. Sánchez-Trujillo, C. García-Montero, O. Fraile-Martinez, L.G. Guijarro, C. Bravo, J.A. De Leon-Luis, J.V. Saez, J. Bujan, M. Alvarez-Mon, N. García-Honduvilla, M.A. Saez, M.A. Ortega, Considering the effects and maternofoetal implications of vascular disorders and the umbilical cord, Medicina 58 (2022) 1754.

[10] L. Rasmussen, C.W. Poulsen, U. Kampmann, S.B. Smedegaard, P.G. Ovesen, J. Fuglsang, Diet and healthy lifestyle in the management of gestational diabetes *mellitus*, Nutrients 12 (2020) 3050.

[11] K.W. Kelley, D.G. Carroll, A. Meyer, A review of current treatment strategies for gestational diabetes *mellitus*, Drugs Context 4 (2015).

[12] D.W. Christianson, Structural and chemical biology of terpenoid cyclases, Chem. Rev. 117 (2017) 11570–11648.

[13] A.C. Cardoso-Teixeira, F.W. Ferreira-da-Silva, D. Peixoto-Neves, K. Oliveira-Abreu, Á. Pereira-Gonçalves, A.N. Coelho-de-Souza, J.H. Leal-Cardoso, Hydroxyl group and vasorelaxant effects of perillyl alcohol, carveol, limonene on aorta smooth muscle of rats, Molecules 23 (2018) 1430.

[14] C.M.S. Bastos, A.A. Silva, P.R. Batista, M.R.S. Duarte, L.M.U. Magalhães, Y.M.L.S. Matos, R.E.R. Duarte, I.R.A. Menezes, L.P. Morais, R. Barbosa, Influence of perillyl alcohol on human

umbilical vein relaxation: mechanisms involving calcium channels and protein kinase C, Placenta 174 (2026) 84–94.

[15] C.M.S. Bastos, L.P. Morais, A.A. Silva, D.M. Dantas, P.R. Batista, M.F.L. Gomes, G.A. Delmondes, I.R.A. Menezes, R.E.R. Silva, R. Barbosa, Perillyl alcohol promotes relaxation in human umbilical artery, Curr. Med. Chem. 31 (2024) 7072–7082.

[16] Đ. Đukanović, M. G. Bojić, S. Marinković, S. Trailović, M. P. Stojiljković, R. Škrbić, Vasorelaxant effect of monoterpene carvacrol on isolated human umbilical artery, Can. J. Physiol. Pharmacol. 100 (2022) 755–762.

[17] P.R. Batista, A.A. Silva, C.M.S. Bastos, A.S. Borges, F.J. Dias, L.R.S. Pereira, S.T.S. Machado, M.R. Kerntopf, R. Barbosa, Vasorelaxant effect of (*E*,*E*)-farnesol in human umbilical vein *ex vivo* assays, Chem.-Biol. Interact. 386 (2023) 110746.

[18] P.R. Batista, A.A. Silva, C.M.S. Bastos, R.E.R. Silva, G.L. Calixto, L.P. Morais, G.A. Delmondes, M.R. Kerntopf, I.R.A. Menezes, R. Barbosa, Vasodilation promoted by (*E*,*E*)-farnesol involving ion channels in human umbilical arteries, Heliyon 9 (2023) e17328.

[19] H. Murad, T. Alqurashi, Eucalyptol potentiates antianginal effect while blunts tachycardia of nifedipine in rats *via* nitric oxide, antioxidant, and anti-inflammatory pathways: *In vivo* and *in vitro* study, J. Funct. Foods 113 (2024) 106019.

[20] N.V. Pinto, A.M.S. Assreuy, A.N.C. Souza, V.M. Ceccatto, P.J.C. Magalhães, S. Lahlou, J.H.L. Cardoso, Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia zerumbet* and its main constituent 1,8-cineole in rats, Phytomedicine 16 (2009) 1151–1155.

[21] S. Lahlou, A.F. Figueiredo, P.J.C. Magalhães, J.H. Leal-Cardoso, Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats, Can. J. Physiol. Pharmacol. 80 (2002) 1125–1131.

[22] K. Saito, T. Kitajima, K. Uchida, Y. Kamikawa, Effects of Ba^{2+} on norepinephrine-induced contraction of rat thoracic aorta *in vitro*, Pharmacol. 61 (2000) 1–5.

[23] L.A. Aguiar, R.S. Porto, S. Lahlou, V.M. Ceccatto, R. Barbosa, T.L.G. Lemos, H.S. Santos, A.N.C. Souza, P.J.C. Magalhães, W.A. Zin, J.H.L. Cardoso, Antispasmodic effects of a new kaurene diterpene isolated from *Croton argyrophylloides* on rat airway smooth muscle, J. Pharm. Pharmacol. 64 (2012) 1155–1164.

[24] A.A. Silva, L.P. Morais, C.M.S. Bastos, D.M. Dantas, P.R. Batista, F.J. Dias, R. Barbosa, Vasorelaxant effect of phenylpropanoids: methyl eugenol and eugenol in human umbilical cord vein, Biomed. Pharmacother. 178 (2024) 117227.

[25] Y. Huang, Hydroxylamine-induced relaxation inhibited by K^+ channel blockers in rat aortic rings, Eur. J. Pharmacol. 349 (1998) 53–60.

[26] P.I. Aaronson, U. Sarwar, S. Gin, U. Rockenbauch, M. Connolly, A. Tillet, S. Watson, B. Liu, R. M. Tribe, A role for voltage-gated, but not Ca^{2+}-activated, K^+ channels in regulating spontaneous contractile activity in myometrium from virgin and pregnant rats, Br. J. Pharmacol. 147 (2006) 815–824.

[27] S.J. Hughes, M. Hollingsworth, Relaxin as a relaxant of the isolated rat uterus: comparison with its mechanism of action *in vivo*, Gen. Pharmacol. 29 (1997) 829–833.

[28] M. Lorigo, N. Oliveira, E. Cairrão, Clinical importance of the human umbilical artery potassium channels, Cells 9 (2020) 1956.

[29] L. Sobrevia, F. Abarzúa, J.K. Nien, C. Salomón, F. Westermeier, C. Puebla, P. Casanello, Differential placental macrovascular and microvascular endothelial dysfunction in gestational diabetes, Placenta 32 (2011) S159–S164.

[30] Q. Lan, Y. Zhou, J. Zhang, L. Qi, Y. Dong, H. Zhou, Y. Li, Vascular endothelial dysfunction in gestational diabetes *mellitus*, Steroids 184 (2022) 108993.

[31] R. Saucedo, C. Ortega-Camarillo, A. Ferreira-Hermosillo, M.F. Díaz-Velázquez, C. Meixueiro-Calderón, J. Valencia-Ortega, Role of oxidative stress and inflammation in gestational diabetes *mellitus*, Antioxidants 12 (2023) 1812.

[32] B. Rajaraman, N. Ramadas, S. Krishnasamy, V. Ravi, A. Pathak, C.S. Devasena, S. Vedantham, Hyperglycaemia causes vascular inflammation through advanced glycation end products/early growth response-1 axis in gestational diabetes *mellitus*, Mol. Cell. Biochem. 456 (2019) 179–190.

[33] H. Li, J.R. An, M.S. Seo, M. Kang, R. Heo, S. Park, W.S. Park, Downregulation of large-conductance Ca^{2+}-activated K^{+} channels in human umbilical arterial smooth muscle cells in gestational diabetes *mellitus*, Life Sci. 288 (2022) 120169.

[34] V.L. Ferguson, R.B. Dodson, Bioengineering aspects of the umbilical cord, Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 144 (2009) S108–S113.

[35] E. Mildenberger, G. Siegel, H.T. Versmold, Oxygen-dependent regulation of membrane potential and vascular tone of human umbilical vein, Am. J. Obstet. Gynecol. 181 (1999) 696–700.

[36] D.N. García-Huidobro, M.T. García-Huidobro, J.P.G. Huidobro-Toro, Vasomotion in human umbilical and placental veins: role of gap junctions and intracellular calcium reservoirs in their synchronous propagation, Placenta 28 (2007) 328–338.

[37] J.P. Huidobro-Toro, R. Gonzalez, J.A. Varas, A. Rahmer, Spontaneous rhythmic contractions of human placental vessels: is it an evidence for a physiological pacemaker in blood vessels?, Rev. Med. Chil. 129 (2001) 1105–1112.

[38] F. Westermeier, C. Salomón, M. González, C. Puebla, E. Guzmán-Gutiérrez, F. Cifuentes, A. Leiva, P. Casanello, L. Sobrevia, Insulin restores gestational diabetes *mellitus*–Reduced adenosine transport involving differential expression of insulin receptor isoforms in human umbilical vein endothelium, Diabetes 60 (2011) 1677–1687.

[39] M. Rogines-Velo, F. Pelorosso, C. Zold, W. Nowak, G. Pesce, S. Sardi, P. Brodsky, R. Rothlin, Characterization of 5-HT receptor subtypes mediating contraction in human umbilical vein. 1. Evidence of involvement of 5-HT_{2A} receptors using functional and radioligand binding assays, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 366 (2002) 587–595.

[40] M. Rogines-Velo, F. Pelorosso, C. Zold, P. Brodsky, R. Rothlin, Characterization of 5-HT receptor subtypes mediating contraction in human umbilical vein. 2. Evidence of involvement of 5-

HT_{1B} receptors using functional studies, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 366 (2002) 596–604.

[41] M. Lorigo, M. Mariana, J. Feiteiro, E. Cairrão, How is the human umbilical artery regulated?, J. Obstet. Gynaecol. Res. 44 (2018) 1193–1201.

[42] E. Cairrão, E. Álvarez, A.J. Santos-Silva, I. Verde, Potassium channels are involved in testosterone-induced vasorelaxation of human umbilical artery, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 376 (2008) 375–383.

[43] S. Varshney, R. Adela, G. Kachhawa, R. Dada, V. Kulshreshtha, R. Kumari, R. Khadgawat, Disrupted placental vitamin D metabolism and calcium signaling in gestational diabetes and pre-eclampsia patients, Endocrine 80 (2023) 191–200.

[44] F. Fusi, S. Saponara, M. Frosini, B. Gorelli, G. Sgaragli, L-type Ca^{2+} channels activation and contraction elicited by myricetin on vascular smooth muscles, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 368 (2003) 470–478.

[45] G. Ferreira, J. Yi, E. Ríos, R. Shirokov, Ion-dependent inactivation of barium current through L-type calcium channels, J. Gen. Physiol. 109 (1997) 449–461.

[46] M. Gentile, A. Panti, E. Paccagnini, P. Lupetti, S. Bova, F. Fusi, Ba^{2+}-induced vasoconstriction as a model to investigate the dynamin dependence of biological processes regulating vascular tone, Pharmacol. Res. Perspect. 13 (2025) e70184.

[47] N. Kamimura, S. Suga, J.Wada, Y. Mio, T. Suzuki, M. Wakui, Excitatory and inhibitory actions of norepinephrine on the Ba^{2+} current through L-type Ca^{2+} channels of smooth muscle cells of guinea-pig vas deferens, J. Cell. Physiol. 169 (1996) 373–379.

[48] R.E.R. Silva, A.A. Silva, L.P. Morais, N.S. Almeida, M. Iriti, M.R. Kerntopf, I.R.A. Menezes, H.D.M. Coutinho, R. Barbosa, Relaxant effect of monoterpene (−)-carveol on isolated human umbilical cord arteries and the involvement of ion channels, Molecules 25 (2020) 2681.

[49] B. Karadas, S. Acar-Sahan, S. Kantarci, N. Uysal, E. Horoz, T. Kaya-Temiz, Comparison of relaxant effects of nifedipine and NS11021 on isolated umbilical arteries of healthy and preeclamptic pregnant women, Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 280 (2023) 168–173.

[50] M.C.M.S. Soares, C.E.N. Damiani, C.M. Moreira, I. Stefanon, D.V. Vassallo, Eucalyptol reduces contractile activity in rat cardiac muscle, Braz. J. Med. Biol. Res. 38 (2005) 453–461.

[51] V.P. Bastos, T.S. Brito, F.J. Lima, J.P. Pinho, S. Lahlou, F.J. Abreu Matos, P.J. Caldas Magalhães, Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling, Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 36 (2009) 1120–1126.

[52] Y. Nozohour, M. Maham, B. Dalir-Naghadeh, Spasmolytic effect of 1,8-cineole is mediated through calcium channel blockade in the bovine ileum, Vet. Res. Forum (2022) 357.

[53] D. Protić, N. Radunović, S. Spremović-Radenović, V. Živanović, H. Heinle, A. Petrović, L. Gojković-Bukarica, The role of potassium channels in the vasodilatation induced by resveratrol and naringenin in isolated human umbilical vein, Drug Dev. Res. 76 (2015) 17–23.

[54] V. Djovic, S. Jankovic, M. Labudovic-Borovic, J. Rakocevic, J. Stanisic, J. Rakjovic, R. Novakovic, M. Kostic, M. Djuric, M. Gostimirovic, L. Gojkovic-Bukarica, Pregnancy-induced hypertension decreases K_V1.3 potassium channel expression and function in human umbilical vein smooth muscle, Eur. J. Pharmacol. 882 (2020) 173281.

[55] V. Djokić, M. Gostimirović, J. Rajković, J. Rakočević, M. Labudović-Borović, S. Janković, L. Gojković-Bukarica, Expression of Kv4.2 and Kv4.3 potassium channels in human umbilical veins from normal, diabetic, and hypertensive pregnancies, Vojnosanit Pregl. 80 (2023) 01.

[56] A. Jori, G. Briatico, Effect of eucalyptol on microsomal enzyme activity of foetal and newborn rats, Biochem. Pharmacol. 22 (1973) 543–544.

MATERIAIS SUPLEMENTARES

Tabela S1
Parâmetros farmacodinâmicos do eucaliptol (EUC) na presença de diferentes agentes contráteis em veias umbilicais humanas (VUH) desnudadas de parturientes normoglicêmicas (NG) e parturientes com diabetes *mellitus* gestacional (DMG).

Agentes Contráteis	VUH – NG		VUH - DMG		*p*-value (IC_{50} NG *vs.* DMG)
	EUC – IC_{50} µM (*n*)	[EUC] µM *p*<0.05	EUC - IC_{50} µM (*n*)	[EUC] µM *p*<0.05	
KCl (60 mM)	538.41±6.20 (15)	200	403.77±4.95 (8)	100	<0.001
5-HT (10 µM)	744.38±5.78 (14)	200	626.02±5.47 (7)	400	<0.001
TEA (1 mM)	2691.44±6.32 (14)	200	1010.01±5.96 (13)	400	<0.001
4-AP (1 mM)	2198.13±7.07 (11)	400	884.14±6.19 (10) *	1000	<0.001
GLI (10 µM)	1134.77±4.51 (11) *	2000	1470.20±4.05 (10) *	1000	<0.001
$BaCl_2$ (500 µM)	2793.43±9.60 (11)	400	1935.88±6.07 (11) *	2000	<0.001

A tabela mostra os parâmetros farmacodinâmicos do EUC (1-3000 µM) obtidos a partir das curvas concentração-resposta para cada agente contrátil avaliado. A concentração inibitória média (IC_{50}) representa a potência farmacológica de EUC. As concentrações micromolares de EUC que apresentaram diferença estatisticamente significativa "[EUC] µM p<0,05" indicam o ponto na curva a partir do qual se observa o início do efeito relaxante. Os valores *p* indicam diferença estatística na comparação entre IC_{50} dos grupos VUH-NG *vs.* VUH-DMG no teste *t* de Student, com o número de experimentos (*n*) indicado entre parênteses. Nos casos em que a redução na resposta contrátil foi inferior a 50%, calculou-se uma IC_{50} relativa, marcada com um asterisco. KCl (cloreto de potássio); 5-HT (5-hidroxitriptamina/serotonina); TEA (tetraetilamônio); 4-AP (4-aminopiridina); GLI (glibenclamida); $BaCl_2$ (cloreto de bário).

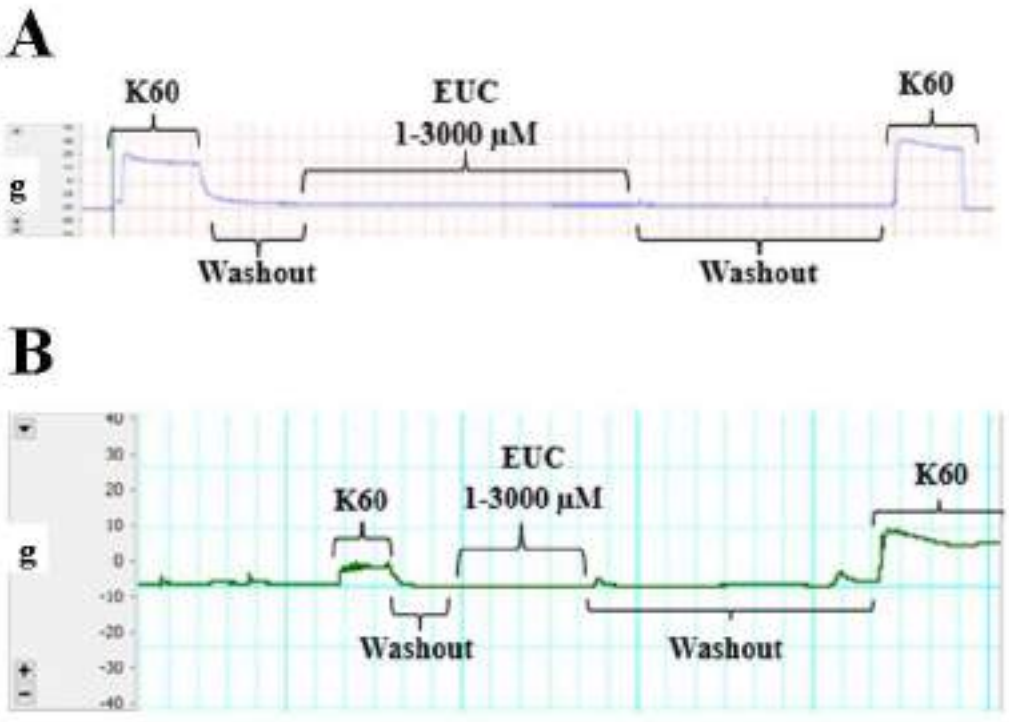


Fig. S1. Reversibilidade do efeito do eucaliptol (EUC) no tônus basal de anéis desnudados de veia umbilical humana (VUH) após lavagem. **(A)** Traçado original demonstrando a reversibilidade do EUC no tônus basal de VUH desnudadas de parturientes normoglicêmicas. **(B)** Traçado original demonstrando a reversibilidade do EUC no tônus basal de VUH desnudadas de parturientes com diabetes *mellitus* gestacional. K60 (cloreto de potássio; 60 mM).

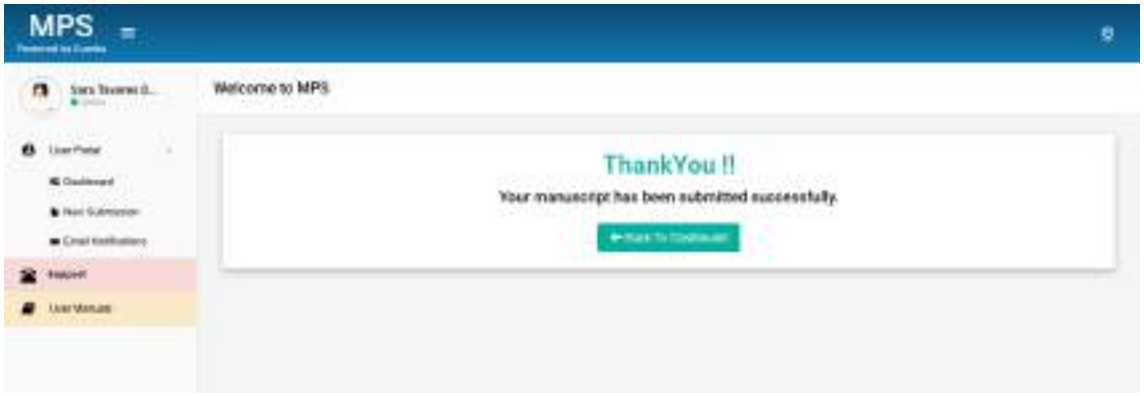
Manuscrito 1: Atividade vasorrelaxante do eucaliptol (1,8-cineol) em preparações *ex vivo* e *in silico* de artéria umbilical humana na ausência e presença de diabetes *mellitus* gestacional

Sara Tavares de Sousa Machado, Paulo Ricardo Batista, Franscisca Daliane Severino da Silva, Maria Raquel da Silva Duarte, Luís Pereira de Morais, Emmanuel Silva Marinho, Márcia Machado Marinho, Jacilene Silva, Irwin Rose Alencar de Menezes, Roseli Barbosa

[1] Departamento de Química Biológica, Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, Campus Pimenta, Universidade Regional do Cariri, Crato 63105-010, Ceará, Brasil
[2] Departamento de Química Biológica, Laboratório de Fisiofarmacologia de Células Excitáveis, Campus Pimenta, Universidade Regional do Cariri, Crato 63105-010, Ceará, Brasil.

Current Medicinal Chemistry(CMC) / https://www.benthamscience.com/journals/current-medicinal-chemistry/ A1 ciências biológicas II|

Situação: Submetido



RESUMO

A diabetes *mellitus* gestacional (DMG) é uma condição metabólica frequente na gestação, associada a alterações na função vascular fetoplacentária que podem comprometer a circulação umbilical e contribuir para desfechos adversos materno-fetais, como hipertensão e parto prematuro. Nesse contexto, investigar substâncias de origem natural capazes de modular a reatividade dos vasos umbilicais torna-se relevante. O eucaliptol (EUC; 1,8-cineol) é um monoterpenoide com propriedades anti-inflamatórias, gastroprotetoras, antimicrobianas e expectorantes, cujo efeito vasodilatador já foi descrito em diferentes modelos experimentais. Entretanto, sua ação sobre as artérias umbilicais humanas (AUH) permanece inexplorada, especialmente no contexto da DMG. Assim, objetivou-se investigar o efeito do EUC sobre a reatividade da AUH, na ausência e na presença DMG. Segmentos de AUH foram montados em banho de órgãos para registros de tensão isométrica em diferentes protocolos experimentais na presença de EUC (1–3000 µM). O EUC inibiu a vasoconstrição induzida por KCl e 5-HT, apresentando maior potência em AUH-NG. Além disso, em AUH mantidas em solução nutridora livre de Ca^{2+} e despolarizadas com K^+, observou-se que o EUC (1-3000 µM) foi capaz de inibir significativamente as contrações induzidas por $BaCl_2$ e $CaCl_2$ em ambos os grupos, quando comparado ao controle (nifedipina). A presença dos bloqueadores de canais de potássio TEA, 4-AP, GLI e $BaCl_2$ alterou a resposta ao EUC de maneira diferencial entre as preparações, sendo observada maior potência em AUH-NG na presença de TEA, 4-AP e $BaCl_2$, enquanto na presença de GLI o EUC apresentou maior potência em AUH-DMG. Os resultados indicam que o efeito vasorrelaxante do EUC envolve a modulação de canais de Ca^{2+} e K^+, com maior potência sobre as vias eletromecânica e farmacomecânica em AUH-NG. Em condições normoglicêmicas, o efeito esteve principalmente relacionado aos canais de Ca^{2+} do tipo L e, em menor grau, aos canais K_V, K_{ATP}, K_{IR} e BK_{Ca}. Na presença de DMG, observou-se alteração desse perfil farmacológico, com reorganização dos mecanismos vasorrelaxantes e maior dependência dos canais de Ca^{2+} do tipo L.

Palavras-chave: Terpeno. Vasos umbilicais humanos. 1,8-Cineol. Canais iônicos.

1 Introdução

A diabetes *mellitus* gestacional (DMG) é caracterizada por um estado de intolerância à glicose decorrente da incapacidade do pâncreas materno em atender às crescentes demandas metabólicas impostas pela gestação, resultando em hiperglicemia diagnosticada pela primeira vez durante a gravidez (Metzger e Coustan, 1998). Trata-se de um problema de saúde pública em expansão, afetando cerca de 14% das gestações em nível global (IDF, 2014). A doença associa-se a desfechos maternos e perinatais adversos, incluindo maior necessidade de cesariana, hipoglicemia neonatal e aumento do risco de desenvolvimento futuro de diabetes tipo 2 nas mães (Ovesen *et al*., 2015; Voormolen *et al*., 2018; Ben-Haroush *et al*., 2004).

Além disso, inflamação desempenha papel central na fisiopatologia da diabetes (Lontchi-Yimagou *et al*., 2013; Tsalamandris *et al*., 2019), em que, a liberação de mediadores inflamatórios intensifica o tônus vascular, reduzindo o fluxo feto-placentário e elevando a pressão arterial (Ghanem e Movahed, 2007), o que resulta em prejuízos vasculares, hepáticos, renais e cerebrais (Kahhale e Francisco, 2018). A exposição prolongada do feto à hiperglicemia além de contribuir para alterações vasculares, promove restrição do crescimento intrauterino e maior suscetibilidade a doenças cardiovasculares ao longo da vida (Bo *et al*., 2007; Fasoulakis *et al*., 2023). Ademais, a disfunção endotelial, frequentemente associada ao diabetes, também favorece o desenvolvimento de vasculopatias e está relacionada ao aumento da morbimortalidade (He e Wu, 2021; Savvidou; Geerts; Nicolaides, 2002; Aldahmash; Alwasel; Aljerian, 2022).

Diante desse contexto, cresce o interesse na investigação de moléculas com potencial ação sobre a musculatura lisa vascular. Entre essas substâncias, destacam-se os metabólitos secundários vegetais, os quais representam uma fonte relevante de compostos bioativos com atividade farmacológica diversa (Lahlou, 2013). Diferentes classes, como terpenos (Batista *et al*., 2023), flavonoides (Abdallah *et al*., 2020), alcaloides (Liew *et al*., 2012), cumarinas (Alves *et al*., 2020) e saponinas (Haq *et al*., 2021), já demonstraram efeitos vasorrelaxantes em modelos experimentais.

Nesse cenário, o monoterpeno eucaliptol (EUC), ou 1,8-cineol, destaca-se como uma molécula de interesse farmacológico. Estudos experimentais demonstram que o EUC promove queda dependente da dose na pressão arterial e induz vasodilatação em preparações de aorta isolada (Lahlou *et al*., 2002). Além disso, o composto apresenta propriedades anti-inflamatórias (Leichtle *et al*., 2024), antioxidantes e moduladoras da reatividade vascular, tendo mostrado capacidade de reduzir estresse oxidativo, aumentar a disponibilidade de óxido nítrico e atenuar remodelamento vascular em diferentes modelos experimentais (Linghu et al., 2016; Chen et al., 2023; Hoch *et al*., 2023). Mais recentemente, demonstrou-se que o EUC também promove relaxamento da veia umbilical humana,

com resposta diferencial entre gestantes saudáveis e aquelas com DMG (Machado *et al*., 2026), reforçando seu potencial como modulador da reatividade vascular umbilical.

Apesar desses achados, ainda não se sabe se o efeito vasorrelaxante do EUC se estende às artérias umbilicais humanas (AUH), cuja regulação do tônus é determinante para a resistência vascular e o fluxo sanguíneo fetoplacentário (Acharya *et al.*, 2016). Essa questão ganha relevância na DMG, condição associada a alterações na reatividade vascular que podem modificar a dinâmica da circulação umbilical (Radenković *et al.*, 2009). Assim, investigar se a resposta das AUH ao EUC é preservada ou modificada na DMG pode contribuir para compreender seu potencial como modulador da circulação fetoplacentária. Ao abordar essa questão de forma comparativa, este estudo fornece a primeira evidência sobre a ação do EUC em AUH humanas e amplia o conhecimento sobre seu potencial como modulador dessa circulação. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito vasorrelaxante do eucaliptol em AUH provenientes de parturientes normoglicêmicas e com DMG, bem como explorar os possíveis mecanismos envolvidos nessa resposta.

2 Materiais e método

2. 1 Drogas, reagentes e soluções

Os fármacos e reagentes utilizados apresentaram pureza analítica e foram adquiridos da Sigma Chemical Corporation (St. Louis, MI, EUA) ou Merck (Darmstadt, Alemanha). Para a preparação das soluções, o Eucaliptol (CAS: 470-82-6) foi diluído em 3% de tween e em solução de Krebs-Henseleit. A 5-hidroxitriptamina (5-HT), cloreto de bário ($BaCl_2$), cloreto de cálcio ($CaCl_2$), tetraetilamônio (TEA), 4-aminopiridina (4-AP) e glibenclamida (GLI) foram dissolvidos em água destilada, e a nifedipina foi diluída em etanol. Todas as soluções foram mantidas a temperaturas entre 0 e 4 °C. No que diz respeito às soluções de Krebs-Henseleit, foram preparadas quatro variações, conforme descrito por Batista *et al*. (2023). As soluções foram mantidas em condições controladas, com atmosfera de carbogênio (O_2/CO_2 95:5), temperatura de 37°C e pH ajustado para 7,4.

2. 2 Obtenção, preparação e isolamento da artéria

A coleta foi aprovada pelos Comitês de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Regional do Cariri (URCA) (parecer nº 6.653.278) e do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis. Após a aprovação ética, foram obtidos fragmentos de aproximadamente 10 cm de cordões umbilicais humanos de gestantes com idades entre 18 e 40 anos, após partos a termo (37ª a 41ª semana de gestação), realizados por via cesariana ou vaginal. As participantes, normoglicêmicas

ou diagnosticadas com Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), não apresentavam condições associadas ou anormalidades no cordão umbilical e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ao todo, foram incluídas 59 parturientes na pesquisa.

As amostras foram armazenadas em solução de Krebs modificada (Batista *et al*., 2023) e transportadas ao Laboratório de Fisiofarmacologia da URCA, onde permaneceram refrigeradas (4-8 °C) por até 48 horas. As AUH foram isoladas da geleia de Wharton e seccionadas em anéis de 3-4 mm.

2.3 Experimentos de contratilidade vascular *ex vivo*

Após a retirada da geleia de Wharton, os anéis de AUH foram montados em um equipamento de banho de órgãos isolados, conectados a um transdutor de força para medir a tensão isométrica gerada. O transdutor converteu os sinais em dados eletrônicos, que foram registrados e analisados com o software LabChart Pro. Os anéis foram suspensos em ganchos e mantidos a uma tensão isométrica de 3gf, dentro de câmaras contendo solução de Krebs-Henseleit, mantida a 37 ºC e com mistura de gases O_2/CO_2 95/5% para garantir as condições ideais.

Inicialmente, o tecido foi submetido a um período de estabilização de 90 minutos, necessário para sua adaptação ao sistema de banho de órgãos isolados e para a obtenção de respostas basais consistentes. Após essa etapa, os anéis foram avaliados quanto à viabilidade tecidual por meio de contrações evocadas com 60 mM de KCl, garantindo que apenas preparações responsivas fossem incluídas nos ensaios subsequentes. O efeito do EUC foi avaliado no tônus vascular, com adições cumulativas (1-3000 µM) a cada 5 minutos. A resposta também foi testada após estímulos com K60 ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) para investigar a inibição de acoplamentos eletromecânicos e farmacomecânicos.

Para estudar a influência dos canais iônicos (Ca^{2+} e K^+), os anéis foram tratados com K60 e pré-incubados com EUC ou nifedipina (controle positivo). Curvas de concentração-resposta foram geradas com $CaCl_2$ ou $BaCl_2$ (0,1-20 mmol/L), avaliando a função dos canais de Ca^{2+}. Além disso, bloqueadores de canais de potássio, como etraetilamônio (TEA), 4-aminopiridina (4-AP), glibenclamida (GLI) e cloreto de bário ($BaCl_2$), foram usados para investigar o papel dos canais de K^+ no vasorrelaxamento induzido por EUC. A reversibilidade das respostas foi testada ao final do experimento, após remoção do EUC e indução de nova contração com K60.

2.4 Métodos para acoplamento molecular

2.4.1 Preparação do ligante e do receptor para estudos de acoplamento

A estrutura química do Eucaliptol (CID2758) obtida no repositório PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) foi renderizada utilizando o *software* MarvinSketch (https://chemaxon.com/marvin), o confômero de menor energia foi salvo em pH fisiológico, em seguida otimizado utilizando o *software* Avogadro (https://avogadro.cc/), configurado para utilizar algoritmo *steepest descent* e campo de força MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*) (Halgren, 1996).

Para investigar *in silico* a atividade vasorelaxante (vasorelaxamento) do EUC frente aos receptores de serotonina (5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} e 5-HT_{2A}) e canais iônicos (L-type VOCC, Kv, K_{ATP}, BK_{Ca} e K_{IR}), as estruturas dos receptores alvos foram obtidas no repositório Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/), PDB ID: 4IAQ (Wang *et al*., 2013) , 7E32 (Xu *et al*., 2021), 6A93 (Kimura *et al*., 2019), 5V2P (Findeisen *et al*., 2017), 7WF4 (Tyagi *et al*., 2022), 7MJP (Sung *et al*., 2021), 6V35 (Tao e MacKinnon, 2019) e 1U4F (Pegan *et al*., 2005) respectivamente. Na etapa de preparação dos alvos foram removidos os resíduos, adicionados os hidrogênios polares, cargas Kollman e cargas Gasteiger (Yan *et al*., 2014) utilizando o software Autodocktools ™ (https://autodocksuite.scripps.edu/adt/) (Huey; Morris e Forli, 2012) .

2.4.2 Simulação de acoplamento molecular e saída de dados

As simulações de docking molecular foram realizadas utilizando o software AutodockVina (Trott e Olson, 2010), *Lamarkian Genetic Algorithm* (LGA), *Exhaustiveness* 124 e *grid box* envolvendo toda a estrutura dos alvos proteicos utilizando os eixos (-15.348 x, -19.473 y, 23.365 z) e size (80 x, 126 y, 78 z) frente ao 5-HT1B, eixos (95.21 x, 114.52 y, 95.141 z) e size (74 x, 100 y, 126 z) frente ao 5-HT1D, eixos (46.165 x, 1.118 y, 39.560 z) e size (114 x, 60 y, 116 z) frente ao 5-HT2A, eixos (4.458 x, 19.836 y, 128.247 z) e size (82 x, 64 y, 88 z) frente ao L-type VOCC, eixos (181.790 x, 180.167 y, 189.692 z) e size (104 x, 110 y, 126 z) frente ao KV, eixos (207.091 x, 164.025 y, 205.977 z) e size (66 x, 92 y, 82 z) frente ao KATP, eixos (166.847 x, 165.726 y, 160.859 z) e size (126 x, 122 y, 126 z) frente ao BKCa e eixos (29.791 x, 33.962 y, 34.461 z) e size (82 x, 110 y, 110 z) frente ao KIR. Foram realizadas 50 simulações gerando 20 poses por simulação e como critério de seleção da *best pose*, foi utilizado o parâmetro estatístico RMSD (*Root Mean Square Deviation*) com valores até 2.0 Å (Yusuf *et al*., 2008) e energia de afinidade inferior a -6.0 kcal/mol (Shityakov e Förster, 2014).

Para obtenção de dados comparativos, foram realizadas simulações com os bloqueadores usados nos ensaios experimentais, SB-216641 (5-HT1B) (Santos-Silva *et al*., 2009), GR-127935 (5-HT1D) (Lovren *et al*., 1999), Ketanserin (5-HT2A) (Rogines-Velo *et al*., 2002), Nifedipine (L-type

VOCC), 4-AP (Kv), GLI (K_{ATP}), TEA (BK_{Ca}) e ML133 (K_{IR}) (Lorigo, Oliveira e Cairrão, 2020). Também foi realizada a predição de sítios de ligação e possíveis cavidades usando a plataforma virtual ProteinsPlus (*Zentrum für Bioinformatik: Universität Hamburg - Proteins Plus Server*) (Graef, Ehrt, Rarey, 2023).

2.5 Análise estatística

Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (S.E.M.). A análise estatística e a elaboração dos gráficos foram realizadas utilizando o software SigmaPlot 11.0. Resultados com uma probabilidade de hipótese nula inferior a 5% ($p < 0,05$) foram considerados estatisticamente significativos. Para comparações de médias, foi aplicada a análise de variância (one-way ANOVA), seguidos pelo teste de Holm-Sidak. Os valores de CE_{50} foram calculados como a concentração da substância necessária para produzir 50% de inibição ou efeito máximo. Uma interpolação logarítmica foi utilizada para os cálculos em cada experimento.

3 Resultados

3.1 Efeito do eucaliptol sobre o tônus basal de artéria umbilical humana em condições normoglicêmicas e com diabetes mellitus gestacional

Para investigar o impacto do eucaliptol (EUC) sobre o tônus basal da artéria umbilical humana (AUH), foram utilizadas concentrações crescentes e cumulativas da substância (1-3000 µM) em anéis de AUH de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes gestacional (AUH-DMG), na ausência de agente contrátil (Figura 1). Observou-se uma discreta redução do tônus a partir de 100 µM de EUC no grupo AUH-NG e de 200 µM no grupo AUH-DMG, ambas com significância estatística em relação à concentração controle ($p < 0,050$ *t test student*).

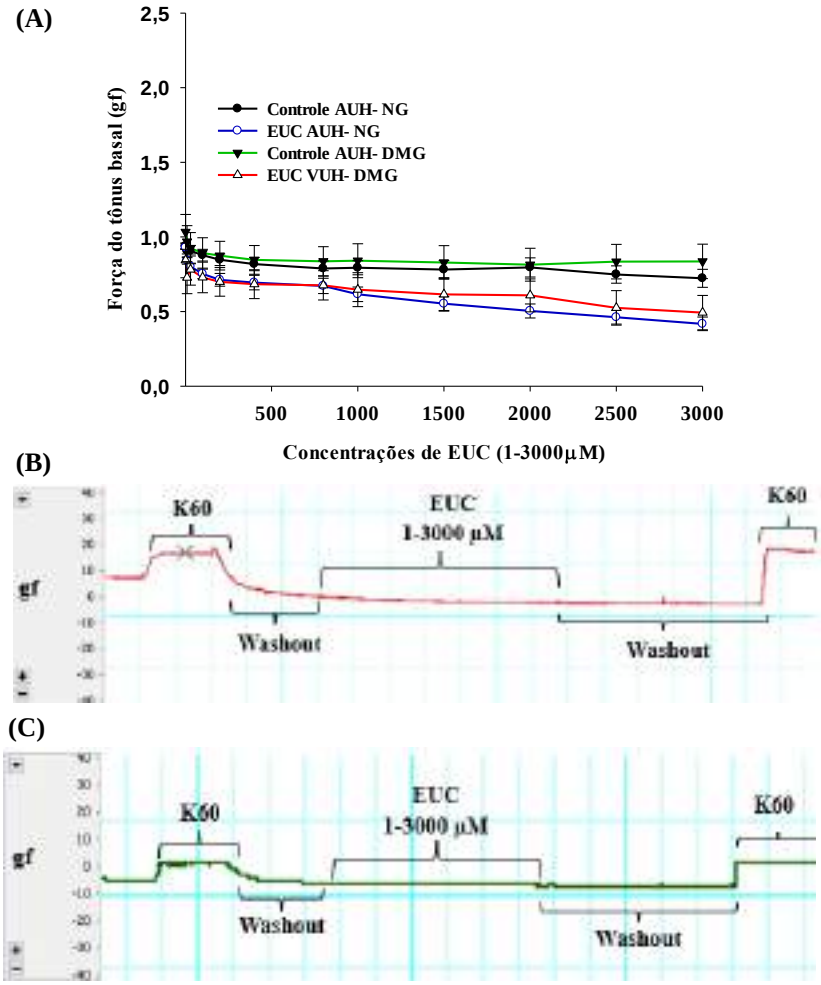


Figura 1: (A) Gráfico representativo do efeito do EUC (1 - 3000 µM) no tônus basal da artéria umbilical humana (AUH) de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG; n=22) e com diabetes gestacional (AUH-DMG; n=6). (B) Registro original mostrando a reversão do efeito do EUC no tônus basal das AUH-NG. (C) Registro original mostrando a reversão do efeito do EUC no tônus basal das AUH-DMG. Valores expressos como média ± S.E.M. (n = 5). Os valores estão expressos como média + SEM (p < 0.05, *oneway* ANOVA).

3.2 Efeito do eucaliptol nas contrações induzidas por KCl (60 mM), 5-HT (10 µM) em Condições Normoglicêmicas e com Diabetes Mellitus Gestacional

Examinou-se o efeito do EUC administrado gradualmente ao banho de órgãos sobre as contrações da musculatura lisa de AUH promovidas por K^+ (KCl 60 mM; acoplamento eletromecânico) e 5-HT (10 µM; acoplamento farmacomecânico).

Em AUHs de gestantes normoglicêmicas, o EUC promoveu relaxamento completo das contrações induzidas por KCl, com CE_{50} de 928,69 ± 3,81 µM, atingindo 100% de inibição a 2500 µM (Figura 2A), com diferença estatisticamente significativa a partir de 200 µM ($p < 0,001$; ANOVA one-way). Para a 5-HT, o efeito relaxante máximo foi semelhante, com inibição total observada na concentração de 2500 µM de EUC (Figura 2B). No entanto, a CE_{50} diferiu, com valores de 512,37 ± 5,24 µM e apresentando significância estatística a partir de 100 µM ($p < 0,001$; ANOVA one-way).

Nas AUHs de gestantes com DMG, o EUC também induziu relaxamento das contrações provocadas por KCl, com CE_{50} de 1528,46 ± 5,75 µM e inibição total com 2500 µM (Figura 2A), com significância a partir de 200 µM ($p < 0,001$; ANOVA one-way). No modelo farmacomecânico com 5-HT, observou-se uma CE_{50} de 1279,48 ± 1,71 µM e inibição máxima de 85,42% (Figura 2B), com efeito estatisticamente significativo a partir de 400 µM ($p < 0,001$; ANOVA one-way).

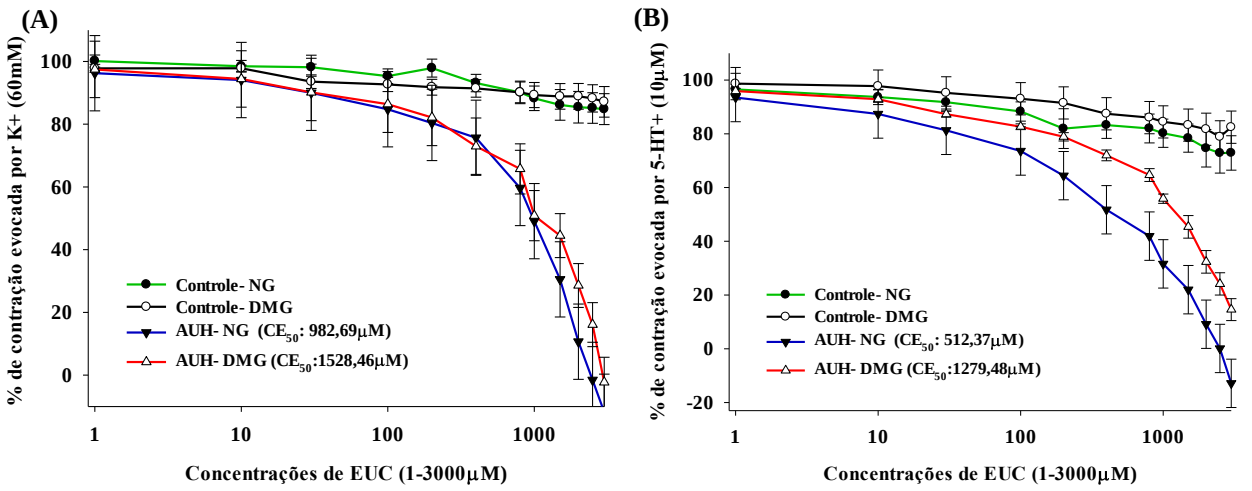


Figura 2: Efeito vasorrelaxante do EUC sobre o acoplamento eletromecânico e farmacomecânico em preparações de artéria umbilical humana (AUH) de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes gestacional (AUH-DMG). 2A: Curva concentração-resposta do EUC (1-3000 µM) em preparações de AUH-NG e AUH-DMG pré-contraídas com KCl (60 mM, hipertônico). 2B: Curva concentração-resposta do EUC (1-3000 µM) em preparações de AUH-NG e AUH-DMG contraídas com 5-HT (10 µM). Os valores são expressos como a média ± S.E.M; (p <0,05, *one way* ANOVA).

3.3 Efeito do eucaliptol sob contrações evocadas por Ba2+ ($BaCl_2$) e Ca2+ ($CaCl_2$) em preparações de artéria umbilical humana previamente despolarizada por K^+ (KCl 60 mM) em Condições Normoglicêmicas e com Diabetes Mellitus Gestacional

Em AUH- NG, mantidas em solução nutridora livre de Ca^{2+} e despolarizadas com K^+ (60 mM), a adição cumulativa de Ba^{2+} ($BaCl_2$, 0,1-30 mM) promoveu contrações dependentes da concentração, com pico de 1,69 gf em 30 mM. Em 30 mM de Ba^{2+}, o EUC (3000 µM) inibiu significativamente essa resposta, reduzindo a contração para 0,54 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way). A nifedipina (10 µM) também apresentou efeito inibitório semelhante, com redução para 0,56 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way).

A respeito das AUHs de gestantes com DMG, as contrações induzidas por Ba^{2+} ($BaCl_2$, 0,1-30 mM) também foram dependentes da concentração, com pico de 1,36 gf em 10 mM. O tratamento com EUC (3000 µM) reduziu a contração para 0,81 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way), e a nifedipina para 0,77 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way). Na concentração de 30 mM de $BaCl_2$, as contrações foram inibidas para 0,72 gf com EUC e 0,79 gf com nifedipina (Figura 3B).

De modo similar, a adição cumulativa de Ca^{2+} ($CaCl_2$, 0,1-30 mM) em AUH-NG induziu contrações com pico de 1,54 gf em 20 mM. O EUC (3000 µM) reduziu essa resposta para 0,62 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way), enquanto a nifedipina diminuiu a contração para 0,69 gf ($p < 0,001$;

ANOVA one-way). Em 30 mM de $CaCl_2$, a contração foi reduzida para 0,63 gf pelo EUC e para 0,71 gf pela nifedipina (Figura 3C). A respeito das AUHs de gestantes com DMG, observou-se padrão semelhante, com pico contrátil em 10 mM (1,3 gf), sendo a resposta inibida por EUC (3000 µM) para 0,81 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way) e por nifedipina para 1,0 gf ($p < 0,001$; ANOVA one-way). Na concentração máxima de $CaCl_2$, a redução foi de 0,77 gf com EUC e de 0,87 gf com nifedipina (Figura 3D).

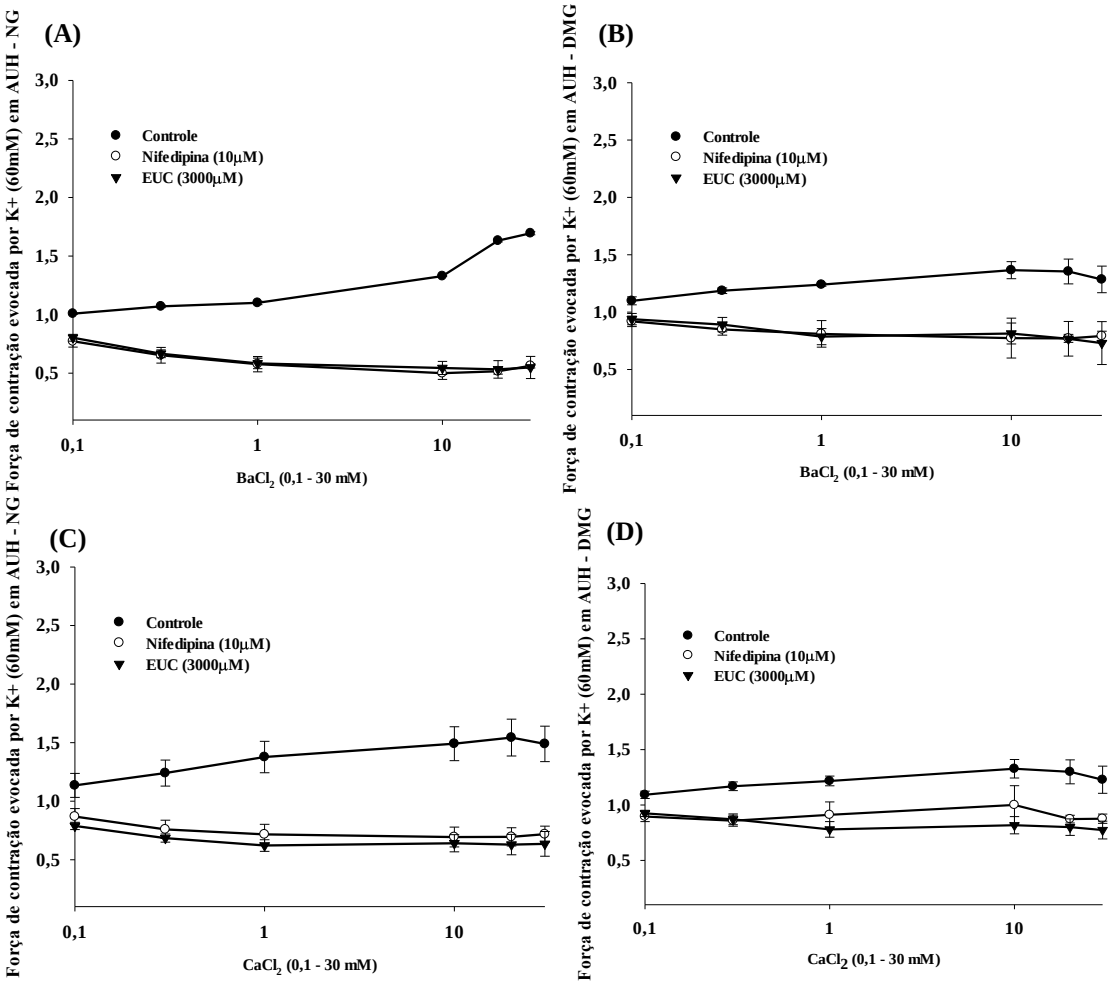


Figura 3. Efeito do EUC sobre contrações induzidas por Ba^{2+} ($BaCl_2$) e Ca^{2+} ($CaCl_2$) em preparações de artéria umbilical humana (AUH) previamente despolarizadas por K^+ (KCl 60 mM). A nifedipina (10 µM) foi utilizada como controle positivo para os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem. 3A: Efeito do EUC (1-3000 µM) sobre as contrações induzidas por $BaCl_2$ (0,1-30 mM) em AUH normoglicêmica (AUH-NG). 3B: Efeito do EUC (1-3000 µM) sobre as contrações induzidas por $BaCl_2$ (0,1-30 mM) em AUH com diabetes mellitus gestacional (AUH-DMG). 3C: Efeito do EUC (1-3000 µM) sobre as contrações induzidas por $CaCl_2$ (0,1-30 mM) em AUH-NG. 3D: Efeito do EUC (1-3000 µM) sobre as contrações induzidas por $CaCl_2$ (0,1-30 mM) em AUH- DMG. Os valores são expressos como média ± SEM; n = 5 (p < 0,05, ANOVA one way).

3.4 Efeito relaxante do eucaliptol em presença de bloqueadores de canais de K+: TEA (1 mM), 4-AP (1 mM), $BaCl_2$ *(500 µM) e GLI (10 µM) em Condições Normoglicêmicas e com Diabetes Mellitus Gestacional*

Investigou-se os efeitos do EUC (1-3000 µM) sobre contrações sustentadas por 5-HT (10 µM) em AUH- NG e AUH- DMG previamente incubadas com bloqueadores de canais de K^+:

tetraetilamônio (TEA, 1 mM), 4-aminopiridina (4-AP, 1 mM), cloreto de bário ($BaCl_2$, 500 µM) e glibenclamida (GLI, 10 µM).

A Figura 4A demonstra que, na presença de TEA, observou-se uma intensificação do relaxamento induzido pelo EUC, evidenciada pelo deslocamento da curva concentração-efeito para baixo e para a esquerda, com redução da CE_{50} de 512,37 ± 5,24 para 453,05 ± 6,73 µM, sendo os efeitos significativos a partir da concentração de 200 µM ($p < 0,001$; ANOVA one-way). A presença de GLI e $BaCl_2$ não alterou o relaxamento máximo induzido pelo EUC, mas reduziu a sensibilidade tecidual, com CE_{50} de 785,16 ± 4,40 µM e 878 ± 7,93 µM. Diferenças significativas ocorreram a partir de 200 µM (GLI) e 800 µM ($BaCl_2$) ($p < 0,001$; ANOVA one-way). Por outro lado, o bloqueador 4-AP não apenas alterou a CE_{50} para 942,34 ± 7,96 µM, como também reduziu a resposta máxima de relaxamento para 95,64%, indicando possível participação de canais Kv na ação vasorrelaxante do EUC.

De modo similar, em AUH-DMG, o TEA também potencializou o efeito relaxante do EUC, reduzindo a CE_{50} de 1279,48 ± 1,71 µM para 512,20 ± 5,32 µM ($p < 0,001$; significância a partir de 200 µM). Na presença de 4-AP, GLI e $BaCl_2$, as CE_{50} foram de 262,86 ± 3,71 µM, 165,14 ± 4,65 µM e 977,57 ± 9,63 µM, respectivamente, todas significativamente diferentes da condição sem bloqueador a partir de 200 µM ($p < 0,001$) (figura 4B). Nenhum dos bloqueadores afetou o tônus basal das AUH, independentemente do estado glicêmico, exceto o $BaCl_2$ (500 µM), que induziu um aumento contrátil.

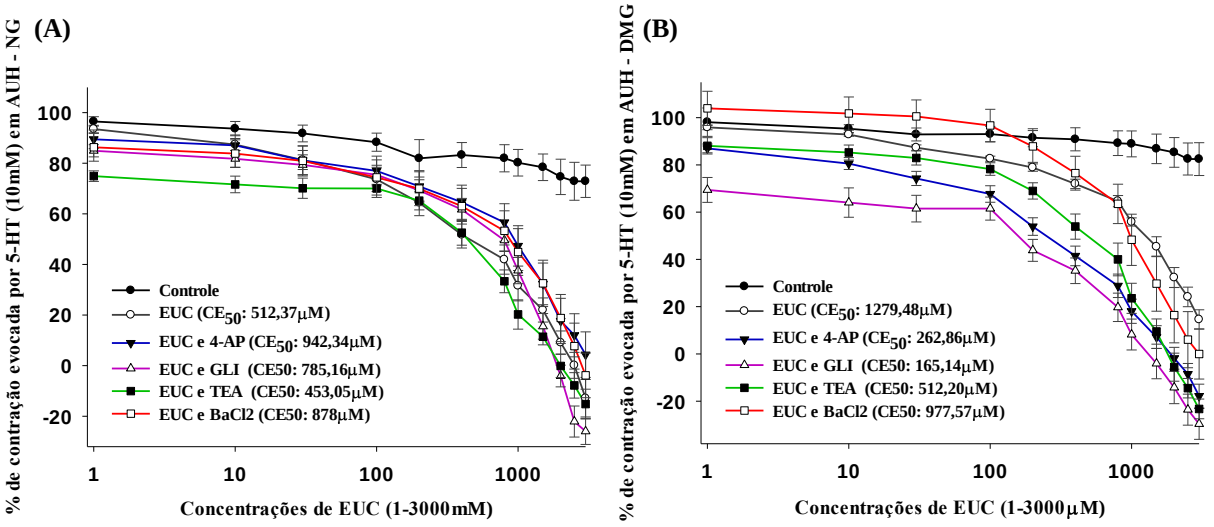


Figura 4 - Efeito relaxante do eucaliptol (EUC) em presença de bloqueadores de canais de K^+: TEA (1 mM), 4-AP (1 mM), $BaCl_2$ (1 mM) e GLI (10 µM). 4A: AUH de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG).4B: AUH de gestantes com diabetes mellitus gestacional (AUH-DMG). Os valores são expressos como a média ± SEM; n = 5 (p <0,05, *one way* ANOVA).

A Tabela 1 mostra diferença significativa entre os grupos AUH-NG e AUH-DMG nos valores de EC_{50} das curvas concentração–resposta ao EUC para todos os agentes contráteis (p <

0,001). No grupo AUH-NG, o EUC apresentou maior potência nas vias eletro- e farmacomecânica, enquanto nas AUH-DMG, na presença dos bloqueadores, observou-se maior potência farmacológica.

Tabela 1. Parâmetros farmacodinâmicos do eucaliptol (1 µmol/L a 1 mmol/L) na presença de diferentes agentes contráteis da artéria umbilical humana.

Análise comparativa dos parâmetros farmacodinâmicos do EUC em artérias de pacientes normoglicêmicas e acometidas por Diabetes Mellitus Gestacional					
Agentes contráteis	**EC_{50} AUH-NG**	**EUC p< 0,05 AUH-NG**	**EC_{50} AUH-DMG**	**EUC p< 0,05 AUH-NG**	**Valor de P***
KCl (60mmol/L)	928,69 ± 3,81 (12)	200	1528,46 ± 5,75 (11)	100	P = <0,001
5-HT (10µmol/L)	512,37 ± 5,24 (9)	200	1279,48 ± 1,71 (11)	400	P = <0,001
TEA (1mmol/L)	453,05 ± 6,73 (15)	200	512,20 ± 5,32 (11)	400	P = <0,001
4AP (1mmol/L)	942,34 ± 7,96 (13)	400	262,86 ± 3,71 (14)	1000	P = <0,001
GLI (10µmol/L)	785,16 ± 4,40 (12)	2000	165,14 ± 4,65 (10)	1000	P = <0,001
$BaCl_2$ (500µmol/L)	878 ± 7,93 (10)	400	977,57 ± 9,63 (14)	2000	P = <0,001

A tabela apresenta os parâmetros farmacodinâmicos do EUC (1-3000 µmol/L) obtidos nas curvas de concentração-resposta para cada agente contrátil avaliado. A concentração efetiva mediana (EC_{50}) representa a potência farmacológica, enquanto as concentrações que apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (EUC, $p < 0,05$) indicam o ponto da curva a partir do qual se observa o início do efeito relaxante. O valor de *p* refere-se à comparação entre as EC_{50} dos grupos AUH-NG (artéria umbilical de gestantes normoglicêmicas) e AUH-DMG (artéria umbilical de gestantes com diabetes mellitus gestacional), sendo o número de experimentos (n) indicado entre parênteses abaixo dos respectivos valores de EC_{50}. Todos os dados estão expressos em µmol/L. *Nos casos em que a redução da resposta contrátil foi inferior a 50%, foi calculada uma EC_{50} relativa, sinalizada com asterisco*. KCl (cloreto de potássio); 5-HT (5-hidroxitriptamina/serotonina); TEA (tetraetilamônio); 4-AP (4-aminopiridina); GLI (glibenclamida); $BaCl_2$ (cloreto de bário).

3.5 Resultados dos estudos de acoplamento

Estudos de docking molecular são de grande importância no planejamento e design de novos fármacos, esses métodos visam prever o modo de ligação experimental e a afinidade de uma pequena molécula dentro do sítio de ligação do receptor alvo de interesse (Guedes, Magalhães e Dardenne, 2014). Nesta perspectiva, foram realizadas simulações de docking molecular com o EUC para avaliar seu potencial efeito vasorelaxante. Após os ensaios *in silico,* foram observados valores RMSD de 0.052 a 1.809 Å e energia de afinidade de -10.9 a -3.9 kcal/mol (Tabela 02). A análise das interações mostrou que os complexos receptor-ligante apresentaram hydrogen bonds, interações hydrophobics, π-stacking e salt bridges (Tabela 02).

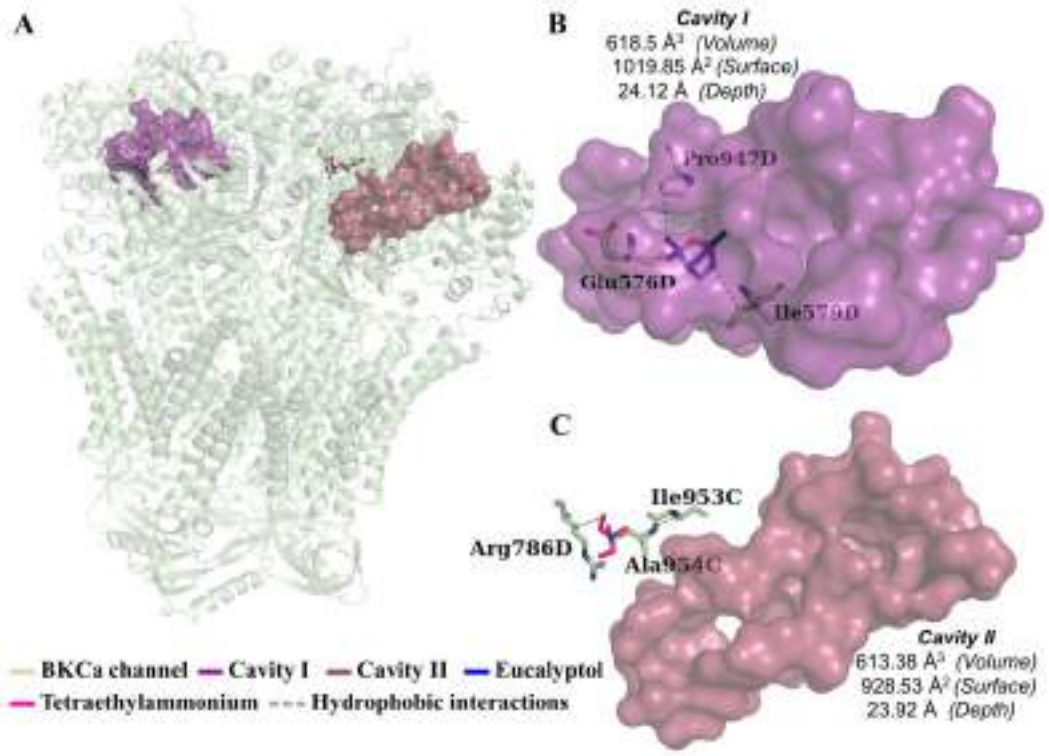


Figura 5 - Imagem tridimensional do canal BKCa e cavidades previstas (A); Local de ligação do eucaliptol (B); Local de ligação do tetraetilamônio (C).

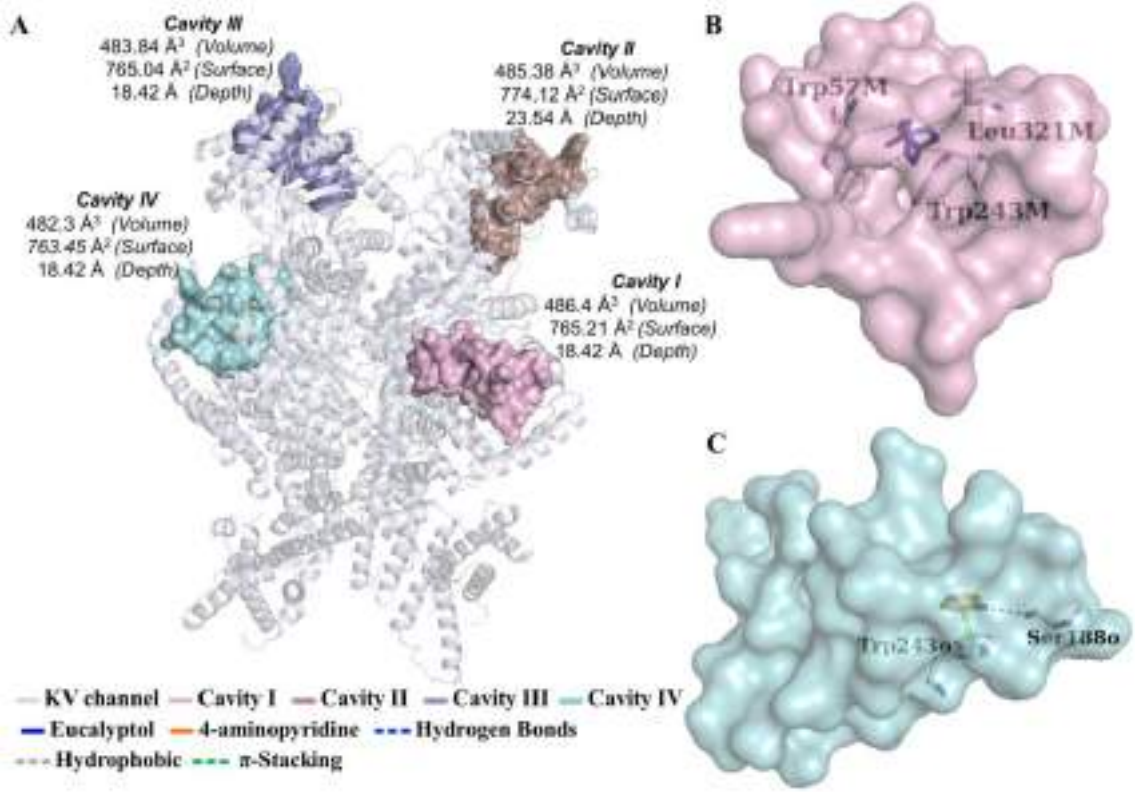


Figura 6 - Imagem tridimensional do canal Kv e cavidades previstas com valores de volume (em Å³), superfície (Å²) e profundidade (Å) destacados (A); Local de ligação do eucaliptol (B); Local de ligação da 4-aminopiridina (C).

Tabela 02: Energia de afinidade, RMSD e tipos de interações formadas entre ligantes e receptores.

5-HT1B	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-5.8	0.945	Hydrophobic	Ile130A (3.79), Val201A (3.60, 3.75), Tyr208A (3.79), Phe330A (3.73)
			Hydrogen Bond	Ser212A (2.44)
SB-216641	-10.0	1.349	Hydrophobic	Tyr109A (3.27), Trp125A (3.83), Leu126A (3.92), Ile130A (3.81), Val200A (3.67), Leu348A (3.51), Thr355A (3.57)
			Hydrogen Bonds	Gln41A (2.60), Ser212A (1.82)
5-HT1D	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-5.6	0.897	Hydrophobic	Tyr98R (3.57), Leu115R (3.83), Phe317R (3.88)
GR-127935	-8.4	1.377	Hydrophobic	Leu86R (3.75), Ile113R (3.97), Ile159R (3.53), Trp163R (3.75), Ile167R (3.26)
			Hydrogen Bond	Thr120R (3.30)
			π-Stacking	Trp163R (3.89, 3.96)
5-HT2A	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-6.0	0.966	Hydrophobic	Val251A (3.49, 3.64), Tyr254A (3.67, 3.72), Phe329A (3.80), Phe330A (3.74)
Ketanserin	-10.9	1.809	Hydrophobic	Trp151A (3.73), Leu228A (3.82), Phe339A (3.47), Phe340A (3.89)
			Hydrogen Bonds	Asp155A (2.41), Ser159A (3.33)
			π-Stacking	Trp336A (4.89, 5.17), Phe340A (4.72)
			Salt Bridge	Asp155A (5.02)
L-type VOCC	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-4.8	1.331	Hydrophobic	Pro377A (3.80), Pro387A (3.65), Ile389A (3.64)
Nifedipine	-6.1	1.775	Hydrophobic	Lys141A (3.73), Ile389A (3.69)
			Salt Bridges	Arg116A (4.83), Lys141A (4.63), Arg278 (4.50)
KV	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-5.9	1.600	Hydrophobic	Trp57M (3.61, 3.75), Trp243M (3.59), Leu321M (3.76)
4-aminopyridine	-4.3	0.094	Hydrogen Bond	Ser188o (2.61)
			π-Stacking	Trp243o (3.78, 3.84)

KATP	Affinity Energy (kcal/mol)	RMSD (Å)	Interaction Type	Residue (Distance in Å)
Eucaliptol	-5.4	1.092	Hydrophobic	Leu445E (3.75), Leu449E (4.92), Ala453E (4.08), Ala457E (4.64), Ala547E (4.09), Thr551E (3.65), Ser571E (4.11), Leu578E (4.35)
Glibenclamide	-6.2	1.740	Hydrophobic	Tyr370E (4.91), Phe426E (4.68), Asn430E (4.65), Leu584E (4.59, 4.75), Tyr1205E (3.57), Leu1208E (4.68), Ser1209E (4.70)
			Hydrogen Bonds	Met1A (4.20), Leu2A (3.35), Asn430E (4.22)
BKCa	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-5.5	1.010	Hydrophobic	Glu576D (3.54), Ile579D (3.89), Pro947D (3.81)
Tetraethylammonium	-3.9	0.052	Hydrophobic	Arg786D (4.87), Ile953C (4.30), Ala954C (4.70)
KIR	**Affinity Energy (kcal/mol)**	**RMSD (Å)**	**Interaction Type**	**Residue (Distance in Å)**
Eucaliptol	-5.8	1.256	Hydrophobic	Phe254A (3.64, 3.71), Phe254C (3.65)
ML133	-7.8	1.185	Hydrophobic	Ile243C (3.73), Gln247C (3.72), Ile258D (3.96), Ile267D (3.72, 3.81), Val270D (3.92)
			Hydrogen Bond	Thr268D (2.27)

4 Discussão

Nossos resultados demonstram, pela primeira vez, o efeito vasorrelaxante do eucaliptol (EUC) em artérias umbilicais humanas (AUH) provenientes de gestantes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes mellitus gestacional (AUH-DMG). Em ambos os grupos, o EUC promoveu redução significativa do tônus vascular quando comparado às condições controle, evidenciando um relaxamento dependente da concentração. Os dados indicam que o EUC é capaz de induzir relaxamento vascular mesmo em um contexto de comprometimento metabólico associado à DMG.

Na regulação do tônus vascular a AUH apresentam ausência de fibras nervosa (Ferguson e Dodson, 2009), essa característica torna esses vasos mais suscetíveis a alterações hemodinâmicas e metabólicas induzidas por doenças maternas, como a DMG (Kadivar *et al*., 2020; Karaca *et al*., 2020). A DMG tem sido associada ao aumento da pressão perinatal (Singh, 1986), ao aumento do estresse oxidativo e à redução da biodisponibilidade de NO (Lappas *et al*., 2011; Vural *et al*., 2012). Do ponto de vista histológico, observa-se estreitamento do lúmen arterial (Singh, 1986; Hershkovitz *et al*., 2001; Kaya; Nergiz; Turgut, 2019), espessamento da túnica média sem alterações significativas da túnica adventícia (Hershkovitz *et al*., 2001; Sarıkabadayı *et al*., 2012), aumento da rigidez arterial (Seck *et al*., 2018), degeneração das fibras musculares lisas (Pooransari *et al*., 2020) e maior

deposição de colágeno na parede arterial, resultando em redução da complacência vascular (Kaya; Nergiz; Turgut, 2019).

Nesse contexto de aumento do estresse oxidativo e comprometimento da função vascular observado na DMG, estudos prévios em AUH demonstram que compostos naturais com propriedades antioxidantes, como o resveratrol, o CAPE e a silibinina, são capazes de promover relaxamento em AUH pré-contraídas por 5-HT, sem alterar o tônus basal (Karabaş e Şahin, 2025). Considerando que o EUC foi descrito por Juergens *et al.* (2018) como um agente capaz de modular o estresse oxidativo e as respostas pró-inflamatórias, seu uso desponta como uma alternativa promissora na investigação dos mecanismos de regulação vascular em condições gestacionais. Em consonância com essa perspectiva, Linghu *et al*. (2016) demonstraram que o 1,8-cineol é capaz de suprimir a secreção de interleucinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-8, além de restaurar os níveis de NO a valores fisiológicos.

Neste estudo, o EUC promoveu relaxamento de forma dependente da concentração em preparações de AUH pré-contraídas por despolarização com KCl (60 mmol/L) ou estimuladas com 5-HT (10 μmol/L), indicando que o composto interfere tanto na entrada de cálcio dependente de voltagem quanto nos mecanismos de contração farmacomecânica mediados por receptores.

Ao analisar especificamente o efeito do EUC sobre a contração induzida por 5-HT, observou-se relaxamento máximo dependente da concentração em ambos os grupos experimentais. Entretanto, esse efeito foi mais pronunciado nas AUH provenientes de gestantes normoglicêmicas (CE_{50} = 512,37 ± 5,24 μM) em comparação às AUH-DMG, nas quais o EUC apresentou menor potência (CE_{50}= 1279,48 ± 1,71 μM), embora tenha alcançado uma inibição máxima de 85,42%.

Na regulação da circulação placentária umbilical, mediadores vasoativos endógenos, como a serotonina (5-HT), a histamina e a prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), exercem papel no controle do tônus vascular. Entre esses, a 5-HT destaca-se como um potente vasoconstritor em AUH (McGrath *et al*., 1986), atuando principalmente por meio da ativação dos receptores $5\text{-}HT_{2A}$ e, em menor grau, dos receptores $5\text{-}HT_{1B}$ /$5\text{-}HT_{1D}$. O $5\text{-}HT_{2A}$ está acoplado a proteína Gq e ativa o PLC, resultando em um aumento de níveis de IP_3. Por outro lado, o $5\text{-}HT_{1B}$ e os receptores $5\text{-}HT_{1D}$ são acoplados à proteína Gi/o inibindo a adenilciclase. Ademais, a histamina causa vasoconstrição pela ativação dos receptores H_1, acoplados à proteína Gq, desencadeando a cascata PLC/IP_3 e aumentando o cálcio intracelular. O tromboxano e a $PGF_2\alpha$ induzem vasoconstrição ao ativar os receptores TPα, TPβ, FPA e FPB (via Gq/PLC/IP_3), aumentando o cálcio intracelular e provocando a contração vascular (Lorigo *et al*., 2018).

Durante a gestação normal, ocorre um aumento na síntese e liberação de 5-HT, decorrente da regulação positiva das enzimas triptofano hidroxilase (TPH_1 e TPH_2) nas células β pancreáticas, o que contribui para as adaptações metabólicas maternas e a manutenção da homeostase glicêmica

(Rieck *et al*., 2009; Kim *et al*., 2010). No entanto, em gestações complicadas por DMG, o efeito contrátil da 5-HT nas AUH tende a ser reduzido, frequentemente associado a disfunção endotelial (Radenković *et al*., 2009). Além disso, o estudo de Viau, Lafond e Vaillancourt (2009) mostrou uma diminuição na expressão dos receptores 5-HT_{2A} em placentas de gestações com DMG, indicando alterações na sinalização serotoninérgica. Dessa forma, o relaxamento máximo menor observado nas AUH-DMG em comparação às AUH normoglicêmicas pode ser explicado pela redução da expressão de receptores de 5-HT. No entanto, são necessários estudos adicionais para elucidar completamente os mecanismos envolvidos.

Nessa perspectiva, a fim de investigar *in silico* se o EUC poderia apresentar um padrão de interação semelhante ao dos antagonistas utilizados nos ensaios experimentais, foram realizadas simulações de *docking* molecular com receptores serotoninérgicos, comparando o sítio de ligação do EUC com os dos bloqueadores SB-216641 (5-HT_{1B}), GR-127935 (5-HT_{1D}) e cetanserina (5-HT_{2A}). As análises demonstraram que o EUC se liga à mesma região do sítio ortostérico do receptor 5-HT_{1B} ocupada pelo SB-216641, compartilhando interações com os resíduos de aminoácidos Ile130A e Ser212A.

Entretanto, apesar dessa sobreposição espacial, a energia de afinidade do EUC para o receptor 5-HT_{1B} (-5,8 kcal/mol) foi consideravelmente inferior à observada para o antagonista específico (-10,0 kcal/mol), indicando uma interação menos estável. Esse achado sugere que, embora o EUC seja capaz de interagir com o receptor 5-HT_{1B}, é pouco provável que esse subtipo receptor desempenhe um papel direto ou dominante no efeito vasorrelaxante observado experimentalmente. Diante disso, sugere-se o EUC pode atuar reduzindo a eficácia da contração induzida pela 5-HT por mecanismos convergentes, como a inibição da entrada de Ca^{2+} dependente de voltagem e/ou a ativação de canais de K^+, promovendo hiperpolarização da membrana das CML.

Corroborando nossos resultados, outros estudos demonstram o efeito vasoativo de produtos naturais em AUH-NG. Por exemplo, metil-eugenol e eugenol foram capazes de reduzir 100% da contração induzida por 5-HT (Silva *et al*., 2024). O citral mostrou efeito potente no acoplamento eletromecânico em AUH, sendo mais eficaz na reversão da contração farmacomecânica (Pereira-de-Morais *et al*., 2024). Já o (−)-carveol apresentou menor eficácia no relaxamento de anéis pré-contraídos com KCl em comparação àqueles pré-contraídos com 5-HT (Silva *et al*., 2020).

Nesta investigação, o EUC promoveu relaxamento máximo das contrações induzidas por KCl (60 mmol/L) de maneira concentração-dependente em ambos os grupos avaliados, apresentando valores de CE_{50} de 928,69 ± 3,81 µM nas AUH-NG e de 1528,46 ± 5,75 µM nas AUH-DMG. Esses dados sugerem que o EUC atua na AUH interferindo no influxo de Ca^{2+} extracelular através de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem. A contração induzida por altas concentrações de K^+ ocorre pela despolarização da membrana e ativação desses canais, favorecendo a entrada de Ca^{2+}. Assim, o

bloqueio dos canais de Ca^{2+} ou a hiperpolarização da membrana, via abertura de canais de K^+, reduz o influxo de Ca^{2+} e promove relaxamento (Cairrão *et al*., 2008).

A presença da DMG não parece comprometer a expressão dos canais de Ca^{2+} do tipo L (VOCC- L), uma vez que a secreção de insulina depende diretamente da presença e da atividade de canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (Rorsman, 1997). Entretanto, a desregulação do Ca^{2+} intracelular é uma complicação bem estabelecida tanto no diabetes mellitus tipo 1 quanto no tipo 2 (WANG *et al*., 2000; Dillmann, 2019). Nesse contexto, é plausível que as alterações metabólicas observadas nessas condições também se estendam ao DMG, promovendo modificações na funcionalidade e na sensibilidade dos VOCC- L.

À luz desse trabalho, observou-se que o EUC (3000 µM) inibiu de forma eficaz as contrações induzidas por cloreto de bário ($BaCl_2$) e cálcio ($CaCl_2$) na AUH. Considerando que o Ba^{2+} atua como agonista específico dos canais de Ca^{2+} do tipo L e que o Ca^{2+} estimula o influxo por múltiplas vias, esses achados indicam que o efeito relaxante do EUC está associado ao bloqueio dos VOCC-L. A semelhança entre o efeito do EUC e o da nifedipina, utilizada como controle positivo, reforça essa hipótese.

Esses dados estão em concordância com evidências prévias demonstradas por Pereira-Gonçalves *et al.* (2018) que revelam a atividade inibitória do EUC nos VOCC-L e seu efeito relaxante sobre o músculo liso traqueal. De modo semelhante, o álcool perílico parece exercer seu efeito vasorrelaxante principalmente por interferência nos VOCC-L (Sena Bastos *et al*., 2025). Além disso, considerando que bloqueadores dos canais de Ca^{2+} promovem melhora do controle glicêmico e apresentam perfil de segurança favorável em pacientes com DMG (Pretorius e Huang, 2022), o EUC emerge como um composto de interesse.

Os canais de K^+ constituem a maior família de proteínas integrais de membrana (Baranowska *et al*., 2007), e figuram entre os principais reguladores do tônus vascular, pois, ao modularem o potencial de membrana por meio do efluxo de K^+, influenciam a ativação dos canais de cálcio (Ca^{2+}) dependentes de voltagem, interferindo diretamente na contração do vaso umbilical humano (Ko *et al*., 2008).

Do ponto de vista funcional, a vasculatura expressa diferentes subtipos de canais de K^+, incluindo os canais: ativados por Ca^{2+} de grande condutância (BK_{Ca}) (Milesi *et al*., 2003), dependentes de voltagem (Kv) (Jackson *et al*., 2018), sensíveis ao ATP (K_{ATP}) (Ko *et al*., 2008), retificadores internos (K_{IR}) (Sonkusare *et al*., 2018) e os canais de domínio de dois poros (K_{2P}) (Ketchum *et al*., 1995). Neste estudo, avaliaram-se canais de K^+ na ação do EUC utilizando o tetraetilamônio (TEA), a 4-aminopiridina (4-AP), a glibenclamida (GLI) e $BaCl_2$, como bloqueadores de BK_{Ca}, Kv, K_{ATP} e K_{IR}, respectivamente (Huang, 1998; Aaronson *et al*., 2006; Hughes; Hollingsworth, 1997; Lorigo; Oliveira; Cairrão, 2020).

Em AUH-NG, os dados *ex vivo* indicam contribuição funcional desses canais para o relaxamento induzido pelo composto, evidenciada pelo aumento da CE_{50} na presença de bloqueadores de Kv, K_{ATP} e K_{IR}. O bloqueio de Kv com 4-AP promoveu o maior deslocamento da curva concentração–resposta (CE_{50} = 942,34 ± 7,96 µM), seguido da GLI, bloqueadora de K_{ATP} (CE_{50} = 785,16 ± 4,40 µM), e do $BaCl_2$, associado à inibição de K_{IR} (CE_{50} = 878,00 ± 7,93 µM). Em contraste, o bloqueio de BK_{Ca} com TEA resultou em aumento da sensibilidade ao EUC, reduzindo a CE_{50} para 453,05 ± 6,73 µM.

Nas AUH-DMG, a presença do TEA e do $BaCl_2$ promoveu reduções discretas da CE_{50}, com valores de 512,20 ± 5,32 µM e 977,57 ± 9,63 µM, enquanto o bloqueio de canais Kv e K_{ATP} promoveu reduções ainda mais acentuadas (4-AP: CE_{50}= 262,86 ± 3,71 µM; GLI: CE_{50} = 165,14 ± 4,65 µM). Esse perfil indica que, na AUH- DMG, a resposta ao EUC parece independente desses canais, estando predominantemente associada, neste estudo, à modulação dos canais de Ca^{2+} do tipo L, semelhante ao que foi relatado por Sena Bastos *et al*. (2025). Em AUH-NG, os dados evidenciam a participação dos canais Kv, K_{ATP} e K_{IR} no efeito vasorrelaxante do EUC.

Com o objetivo de complementar esses achados *ex vivo*, a análise *in silico* dos canais de K^+ foi conduzida investigando-se a interação do EUC em sítios de ligação distintos daqueles ocupados pelos bloqueadores utilizados nos ensaios experimentais, considerando que a ativação desses canais está associada ao relaxamento vascular (Cairrão *et al*., 2008). Os resultados demonstraram que o EUC apresentou energias de afinidade mais favoráveis para os canais BK_{Ca} (-5,5 kcal/mol) e Kv (-5,9 kcal/mol) quando comparado ao TEA (-3,9 kcal/mol) e à 4-AP (-4,3 kcal/mol). Além disso, observou-se que o EUC se acomoda em cavidades previstas distintas dos sítios de ligação dos bloqueadores (Figuras 5 e 6), sugerindo a existência de possíveis sítios de interação diferentes dos sítios ocupados pelos bloqueadores.. Assim, apesar da afinidade molecular do EUC por BK_{Ca} e Kv observada *in silico*, apenas os canais Kv demonstram relevância funcional *ex vivo*.

Essa divergência, acontece porque afinidade molecular não significa, necessariamente, relevância funcional; os estudos *in silico* avaliaram a capacidade do EUC de se ligar ao canal, mas não conseguem prever com precisão se essa interação resulta em ativação, inibição ou efeito neutro (Sousa; Fernandes; Ramos, 2006). Assim, embora o EUC apresente afinidade por BK_{Ca}, essa ligação pode não gerar abertura significativa do canal em condições fisiológicas.

Além disso, a relevância funcional de um canal depende não apenas de sua presença, mas também do seu nível de expressão e densidade. Nas células da musculatura lisa vascular, os canais K_{IR} e K_{ATP} apresentam densidade menor do que os canais Kv e K_{Ca}, que são os principais determinantes do tônus muscular liso (Santos *et al*., 2019). Entretanto, estudos indicam que a DMG está associada à redução da expressão de canais BK_{Ca} (Li *et al*., 2022) e K_{ATP} (Li *et al*., 2018) em AUH. Em contrapartida, a função dos canais Kv parece não ser afetada no contexto diabético em

VUH (Djokić *et al*., 2023). Embora ainda sejam escassos estudos específicos sobre canais K_{IR} em DMG, evidências provenientes de modelos de diabetes tipo 2 mostram redução da expressão de K_{IR} em músculo liso vascular (Rajković *et al*., 2024).

Os achados do presente estudo encontram respaldo no trabalho de Al-Habib, Kheder e Gilardoni (2013) que avaliou o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis*, cujo principal constituinte é o monoterpeno 1,8-cineol, foi investigado o papel dos canais de K^+ na vasodilatação induzida pelo óleo essencial, utilizando os mesmos bloqueadores empregados nesta pesquisa: TEA, $BaCl_2$, GLI e 4-AP. A vasodilatação não foi alterada em anéis aórticos pré-incubados com TEA e $BaCl_2$, indicando que os canais BK_{Ca} e K_{IR} não estavam envolvidos no efeito vasodilatador do óleo essencial. Por outro lado, os resultados sugerem que os canais K_{ATP} e Kv desempenham papel importante nesse mecanismo. Esses achados também coincidem com os relatados por Pinto *et al*. (2009), que observaram que o efeito vasodilatador do 1,8-cineol em aorta isolada de rato não foi alterado na presença de TEA.

Diversos monoterpenos e óleos essenciais também apresentam efeito relaxante sobre o músculo liso por meio da modulação de canais de K^+, destacando-se o óleo essencial de *Rosa damascena* Miller, cujo perfil químico é dominado por citronelol e geraniol, promove relaxamento do músculo liso traqueal em ratos *Wistar* machos, sendo este efeito atribuído ao envolvimento dos canais Kv, K_{ATP} e BK_{Ca} (Demirel, 2022). De modo semelhante, o (-)-carveol demonstra atividade gastroprotetora associada, entre outros mecanismos, à ativação de canais K_{ATP} (Serafim *et al*., 2021).

Em modelos vasculares, compostos como (-)-borneol, p-cimeno e eugenol compartilham mecanismos dependentes da abertura de canais de K^+ em anéis isolados de aorta de ratos *Wistar* machos. Enquanto o (-)-borneol apresenta relaxamento vascular com papel dos canais K_{ATP} (Santos *et al*., 2019), o p-cimeno induz vasodilatação com participação dos canais K_{IR} e K_{ATP} (Silva *et al*., 2015). De forma convergente, o eugenol exerce efeito vasodilatador em AUH por meio da ativação de canais Kv, K_{ATP} e BK_{Ca} (Menezes Dantas *et al*., 2022). Por outro lado, o carvacrol em anéis isolados da aorta torácica de ratos *Wistar* machos normotensos não envolve os canais BK_{Ca} ou K_{ATP}, sendo seu efeito vasodilatador mediado principalmente por Kv (Testai *et al*., 2016).

Cabe destacar que a interação entre diferentes tipos de canais iônicos na musculatura lisa vascular torna complexa a interpretação dos mecanismos envolvidos, dificultando o estabelecimento de hipóteses definitivas sem o suporte de experimentos eletrofisiológicos e moleculares, o que representa uma lacuna do presente estudo. Apesar disso, os resultados obtidos apresentam grande relevância, pois demonstram, pela primeira vez, o efeito vasodilatador do eucaliptol em AUH na condição de DMG.

5 Conclusão

O presente estudo demonstra, de forma inédita, que o EUC exerce efeito vasorrelaxante em AUH, com envolvimento diferencial de vias iônicas conforme o estado metabólico do vaso. Os resultados indicam que o EUC apresenta potencial farmacológico experimental, uma vez que foi capaz de modular o tônus vascular tanto em condições normoglicêmicas quanto hiperglicêmicas.

Em condições normoglicêmicas, o relaxamento induzido pelo EUC esteve principalmente associado à modulação dos canais de cálcio do tipo L, além de canais de K^+ do tipo Kv, K_{ATP} e K_{IR}, com menor participação dos canais BK_{Ca}. Em artérias provenientes de gestações com DMG, observou-se alteração no perfil farmacológico do EUC, indicando reorganização funcional dos mecanismos vasorrelaxantes, com maior dependência dos canais de cálcio do tipo L. Em ambos os grupos, sugere-se ainda a contribuição de outros subtipos de canais de cálcio, como VOCC-T (CaV3.2), VOCC-P/Q e VOCC-R.

Financiamento

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP), por meio das bolsas de pós-doutorado do Edital nº 09/2023, processos FPD-0213-00019.01.00/23 e FPD-0213-00369.01.00/23, e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio das bolsas de produtividade PQ, processos nº 303515/2024-4 e 309349/2025-7, Edital nº 18/2024.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses. Os financiadores não tiveram qualquer papel no desenho do estudo, coleta, análise e redação do manuscrito e publicação dos resultados.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, H. M.; HASSAN, N. A.; EL-HALAWANY, A. M.; MOHAMED, G. A.; SAFO, M. K.; EL-BASSOSSY, H. M. Major flavonoids from Psiadia punctulata produce vasodilation via activation of endothelial dependent NO signaling. **Journal of advanced research**, v. 24, p. 273-279, 2020.

ACHARYA, G.; SONESSON, S. E.; FLO, K.; RÄSÄNEN, J.; ODIBO, A. Hemodynamic aspects of normal human fetal-placental (umbilical) circulation. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v. 95, n. 6, p. 672-682, 2016.

ALDAHMASH, W. M.; ALWASEL, S. H.; ALJERIAN, K. Gestational diabetes mellitus induces placental vasculopathies. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 13, p. 19860-19868, 2022.

ALENCAR SILVA, A.; DE MORAIS, L. P.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE MENEZES DANTAS, D.; BATISTA, P. R.; DIAS, F. J.; MENEZES, I. R. A.; CARDOSO, J. H. L.; RAPOSO, A.; COUTINHO, H. D. M.; BARBOSA, R**.** Vasorelaxant effect of phenylpropanoids: Methyl eugenol and eugenol in human umbilical cord vein. **Biomedicine & Pharmacotherapy,** v. 178, p. 117227, 2024.

AL-HABIB, O. A. M.; KHEDER, D.A.; GILARDONI, G. Relaxant effects of essential oils of eucalyptus camaldulensis on aortic rings in male albino rats. **Science Journal of University of Zakho**, v. 1, n. 1, p. 139-146, 2013.

ALVES, Q. L.; DOS ANJOS MORAES, R.; FROES, T. Q.; CASTILHO, M. S.; DE ARAÚJO, R. S. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, D. F. Inhibition of intracellular Ca2+ mobilization and potassium channels activation are involved in the vasorelaxation induced by 7-hydroxycoumarin. **European Journal of Pharmacology**, v. 887, p. 173525, 2020.

BARANOWSKA, M.; KOZŁOWSKA, H.; KORBUT, A.; MALINOWSKA, B. Kanały potasowe w naczyniach krwionośnych ich znaczenie w fizjologii i patologii Potassium channels in blood vessels: Their role in health and disease. **Post. Hig. Med. Doœw**, v. 61, p. 596-605, 2007.

BATISTA, P. R.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE SOUZA BORGES, A.; DIAS, F. J.; DOS SANTOS PEREIRA, L. R.; MACHADO, S. T. S; DELMONDES, G. A; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; BARBOSA, R. Vasorelaxant effect of (E, E)-farnesol in human umbilical vein ex vivo assays. **Chemico-Biological Interactions,** v. 386, p. 110746, 2023.

BEN-HAROUSH, A.; YOGEV, Y.; HOD, M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 21, n. 2, p. 103-113, 2004.

BO, S.; VALPREDA, S.; MENATO, G.; BARDELLI, C.; BOTTO, C.; GAMBINO, R.; PAGANO, G. Should we consider gestational diabetes a vascular risk factor?. **Atherosclerosis**, v. 194, n. 2, p. e72-e79, 2007.

CAIRRÃO, E.; ÁLVAREZ, E.; SANTOS-SILVA, A. J.; VERDE, I. Potassium channels are involved in testosterone-induced vasorelaxation of human umbilical artery. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 376, n. 5, p. 375-383, jan. 2008.

CHEN, M.; HU, Q.; WANG, S.; TAO, L.; HU, X.; SHEN, X. 1,8-Cineole ameliorates endothelial injury and hypertension induced by L-NAME through regulation of autophagy via PI3K/mTOR signaling pathway. **European Journal of Pharmacology**, v. 954, p. 175863, 5 set. 2023.

DEMIREL, S. *Rosa damascena* Miller essential oil relaxes rat trachea via KV channels, KATP channels, and BKCa channels. **Prostaglandins & other lipid mediators**, v. 163, p. 106673, 2022.

DILLMANN, W. H. Diabetic cardiomyopathy: what is it and can it be fixed?. **Circulation research**, v. 124, n. 8, p. 1160-1162, 2019.

DJOKIĆ, V.; GOSTIMIROVIĆ, M.; RAJKOVIĆ, J.; RAKOČEVIĆ, J.; LABUDOVIĆ-BOROVIĆ, M.; JANKOVIĆ, S.; GOJKOVIĆ-BUKARICA, L. Expression of Kv4. 2 and Kv4. 3 potassium channels in human umbilical veins from normal, diabetic, and hypertensive pregnancies. **Vojnosanitetski pregled**, v. 80, n. 01, 2023.

FASOULAKIS, Z.; KOUTRAS, A.; ANTSAKLIS, P.; THEODORA, M.; VALSAMAKI, A.; DASKALAKIS, G.; KONTOMANOLIS, E. N. Intrauterine Growth Restriction Due to Gestational Diabetes: From Pathophysiology to Diagnosis and Management. **Medicina**, v. 59, n. 6, p. 1139, 2023.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. 2021. IDF Diabetes Atlas. 10ª edição. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/?dlmodal=actived lsrc=https%3A%2F%2Fdiabetesatlas.org%2Fidfawp%2Fresource-files%2F2021%2F07%2FIDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf>. Acesso em 13 de julho de 2023.

FERGUSON, V. L.; DODSON, R. B. Bioengineering aspects of the umbilical cord. **European Journal of ObstetricsGynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. S108-S113, 2009.

FINDEISEN, F.; CAMPIGLIO, M.; JO, H.; ABDEREMANE-ALI, F.; RUMPF, C. H.; POPE, L.; et al. α-Interaction domain (AID) peptides of voltage-gated calcium channels (CaV) act as selective inhibitors of CaV protein-protein interaction function. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 1313, 2017.

GRAEF, J.; EHRT, C.; RAREY, M. Binding Site Detection Remastered: Enabling Fast, Robust, and Reliable Binding Site Detection and Descriptor Calculation with DoGSite3. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 63, n. 10, p. 3128-3137, maio 2023.

GUEDES, I. A.; MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor-ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, n. 1, p. 75-87, 2014.

HALGREN, T. A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. **Journal of Computational Chemistry**, v. 17, n. 5-6, p. 490-519, 1996.

HAQ, I. U.; KHAN, T.; AHMAD, T.; SHAH, A. J. Insight into the cardiovascular mechanisms of blood pressure lowering effect of gitogenin: a steroidal saponin**. Clinical and Experimental Hypertension**, v. 43, 2021.

HE, Y.; WU, N. Research progress on gestational diabetes mellitus and endothelial dysfunction markers. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, p. 983-990, 2021.

HERSHKOVITZ, R.; SILBERSTEIN, T.; SHEINER, E.; SHOHAM-VARDI, I.; HOLCBERG, G.; KATZ, M.; MAZOR, M. Risk factors associated with true knots of the umbilical cord. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 98, n. 1, p. 36-39, 2001.

HOCH, C. C.; PETRY, J.; GRIESBAUM, L.; WEISER, T.; WERNER, K.; PLOCH, M.; WOLLENBERG, B. 1, 8-cineole (eucaliptol): A versatile phytochemical with therapeutic applications across multiple diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 167, p. 115467, 2023.

HUEY, R.; MORRIS, G. M.; FORLI, S. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: a tutorial. **The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory**, p. 92037, 2012.

JACKSON, W. F. KV channels and the regulation of vascular smooth muscle tone. **Microcirculation**, v. 25, n. 1, p. e12421, 2018.

JUERGENS, L. J.; TULETA, I.; STOEBER, M.; RACKÉ, K.; JUERGENS, U. R. Regulation of monocyte redox balance by 1, 8-cineole (eucalyptol) controls oxidative stress and pro-inflammatory responses in vitro: A new option to increase the antioxidant effects of combined respiratory therapy with budesonide and formoterol?. **Synergy**, v. 7, p. 1-9, 2018.

KADIVAR, M.; KHAMSEH, M. E.; MALEK, M.; KHAJAVI, A.; NOOHI, A. H.; NAJAFI, L. Histomorphological changes of the placenta and umbilical cord in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. **Placenta**, v. 97, p. 71-78, 2020.

KAHHALE, S.; FRANCISCO, R. P. V.; ZUGAIB, M. Pré-Eclampsia. **Revista de Medicina (São Paulo)**, v. 97, n. 2, p. 226-234, 2018.

KARABAŞ, A. A.; ŞAHIN, A. S. Effects of Resveratrol, Caffeic Acid Phenethyl Ester and Silibinin on Isolated Human Umbilical Artery. **International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research**, v. 6, n. 1, p. 46-51, 2025.

KARACA, C.; NURAY B.; ALI O.; DEMET T. K. The effect of vascular complications of diabetes mellitus on human umbilical cord tissue and the number of Wharton Jelly's mesenchymal stem cells. **Molecular Biology Reports**, v. 47, n. 12, p. 9313-9323, 2020.

KAYA, S.; NERGIZ, Y.; TURGUT, A. K. Histopathological changes of the umbilical cord in complicated pregnancies. **International Journal of Health Services Research and Policy**, v. 4, n. 1, p. 43-54, 2019.

KETCHUM, K. A.; JOINER, W. J.; SELLERS, A. J.; KACZMAREK, L. K.; GOLDSTEIN, S. A. A new family of outwardly rectifying potassium channel proteins with two pore domains in tandem. **Nature**, v. 376, n. 6542, p. 690-695, 1995.

KIM, H.; TOYOFUKU, Y.; LYNN, F. C.; CHAK, E.; UCHIDA, T.; MIZUKAMI, H.; ... & GERMAN, M. S. Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. Nature medicine, v. 16, n. 7, p. 804-808, 2010.

KIMURA, K. T.; ASADA, H.; INOUE, A.; KADJI, F. M. N.; IM, D.; MORI, C.; et al. Structures of the 5-HT2A receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 26, n. 2, p. 121-128, 2019.

KO, E. A.; HAN, J.; JUNG, I. D.; PARK, W. S. Physiological roles of K+ channels in vascular smooth muscle cells. **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 44, n. 2, p. 65-81, 2008.

LAHLOU, S.; FIGUEIREDO, A. F.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Cardiovascular effects of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in

normotensive rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 80, n. 12, p. 1125-1131, 2002.

LAPPAS, M.; HIDEN, U.; DESOYE, G.; FROEHLICH, J.; MOUZON, S. H. D.; JAWERBAUM, A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 12, p. 3061-3100, 2011.

LAUTIÉ, E.; RUSSO, O.; DUCROT, P.; BOUTIN, J. A. Unraveling plant natural chemical diversity for drug discovery purposes. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, p. 397, 2020.

LEICHTLE, A.; LUPATSII, M.; GRASPEUNTNER, S.; JESCHKE, S.; PENXOVÁ, Z.; KURABI, A.; BRUCHHAGE, K. L. Resposta anti-inflamatória ao 1,8-cineol e comunidades microbianas associadas em pacientes com otite média. **Scientific Reports** , v. 14, n. 1, p. 16362, 2024.

LI, H.; AN, J. R.; SEO, M. S.; KANG, M.; HEO, R.; PARK, S.; PARK, W. S. Downregulation of large-conductance Ca^{2+}- activated K+ channels in human umbilical arterial smooth muscle cells in gestational diabetes mellitus. **Life Sciences**, v. 288, p. 120169, 2022.

LI, H.; SHIN, S. E.; SEO, M. S.; AN, J. R.; HA, K. S.; HAN, E. T.; PARK, W. S. Alterations of ATP-sensitive K+ channels in human umbilical arterial smooth muscle during gestational diabetes mellitus. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 470, n. 9, p. 1325-1333, 2018.

LIEW, S. Y.; MUKHTAR, M. R.; HADI, A. H. A.; AWANG, K.; MUSTAFA, M. R.; ZAIMA, K.; LITAUDON, M. Naucline, a New Indole Alkaloid from the Bark of *Nauclea officinalis*. **Molecules**, v. 17, 2012.

LINGHU, K.; LIN, D.; YANG, H.; XU, Y.; ZHANG, Y.; TAO, L.; SHEN, X. Ameliorating effects of 1, 8-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF-κB signaling in vitro. **European journal of pharmacology**, v. 789, p. 195-201, 2016.

LORIGO, M.; MARIANA, M.; FEITEIRO, J.; CAIRRAO, E. How is the human umbilical artery regulated?. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 44, n. 7, p. 1193-1201, 2018.

LORIGO, M.; OLIVEIRA, N.; CAIRRAO, E. Clinical importance of the human umbilical artery potassium channels. **Cells**, v. 9, n. 9, p. 1956, ago. 2020.

LOVREN, F.; LI, X.; LYTTON, J.; TRIGGLE, C. Functional characterization and mRNA expression of 5-HT receptors mediating contraction in human umbilical artery. **British Journal of Pharmacology**, v. 127, n. 5, p. 1247-1255, jul. 1999.

LÜSCHER, T. F.; NOLL, G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. **Atherosclerosis**, v. 118, p. S81-S90, 1995.

MACHADO, S. T. S, BATISTA, P. R.; DA SILVA, F. D. S.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; MAGALHÃES, L. M. U.; BARBOSA, R. Eucalyptol (1, 8-cineole) relaxes umbilical veins in normoglycemic parturients and parturients with gestational diabetes mellitus by modulating ion channels: An ex vivo study. **Placenta**, 2026.

MCGRATH, J. C.; MACLENNAN, S. J.; MANN, A. C.; STUART-SMITH, K.; WHITTLE, M. J. CONTRACTION of human umbilical artery, but not vein, by oxygen. **The Journal of Physiology**, v. 380, p. 513-519, 1986.

MENEZES DANTAS, D.; DE ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SENA BASTOS, C. M.; CALIXTO, G. L.; KERNTOPF, M. R.; BARBOSA, R. Characterization of the vasodilator effect of eugenol in isolated human umbilical cord arteries. **Chemico-Biological Interactions**, v. 359, p. 109890, 2022.

METZGER, B. E. Summary and recommendations of the third international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. **Diabetes**, v. 40, n. Supplement_2, p. 197-201, 1991.

MEYER, W. W.; RUMPELT, H. J.; YAO, A. C.; LIND, J. Structure and closure mechanism of the human umbilical artery. **European journal of pediatrics**, v. 128, p. 247-259, 1978.

MILESI, V.; RAINGO, J.; REBOLLEDO, A.; DE GENDE, A. O. G. Potassium channels in human umbilical artery cells. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 10, n. 6, p. 339-346, 2003.

NIELSEN, K. K.; DE COURTEN, M.; KAPUR, A. Health system and societal barriers for gestational diabetes mellitus (GDM) services-lessons from World Diabetes Foundation supported GDM projects. **BMC international health and human rights**, v. 12, p. 1-10, 2012.

OVESEN, P. G.; JENSEN, D. M.; DAMM, P.; RASMUSSEN, S.; KESMODEL, U. S. Maternal and neonatal outcomes in pregnancies complicated by gestational diabetes. A nation-wide study. **The Journal of Maternal-Fetal Neonatal Medicine**, v. 28, n. 14, p. 1720-1724, 2015.

PEGAN, S.; ARRABIT, C.; ZHOU, W.; KWIATKOWSKI, W.; COLLINS, A.; SLESINGER, P. A.; CHOE, S. Cytoplasmic domain structures of Kir2.1 and Kir3.1 show sites for modulating gating and rectification. **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 3, p. 279-287, mar. 2005.

PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE SENA BASTOS, C. M.; DIAS, F. J.; DE MENEZES DANTAS, D.; ARAÚJO, M. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Citral relaxes umbilical vessels of normotensive and preeclamptic parturients. **Placenta**, v. 152, p. 65-71, 2024.

PEREIRA-GONÇALVES, Á.; FERREIRA-DA-SILVA, F. W.; DE HOLANDA-ANGELIN-ALVES, C. M.; CARDOSO-TEIXEIRA, A. C.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. 1, 8-Cineole blocks voltage-gated L-type calcium channels in tracheal smooth muscle. **Pflügers Archiv-European journal of physiology**, v. 470, n. 12, p. 1803-1813, 2018.

PINTO, N. V., ASSREUY, A. M. S., COELHO-DE-SOUZA, A. N., CECCATTO, V. M., MAGALHÃES, P. J. C., LAHLOU, S., LEAL-CARDOSO, J. H. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of Alpinia zerumbet and its main constituent 1, 8-cineole in rats. **Phytomedicine**, v. 16, n. 12, p. 1151-1155, 2009.

POORANSARI, P.; EBRAHIMI, A.; NAZEMI, N.; YAMINIFAR, F.; ABEDIASL, Z. Is gross morphology of placenta, umbilical cord, and neonatal outcome in well-controlled gestational diabetes mellitus pregnancy different? A case-control study. **International Journal of Reproductive BioMedicine**, v. 18, n. 6, p. 407, 2020.

PRETORIUS, M.; HUANG, C. Beta-cell adaptation to pregnancy–role of calcium dynamics. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 853876, 2022.

RADENKOVIĆ, M.; RADUNOVIĆ, N.; MOMČILOV, P.; GRBOVIĆ, L. Altered response of human umbilical artery to 5-HT in gestational diabetic pregnancy. **Pharmacological Reports**, v. 61, n. 3, p. 520-528, 2009.

RAJKOVIC, J.; PERIC, M.; STANISIC, J.; GOSTIMIROVIC, M.; NOVAKOVIC, R.; DJOKIC, V.; GOJKOVIC-BUKARICA, L. Effect of Type-2 Diabetes Mellitus on the Expression and Function of Smooth Muscle ATP-Sensitive Potassium Channels in Human Internal Mammary Artery Grafts. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 7, p. 857, 2024.

RIECK, S.; WHITE, P.; SCHUG, J.; FOX, A. J.; SMIRNOVA, O.; GAO, N.; KAESTNER, K. H. The transcriptional response of the islet to pregnancy in mice. **Molecular endocrinology**, v. 23, n. 10, p. 1702-1712, 2009.

ROGINES-VELO, M.; PELOROSSO, F.; ZOLD, C.; BRODSKY, P.; ROTHLIN, R. Characterization of 5-HT receptor subtypes mediating contraction in human umbilical vein. 2. Evidence of involvement of 5-HT1B receptors using functional studies. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 366, n. 6, p. 596-604, dez. 2002.

RORSMAN, P. The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint. **Diabetologia**, v. 40, n. 5, p. 487-495, 1997.

SANTOS, S. E.; RIBEIRO, F. P.; MENEZES, P. M.; DUARTE-FILHO, L. A.; QUINTANS, J. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; RIBEIRO, L.A. New insights on relaxant effects of (—)-borneol monoterpene in rat aortic rings. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 2, p. 148-158, 2019.

SANTOS-SILVA, A. J.; CAIRRÃO, E.; MARQUES, B.; VERDE, I. Regulation of human umbilical artery contractility by different serotonin and histamine receptors. **Reproductive Sciences**, v. 16, n. 12, p. 1175-1185, dez. 2009.

SARIKABADAYI, Y. U.; AYDEMIR, O.; KANMAZ, G.; AYDEMIR, C.; OGUZ, S. S.; ERDEVE, O.; DILMEN, U. Umbilical artery intima-media and wall thickness in infants of diabetic mothers. **Neonatology**, v. 102, n. 2, p. 157-162, 2012.

SAVVIDOU, M. D.; GEERTS, L.; NICOLAIDES, K. H. Impaired vascular reactivity in pregnant women with insulin-dependent diabetes mellitus. **American journal of obstetrics and gynecology, v**. 186, n. 1, p. 84-88, 2002.

SECK, A.; AGNE, F. D.; FALL, A. S.; SAR, F. B.; OUÉDRAOGO, V.; MBENGUE, A.; SAMB, A. Insulin resistance and arterial stiffness: impact of gestational diabetes on pulse wave velocity. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 6, n. 9, p. 2895, 2018.

SENA BASTOS, C. M.; DE ALENCAR SILVA, A.; BATISTA, P. R.; DA SILVA DUARTE, M. R.; MAGALHÃES, L. M. U.; DE MATOS, Y. M. L. S.; BARBOSA, R.Influence of perillyl alcohol on human umbilical vein relaxation: mechanisms involving calcium channels and protein kinase C. **Placenta**, 2025.

SERAFIM, C. A. D. L.; ARARUNA, M. E. C.; ALVES JÚNIOR, E. B.; SILVA, L. M. O.; SILVA, A. O.; DA SILVA, M. S.; BATISTA, L. M. (-)-Carveol prevents gastric ulcers via cytoprotective, antioxidant, antisecretory and immunoregulatory mechanisms in animal models. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 736829, 2021.

SHITYAKOV, S.; FÖRSTER, C. In silico predictive model to determine vector-mediated transport properties for the blood-brain barrier choline transporter. **Advances in Applied Bioinformatics and Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 23-36, 2014.

SILVA, A. A DE MORAIS, L. P.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE MENEZES DANTAS, D.; BATISTA, P. R.; DIAS, F. J.; BARBOSA, R.Vasorelaxant effect of phenylpropanoids: Methyl eugenol and eugenol in human umbilical cord vein. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 178, p. 117227, 2024.

SILVA, M.; RIBEIRO, F. P.; MEDEIROS, M. A.; SAMPAIO, P. A.; SILVA, Y.; SILVA, M. T.; RIBEIRO, L. A. The vasorelaxant effect of p-cymene in rat aorta involves potassium channels. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

SILVA, R. E R.; ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SOUSA ALMEIDA, N.; IRITI, M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; BARBOSA, R. Relaxant effect of monoterpene (−)-Carveol on isolated human umbilical cord arteries and the involvement of ion channels. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2681, 2020.

SINGH, S. D. Diabetes gestacional e seus efeitos no cordão umbilical. **Desenvolvimento humano inicial** , v. 14, n. 2, p. 89-98, 1986.

SOARES, M. C. M. S.; DAMIANI, C. E. N.; MOREIRA, C. M.; STEFANON, I.; VASSALLO, D. V. Eucalyptol, an essential oil, reduces contractile activity in rat cardiac muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 453-461, 2005.

SONKUSARE, S. K.; DALSGAARD, T.; BONEV, A. D.; NELSON, M. T. Inward rectifier potassium (Kir2. 1) channels as end-stage boosters of endothelium-dependent vasodilators. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 12, p. 3271-3285, 2016.

SOUSA, S. F.; FERNANDES, P. A.; RAMOS, M. J. Protein–ligand docking: current status and future challenges. **Proteins: structure, function, and bioinformatics**, v. 65, n. 1, p. 15-26, 2006.

TESTAI, L.; CHERICONI, S.; MARTELLI, A.; FLAMINI, G.; BRESCHI, M. C.; & CALDERONE, V. Voltage-operated potassium (Kv) channels contribute to endothelium-dependent vasorelaxation of carvacrol on rat aorta. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 9, p. 1177-1183, 2016.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455-461, 2010.

VIAU, M.; LAFOND, J.; VAILLANCOURT, C. Expression of placental serotonin transporter and 5-HT 2A receptor in normal and gestational diabetes mellitus pregnancies. **Reproductive biomedicine online**, v. 19, n. 2, p. 207-215, 2009.

VOORMOLEN, D. N.; DE WIT, L.; VAN RIJN, B. B.; DEVRIES, J. H.; HERINGA, M. P.; FRANX, A.; LAMAIN-DE RUITER, M. Neonatal hypoglycemia following diet-controlled and insulin-treated gestational diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 41, n. 7, p. 1385-1390, 2018.

VURAL, M.; CAMUZCUOGLU, H.; TOY, H.; CECE, H.; AYDIN, H.; EREN, M. A.; AKSOY, N. Evaluation of the future atherosclerotic heart disease with oxidative stress and carotid artery intima media thickness in gestational diabetes mellitus. **Endocrine Research**, v. 37, n. 3, p. 145-153, 2012.

WANG, C.; JIANG, Y.; MA, J.; WU, H.; WACKER, D.; KATRITCH, V.; et al. Structural basis for molecular recognition at serotonin receptors. **Science**, v. 340, n. 6132, p. 610-614, 2013.

WANG, R.; WU, Y.; TANG, G.; WU, L.; HANNA, S. T. Altered L-type Ca2+ channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 278, n. 3, p. H714-H722, 2000.

XU, P.; HUANG, S.; ZHANG, H.; MAO, C.; ZHOU, X. E.; CHENG, X.; et al. Structural insights into the lipid and ligand regulation of serotonin receptors. **Nature**, v. 592, n. 7854, p. 469-473, 2021.

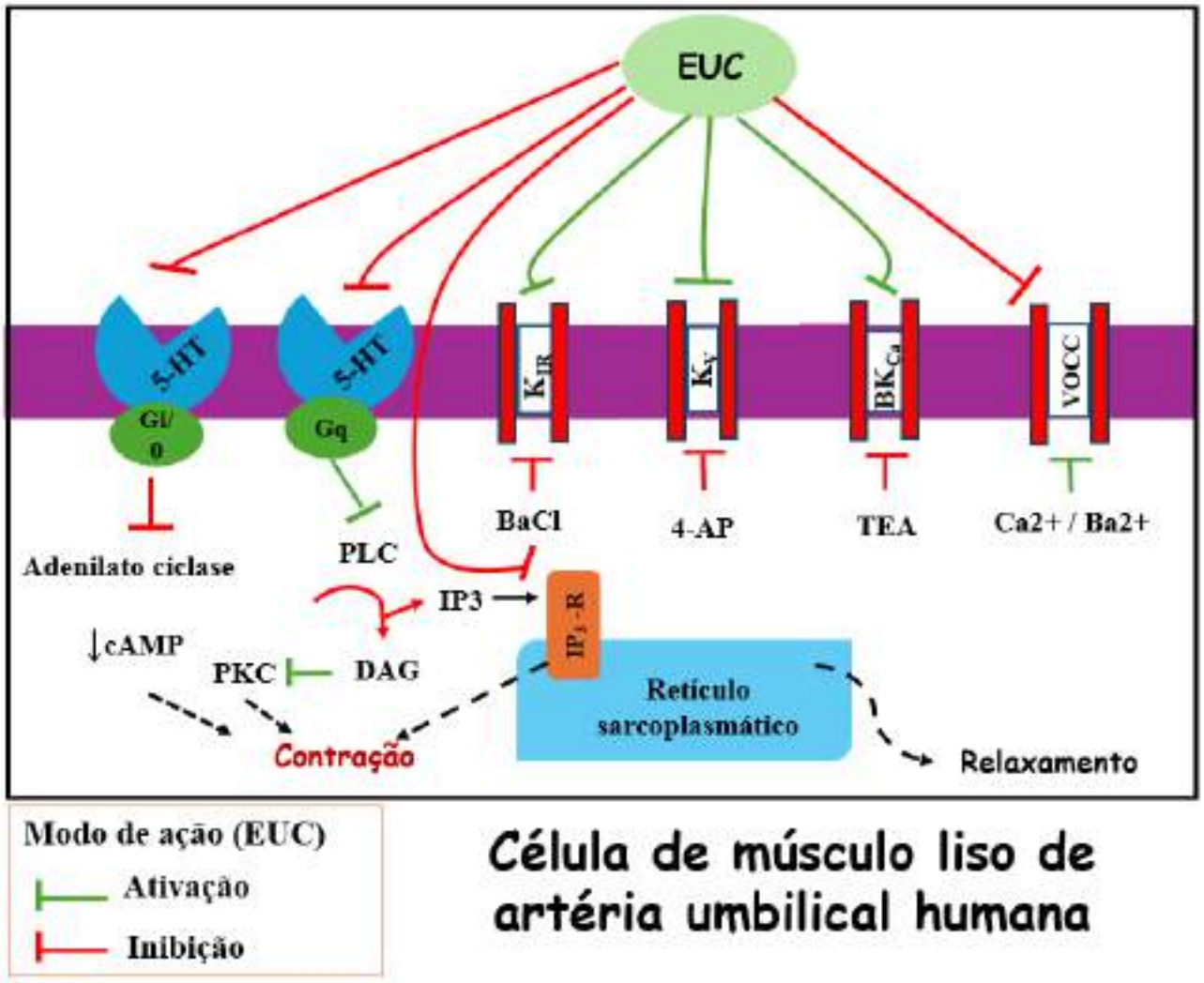
YAN, J.; ZHANG, G.; PAN, J.; WANG, Y. α-Glucosidase inhibition by luteolin: kinetics, interaction and molecular docking. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 213-223, mar. 2014.

YANG, Y.; WU, N. Gestational diabetes mellitus and preeclampsia: correlation and influencing factors. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 9, p. 831297, 2022.

YUSUF, D.; DAVIS, A. M.; KLEYWEGT, G. J.; SCHMITT, S. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 48, n. 7, p. 1411-1422, jul. 2008.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura. S1. Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos do eucaliptol sobre o tônus basal e ativo de artérias umbilicais humanas desnudadas.



Fonte: Autores (2026)**.**

6.1 ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA

A investigação da interação de produtos naturais com musculatura lisa dos vasos do cordão umbilical humano (CUH) envolve o estudo da ação de canais iônicos e de receptores localizados nas células musculares, os quais formam complexos substância-receptor diretamente associados ao acoplamento excitação-contração e respostas relaxantes (Silva *et al*., 2020; Menezes Dantas *et al*., 2022; Borges *et al*., 2022; Đukanović *et al*., 2022; Batista *et al*., 2023a; Pereira-de-Morais *et al*., 2023; Sena Bastos *et al*., 2024; Silva *et al*., 2024; Batista *et al*., 2024b; Tipcome, Watanapa e Ruamyod, 2025).

Os achados apresentados nesta tese ampliam o entendimento sobre a fisiologia da circulação umbilical e sobre o possível uso de compostos naturais durante a gestação e na diabetes gestacional (DMG). Considerando que a unidade feto-placentária depende de um controle do fluxo sanguíneo para garantir a oxigenação e nutrição do feto (Eble e Niland, 2009), torna-se importante compreender como alterações hemodinâmicas associadas ao DMG influenciam a reatividade das artérias e veias umbilicais humanas e identificar substâncias capazes de modular esses mecanismos, com potencial impacto fisiológico e clínico

Baseados nessas questões, investigamos a resposta gerada pelo monoterpeno Eucaliptol (EUC) em vasos umbilicais humanos, demonstrando de forma inédita sua capacidade de provocar um efeito vasorrelaxante significativo na vasculatura umbilical tanto em condições normoglicêmicas quanto diabéticas. Em concentrações de até 3000 μM/L, o composto modulou o tônus basal e promoveu relaxamento dependente da concentração nas artérias umbilicais humanas de parturientes normoglicêmicas (AUH-NG) e com diabetes gestacional (AUH-DMG), bem como nas veias umbilicais humanas normoglicêmicas (VUH-NG) e diabéticas (VUH-DMG), independentemente do agente contraturante empregado (KCl ou 5-HT).

A alteração do tônus basal das AUH e VUH ganha importância ao se considerar que um tônus excessivamente vasoconstrito em vasos umbilicais pode estar associado à pré-eclâmpsia (Lewinsky e Riskin-Mashiah, 1998; Ajne *et al*., 2005) e a diabetes gestacional (Zöllkau *et al*., 2021). Além disso, esse comportamento está em consonância com estudos prévios, que também relataram a capacidade do EUC de promover relaxamento do tônus em musculatura lisa traqueal de cobaias (Coelho-de-Souza *et al*., 2005; Bastos *et al*., 2009).

Neste estudo, o EUC, aplicado em concentrações crescentes e cumulativas (1–3000 μM), promoveu vasorrelaxamento tanto nas contrações evocadas por 5-HT quanto por K+. Na investigação

do acoplamento farmacomecânico, por meio da avaliação de contrações induzidas por 5-HT (10 µM), observou-se que o EUC promoveu relaxamento com maior potência nesse modelo, indicando uma atuação preferencial sobre a via serotoninérgica, tanto em AUH-NG quanto em AUH-DMG. Esses dados demonstram que o EUC exerce efeito relaxante sobre as contrações induzidas por 5-HT, sugerindo que sua ação possa envolver os receptores 5-HT_{2A} e/ou 5-HT_{1B} em ambos os grupos. Isso porque a resposta contrátil à 5-HT no tecido vascular é mediada predominantemente por esses subtipos de receptores, os quais ativam vias intracelulares dependentes de PLC, PKC e aumento do Ca^{2+} citosólico (Christova; Duridanova e Setchenska, 1997; Rogines-Velo *et al*., 2002a, 2002b).

No componente eletromecânico, o EUC reduziu as contrações induzidas por KCl (60 mM) em AUH-NG, VUH-NG, AUH-DMG e VUH-DMG. As veias apresentaram menor CE_{50} nesse acoplamento, com valores de 744,38 ± 5,78 µM para VUH-NG e 626,02 ± 5,47 µM para VUH-DMG. Em AUH-NG, a CE_{50} observada foi de 928,69 ± 3,81 µM. Nas AUH-DMG, o EUC também promoveu relaxamento das contrações induzidas por KCl, porém com CE_{50} mais elevada (1528,46 ± 5,75 µM). Como o KCl promove despolarização da membrana e abertura de canais de cálcio do tipo L (Cav1.2), a redução dessas contrações indica que o EUC provavelmente interfere no influxo de Ca^{2+} dependente de despolarização (Hofmann; Lacinova e Klugbauer, 2005; Bagur e Hajnóczky, 2017).

De forma consistente com esses achados, verificou-se que o EUC (3000 µM) também foi capaz de reduzir a resposta contrátil na presença de $BaCl_2$, um ativador seletivo de VOCC-L, bem como em presença de $CaCl_2$, que promove de maneira inespecífica a entrada de Ca^{2+} por múltiplas vias. Em AUH-NG, AUH-DMG e VUH-NG, o bloqueio foi evidente, reforçando que o EUC atua predominantemente pela inibição dos VOCC-L. Entretanto, em VUH-DMG, o EUC não aboliu totalmente a contração induzida pelas concentrações mais elevadas de $BaCl_2$ (20 e 30 mM), indicando que a ação sobre esses canais se encontra parcialmente comprometida. Esse padrão sugere que, na condição de DMG, pode haver remodelamento ou alteração funcional dos mecanismos de influxo de Ca^{2+} nas veias, permitindo a participação de outras vias de entrada do íon mesmo na presença do EUC.

Os estudos de Batista *et al.* (2023), Silva *et al.* (2024) e Bastos *et al.* (2024) demonstram que os canais de Ca^{2+} e mecanismos de sinalização intracelular associados representam alvos relevantes para a ação de diferentes fármacos e compostos de origem natural. De maneira complementar, Salemme *et al.* (2006) descrevem que esses canais desempenham papel crucial na regulação da contratilidade de vasos umbilicais.

O comprometimento parcial do bloqueio dos VOCC-L em VUH-DMG observado neste estudo pode estar associado às alterações estruturais, eletrofisiológicas e funcionais desencadeadas pela hiperglicemia materna. Esse resultado é particularmente interessante porque contrasta com

achados descritos em musculatura lisa sistêmica, na qual a exposição à hiperglicemia frequentemente leva ao aumento da atividade dos canais de Ca^{2+} tipo L, resultando em maior influxo de Ca^{2+} e intensificação do tônus contrátil (Navedo *et al*., 2010). Nystoriak *et al.* (2017) demonstraram que esse aumento de atividade é dependente da ativação da proteína quinase A (PKA), e evidências mais recentes sugerem que a hiperglicemia promove a formação de microdomínios de PKA organizados diretamente ao redor dos canais tipo L, facilitando seu funcionamento sem acionar as vias clássicas de relaxamento associadas à PKA (Nieves-Cintrón *et al*., 2021).

Por outro lado, sugere-se neste estudo a possível participação de outros subtipos de canais de Ca^{2+}, especificamente VOCC-T (CaV3.2), VOCC-P/Q e VOCC-R, atuando tanto em AUH quanto em VUH nos dois grupos avaliados. Embora esses subtipos sejam mais conhecidos por sua participação em tecidos neuronais (Thuesen *et al*., 2017; Garcia *et al*., 2022; Tomida *et al*., 2024), há evidências crescentes de que participam também na homeostase do tônus vascular (Salemme *et al*., 2006).

Outro conjunto de achados relevantes refere-se à participação de canais de K^+ (Kv, BK_{Ca}, K_{IR} e K_{ATP}) no efeito vasorrelaxante do EUC. Em AUH-NG, os dados *ex vivo* indicam contribuição funcional desses canais para o relaxamento induzido pelo composto, evidenciada pelo aumento da CE_{50} na presença de bloqueadores de Kv, K_{ATP} e K_{IR}. O bloqueio de Kv com 4-AP promoveu o maior deslocamento da curva concentração–resposta (CE_{50} = 942,34 ± 7,96 µM), seguido da GLI, bloqueadora de K_{ATP} (CE_{50} = 785,16 ± 4,40 µM), e do $BaCl_2$, associado à inibição de K_{IR} (CE_{50} = 878,00 ± 7,93 µM). Em contraste, o bloqueio de BK_{Ca} com TEA resultou em aumento da sensibilidade ao EUC, reduzindo a CE_{50} para 453,05 ± 6,73 µM, sugerindo menor participação desses canais no relaxamento arterial normoglicêmico.

Nas AUH-DMG, o EUC apresentou menor potência basal (CE_{50} = 1279,48 ± 1,71 µM), porém exibiu um padrão distinto de modulação farmacológica. A presença de TEA reduziu a CE_{50} para 512,20 ± 5,32 µM, enquanto o bloqueio de canais Kv e KATP promoveu reduções ainda mais acentuadas (4-AP: CE_{50}= 262,86 ± 3,71 µM; GLI: CE_{50} = 165,14 ± 4,65 µM). O $BaCl_2$ apresentou efeito intermediário (CE_{50} = 977,57 ± 9,63 µM). Esse perfil indica que, na DMG, a via serotoninérgica arterial apresenta reorganização funcional, com alteração da contribuição relativa dos diferentes subtipos de canais de K^+ quando comparada às artérias normoglicêmicas. Nas veias umbilicais, por sua vez, a modulação de canais de K^+ contribuiu para o relaxamento induzido pelo EUC tanto em condições normoglicêmicas quanto na DMG.

Estes resultados corroboram com a literatura, visto que na presença da DMG, observa-se redução da corrente K_{ATP} e diminuição do relaxamento mediado por esses canais, efeito associado à queda na expressão das subunidades que compõem os canais (Li *et al*., 2018; Djokic *et al*., 2019). De forma semelhante, estudos recentes demonstram que em AUH de pacientes com DMG, foram

identificadas reduções na corrente BK_{Ca}, na contratilidade modulada por esses canais e na expressão de suas subunidades (Li *et al*., 2022). Ainda, embora sejam escassos estudos específicos sobre K_{IR} em DMG, evidências provenientes de modelos de diabetes tipo 2 mostram redução da expressão de K_{IR} em músculo liso vascular (Rajkovic *et al*., 2024).

O EUC apresentou aumento dos valores de CE_{50} na presença de TEA, alcançando 2691,44 ± 6,32 μM em VUH-NG e 1010,01 ± 5,96 μM em VUH-DMG. Da mesma forma, em presença de glibenclamida, o EUC manteve CE_{50} elevados (1134,77 μM em VUH-NG e 1470,20 μM em VUH-DMG), sendo necessário calcular a CE_{50} relativa para comparação. Com o bloqueador 4-AP, observou-se aumento do CE_{50} do EUC (2198,13 ± 7,07 μM em VUH-NG e 884,14 ± 6,19 μM em VUH-DMG), efeito semelhante ao registrado na presença de $BaCl_2$ (2793,43 ± 9,60 μM em VUH-NG e 1935,88 ± 6,07 μM em VUH-DMG).

Os achados sugerem que os canais K_V, BK_{Ca}, K_{ATP} e K_{IR} estão envolvidos no efeito vasorrelaxante do EUC tanto em VUH-NG quanto em VUH-DMG. Entretanto, observa-se um perfil diferencial entre os grupos: nas preparações de VUH-DMG, o EUC apresentou maior potência sobre canais K_V, K_{ATP} e K_{IR}, enquanto nas VUH-NG a ação foi mais pronunciada sobre os canais BK_{Ca}.

Nas veias umbilicais, a modulação de canais de K^+ exerceu influência consistente sobre o efeito vasorrelaxante do EUC tanto em condições normoglicêmicas quanto na presença de DMG, indicando preservação dessas vias no compartimento venoso. Em VUH-NG, o bloqueio de BK_{Ca} com TEA promoveu aumento da CE_{50} (2691,44 ± 6,32 μM), assim como a inibição de K_{IR} com $BaCl_2$ (2793,43 ± 9,60 μM), sugerindo que esses canais desempenham papel fundamental no relaxamento induzido pelo EUC nesse grupo. O bloqueio de Kv e K_{ATP} também reduziu a potência do composto, evidenciado pelo aumento da CE_{50} na presença de 4-AP (2198,13 ± 7,07 μM) e GLI (1134,77 ± 4,51 μM).

Em VUH-DMG, embora todos os bloqueadores também tenham deslocado a curva concentração–resposta para a direita, os efeitos foram mais moderados, com CE_{50} de 1010,01 ± 5,96 μM na presença de TEA, 884,14 ± 6,19 μM com 4-AP, 1470,20 μM com GLI 1935,88 ± 6,07 μM com $BaCl_2$. Esse perfil indica que, apesar da participação concomitante de canais Kv, BK_{Ca}, K_{ATP} e K_{IR} no efeito vasorrelaxante do EUC, a DMG altera a contribuição relativa dessas vias, favorecendo a dependência funcional de Kv, K_{ATP} e K_{IR} em detrimento do papel predominante dos BK_{Ca} observado nas veias normoglicêmicas.

O estudo de Djokic *et al*. (2019) demonstrou que a DMG reduz a expressão de canais K_{ATP} em VUH, o que pode justificar a maior potência observada do EUC nesse subtipo de vaso, possivelmente refletindo uma ação compensatória, como já proposto em investigações anteriores (Viau; Lafond; Vaillancourt, 2009; Djokić *et al*., 2019). Em contrapartida, foi relatado que a DMG não altera a função dos canais K_V em VUH (Djokić *et al*., 2023). O fato de canais de K^+ continuarem

contribuindo para o relaxamento induzido pelo EUC em VUH-DMG indica que essas vias podem ser menos afetadas pela hiperglicemia, diferindo do padrão observado em AUH.

Além disso, diversos compostos naturais modulam esses canais, como a naringenina, que atua predominantemente via Kv, e o resveratrol, que exerce seus efeitos relaxantes por meio de BK_{Ca}, K_{IR} e Kv (Protić *et al*., 2015). Em VUH, Batista *et al*. (2024) evidenciaram que a ação vasorrelaxante do (E,E)-FAR envolve BK_{Ca}, K_{ATP} e K_{IR}, enquanto o metil-eugenol atua via Kv e o eugenol por meio de Kv e K_{ATP} (Silva *et al*., 2024), reforçando o papel central dos canais de K^+ na vasodilatação das veias umbilicais. Complementarmente, em modelos neuronais, o EUC demonstrou atividade epileptiforme em neurônios de caracol, associada à inibição dos canais Kv e BK_{Ca} (Zeraatpisheh; Vatanparast, 2015), indicando que esses alvos também podem estar envolvidos em diferentes tecidos.

6.2 CONCLUSÕES GERAIS

Este estudo é pioneiro ao demonstrar que o EUC, um produto natural, exerce efeito vasorrelaxante na vasculatura umbilical humana tanto em condições normoglicêmicas quanto diabéticas. Nossos resultados revelam que o EUC (3000 μM/L) modula o tônus basal e promove relaxamento dependente da concentração em artérias e veias umbilicais humanas, independentemente do estado glicêmico.

Nas AUH, o EUC inibiu contrações induzidas por diferentes agentes contraturantes, apresentando maior potência sobre o acoplamento farmacomecânico associado à via serotoninérgica. Seu efeito relaxante ocorre principalmente por bloqueio dos canais de Ca^{2+} tipo L dependentes de voltagem (VOCC-L), semelhante ao observado com a nifedipina. Além disso, há indícios de participação de canais de K^+ (Kv, BK_{Ca} e K_{IR}) em AUH-NG, embora essa via não tenha sido confirmada em AUH-DMG.

Nas VUH, o EUC teve efeito mais acentuado no acoplamento eletromecânico e atua predominantemente sobre VOCC-L em condições normoglicêmicas, enquanto em VUH-DMG o bloqueio desses canais é atenuado. A modulação de canais de K^+ (Kv, BK_{Ca}, K_{ATP} e K_{IR}) contribui para o relaxamento em ambas as condições, indicando preservação dessa via no diabetes gestacional. Sugere-se ainda a possível participação de outros subtipos de canais de Ca^{2+}, como VOCC-T (CaV3.2), VOCC-P/Q e VOCC-R em AUH e VUH, que podem complementar o mecanismo vasorrelaxante promovido pelo EUC.

Esses desfechos indicam que o EUC é uma substância promissora para o desenvolvimento de terapias direcionadas a doenças fetoplacentárias, demonstrando capacidade de modular o tônus vascular em condições normais e hiperglicêmicas. Além disso, os dados fornecem uma base para

futuras aplicações farmacológicas, ressaltando o potencial do EUC como agente terapêutico na prevenção de complicações materno-fetais.

6.3 PERSPECTIVAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

Os resultados obtidos neste estudo abrem um campo promissor para novas investigações acerca da ação do Eucaliptol (EUC; 1,8-cineol) sobre a reatividade vascular do cordão umbilical, especialmente no contexto da Diabetes *Mellitus* Gestacional (DMG). Os dados indicam a participação de canais iônicos, particularmente de cálcio e potássio, na mediação do efeito vasorrelaxante do EUC, assim, torna-se essencial investigar de forma mais detalhada como esses canais são modulados em condições de hiperglicemia e se há alterações estruturais ou funcionais decorrentes do ambiente metabólico alterado. Para isso, pretende-se incorporar a este trabalho a técnica de Patch-Clamp, que permitirá a análise direta das propriedades biofísicas e farmacológicas dos canais iônicos envolvidos na ação do EUC, fornecendo informações mais precisas sobre o modo de ligação, condutância e sensibilidade desses canais.

Além dos estudos eletrofisiológicos, vislumbramos a expansão das parcerias interinstitucionais com grupos de pesquisa especializados em toxicologia e farmacologia do desenvolvimento, com o intuito de aplicar testes de teratogenicidade. Outro eixo de investigação promissor envolve o estudo das vias de mediação inflamatória associadas à DMG, nesse sentido, pretendemos empregar análises de marcadores inflamatórios e ensaios de expressão gênica e proteica, a fim de compreender se o EUC exerce efeitos moduladores sobre citocinas pró e anti-inflamatórias, e se tais efeitos estão correlacionados à sua ação vasorrelaxante.

7 REFERÊNCIAS

ABATE, N.; S SALLAM, H.; RIZZO, M.; NIKOLIC, D.; OBRADOVIC, M.; BJELOGRLIC, P.; R ISENOVIC, E. Resistin: an inflammatory cytokine. Role in cardiovascular diseases, diabetes and the metabolic syndrome. **Current pharmaceutical design**, v. 20, n. 31, p. 4961-4969, 2014.

ABEL, R.; MONDAL, S.; MASSE, C.; GREENWOOD, J.; HARRIMAN, G.; ASHWEEL, M. A.; BHAT, S.; WESTER, R.; FRYE, L.; KAPELLER, R.; FRIESNER, R.A. Accelerating drug discovery through tight integration of expert molecular design and predictive scoring. **Current opinion in structural biology**, v. 43, p. 38-44, 2017.

ABRAHIM, D.; BRAGUINI, W. L.; KELMER-BRACHT, A. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. **Journal of chemical ecology**, v. 26, p. 611-624, 2000.

ACHARYA, C.; COOP, A.; POLLI, J. E.; MACKERELL, A. D., JR. Recent advances in ligand-based drug design: relevance and utility of the conformationally sampled pharmacophore approach. **Curr Comput Aided Drug Des**, v. 7, n. 1, p. 10-22, 2011.

AIZAWA, N.; NATSUYA, H.; FUJITA, T. Changes of the Urothelial Barrier System in the Cyclophosphamide-Induced Cystitis in Rats by Using a Newly Established “Inside-Out” Urinary Bladder Preparation. **LUTS: Lower Urinary Tract Symptoms**, v. 16, n. 6, p. e12538, 2024.

AJNE, G.; AHLBORG, G.; WOLFF, K.; NISELL, H. Contribution of endogenous endothelin-1 to basal vascular tone during normal pregnancy and preeclampsia. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 193, n. 1, p. 234-240, 2005.

AKHTAR, M.; AHMAD, R.; QURESHI, T. M.; IQBAL, Z.; AKHTER, J. Variation in composition and yield of foliage oil of *Eucalyptus polybractea*. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 33, n. 6, p. 183, 2011.

ALBUQUERQUE, A. A. S.; CARVALHO, M. T. M.; EVORA, P. M.; DE NADAI, T. R.; CELOTTO, A. C.; EVORA, P. R. B. In vitro reactivity (“organ chamber”) of guinea pig tracheal rings—methodology considerations. **Annals of Translational Medicine**, v. 4, n. 11, p. 216, 2016.

ALHUMAYDHI, F. A.; ALJOHANI, A. S.; RASHID, U.; SHAH, Z. A.; RAUF, A.; MUHAMMAD, N.; AL-AWTHAN, S, Y.; BAHATTAB, O. S. In vivo antinociceptive, muscle relaxant, sedative, and molecular docking studies of peshawaraquinone isolated from *Fernandoa adenophylla* (Wall. ex G. Don) steenis. **ACS omega**, v. 6, n. 1, p. 996-1002, 2021.

ALQUDAH, M.; RAZZAQ, R. A.; ALFAQIH, M. A.; AL-SHBOUL, O.; AL-DWAIRI, A.; TAHA, S. Mechanism of Oxytocin-Induced Contraction in Rat Gastric Circular Smooth Muscle. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 441, 2022.

AL-OFI, E.; ALRAFIAH, A.; MAIDI, S.; ALMAGHRABI, S.; HAKAMI, **N.** Altered expression of angiogenic biomarkers in pregnancy associated with gestational diabetes. **International Journal of General Medicine**, p. 3367-3375, 2021.

AL-SALAHI, R.; TAIE, H. A.; BAKHEIT, A. H.; MARZOUK, M.; ALMEHIZIA, A. A.; HERQASH, R.; ABUELIZZ, H. A. Antioxidant activities and molecular docking of 2-thioxobenzo [g] quinazoline derivatives. **Pharmacological Reports**, v. 71, p. 695-700, 2019.

AMBERG, G. C.; NAVEDO, M. F. Calcium dynamics in vascular smooth muscle. **Microcirculation**, v. 20, n. 4, p. 281-289, 2013.

AMRITHRAJ, A. I.; KODALI, A.; NGUYEN, L.; TEO, A. K. K.; CHANG, C. W.; KAR/NANI, N.; STÜNKEL, W. Gestational diabetes alters functions in offspring's umbilical cord cells with implications for cardiovascular health. **Endocrinology**, v. 158, n. 7, p. 2102-2112, 2017.

ANDRADE, S. F.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; DELLE MONACHE, F.; FILHO, V. C.; NIERO, R. Antiulcerogenic activity of fractions and 3, 15-dioxo-21α-hydroxy friedelane isolated from *Maytenus robusta* (Celastraceae). **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, p. 41-46, 2008.

ARPI, L. M. B. Histology of umbilical cord in mammals. **Histology**, 2018.

AWADALLAH, F. M.; EL-ERAKY, W. I.; SALEH, D. O. Synthesis, vasorelaxant activity, and molecular modeling study of some new phthalazine derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 52, p. 14-21, 2012.

BACCOURI, B.; RAJHI, I. Potential antioxidant activity of terpenes. **Terpenes and terpenoids-recent advances**, p. 53-62, 2021.

BAGUR, R.; HAJNÓCZKY, G. Intracellular Ca2+ sensing: its role in calcium homeostasis and signaling. **Molecular cell**, v. 66, n. 6, p. 780-788, 2017.

BAHARLOOI, H.; NOURAEI, Z.; AZIMI, M.; MOGHADASI, A. N.; TAVASSOLIFAR, M. J.; MORADI, B.; SAHRAIAN, M. I.; IZAD, M. Umbilical cord mesenchymal stem cells as well as their released exosomes suppress proliferation of activated PBMCs in multiple sclerosis. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 93, n. 6, p. e13013, 2021.

BAHRAMI, T.; YAGHMAEI, P.; YOUSOFVAND, N. The effects of Ibuprofen and 1, 8-cineol on anxiety and spatial memory in hyperammonemic rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 38, n. 2, p. 613-620, 2023.

BAKKER, E. N.; MATLUNG, H. L.; BONTA, P.; DE VRIES, C. J.; VAN ROOIJEN, N.; VANBAVEL, E. Blood flow-dependent arterial remodelling is facilitated by inflammation but directed by vascular tone. **Cardiovascular research**, v. 78, n. 2, p. 341-348, 2008.

BANERJEE, M.; SAXENA, M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. **Clinica chimica acta**, v. 413, n. 15-16, p. 1163-1170, 2012.

BARBIERI, C.; CECATTI, J. G.; SURITA, F. G.; MARUSSI, E. F.;COSTA, J. V. Sonographic measurement of the umbilical cord area and the diameters of its vessels during pregnancy. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 32, n. 3, p. 230-236, 2012.

BARDEN, A.; SINGH, R.; WALTERS, B. N.; RITCHIE, J.; ROBERMAN, B.; BEILIN, L. J. Factors predisposing to pre-eclampsia in women with gestational diabetes. **Journal of hypertension**, v. 22, n. 12, p. 2371-2378, 2004.

BARTOLOMÉ, A.; KIMURA-KOYANAGI, M.; ASAHARA, S. I.; GUILLÉN, C.; INOUE, H.; TERUYAMA, K.; SHIMIZU, S.; KANNO, A.; AQUILAR, A. G.; KOIKE, M.; UCHIYAMA, Y.; BENITO, M.; NODA, T.; KIDO, Y. Pancreatic β-cell failure mediated by mTORC1 hyperactivity and autophagic impairment. **Diabetes**, v. 63, n. 9, p. 2996-3008, 2014.

BARTUZI, D.; KACZOR, A. A.; TARGOWSKA-DUDA, K. M.; MATOSIUK, D. Recent Advances and Applications of Molecular Docking to G Protein-Coupled Receptors. **Molecule**s, v. 22, n. 2, p., 2017.
BASTA, M.; LIPSETT, B. J. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Umbilical Cord. In: **StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island** (FL); 2022. PMID: 32491321.

BASTIN, G.; HEXIMER, S. P. Intracellular regulation of heterotrimeric G-protein signaling modulates vascular smooth muscle cell contraction. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 510, n. 2, p. 182-189, 2011.

BASTOS, V.P.; BRITO, T.S.; LIMA, F.J.; PINHO, J.P.; LAHLOU, S.; ABREU MATOS, F.J.; SANTOS, A.A.; CALDAS MAGALHÃES, P. J. Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, n. 11, p. 1120-1126, 2009.

BATISTA, P. R.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE SENA BASTOS, C. M.; DA SILVA, R. E. R.; CALIXTO, G. L.; DE MORAIS, L. P.; BARBOSA, R. Vasodilation promoted by (E, E)-farnesol involving ion channels in human umbilical arteries. **Heliyon**, v. 9, n. 6, 2023a.

BATISTA, P. R.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE SOUZA BORGES, A.; DIAS, F. J.; DOS SANTOS PEREIRA, L. R.; MACHADO, S.T.S.; KERNTOPF, M. R.; BARBOSA, R. Vasorelaxant effect of (E, E)-farnesol in human umbilical vein ex vivo assays. **Chemico-Biological Interactions**, v. 386, p. 110746, 2023b.

BAUMEL-ALTERZON, S.; SCOTT, D. K. Regulation of Pdx1 by oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cells. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 1011187, 2022.

BENER, A.; SALEH, N. M.; AL-HAMAQ, A. Prevalence of gestational diabetes and associated maternal and neonatal complications in a fast-developing community: global comparisons. **International journal of women's health**, p. 367-373, 2011.

BEN-HAROUSH, A.; YOGEV, Y.; HOD, M. Epidemiology of gestational diabetes *mellitus* and its association with Type 2 diabetes. **Diabetic Medicine**, v. 21, n. 2, p. 103-113, 2004.

BEVAN, J. A. Flow regulation of vascular tone. Its sensitivity to changes in sodium and calcium. **Hypertension**, v. 22, n. 3, p. 273-281, 1993.

BEZERRA, D. S.; DELMONDES, G. A.; LOPES, M. J. P.; ARAUJO, I. M.; DE LACERDA LEITE, G. M.; DE OLIVEIRA BARBOSA, M.; KERNTOPF, M. R. Eucalyptol prevents pilocarpine-induced seizure and neuronal damage in mice, through the cholinergic, monoaminergic and antioxidant pathways. **Food Bioscience**, Volume 53, junho de 2023 , p. 102824, 2023.

BHOWAL, M.; GOPAL, M. Eucalyptol: Safety and pharmacological profile. **J. Pharm. Sci**, v. 5, p. 125-131, 2015.

BINBIR, B.; YENIEL, A. O.; ERGENOGLU, A. M.; KAZANDI, M.; AKERCAN, F.; SAGOL, S. The role of umbilical cord thickness and HbA1c levels for the prediction of fetal macrosomia in

patients with gestational diabetes *mellitus*. **Archives of gynecology and obstetrics**, v. 285, p. 635-639, 2012.

BINU, A. J.; RAJAN, S. J.; RATHORE, S.; BECK, M.; REGI, A.; THOMSON, V. S.; SATHYENDRA, S. Peripartum cardiomyopathy: An analysis of clinical profiles and outcomes from a tertiary care centre in southern India. **Obstetric Medicine**, v. 13, n. 4, p. 179-184, 2020.

BLAHOVA, J.; MARTINIAKOVA, M.; BABIKOVA, M.; KOVACOVA, V.; MONDOCKOVA, V.; OMELKA, R. Pharmaceutical drugs and natural therapeutic products for the treatment of type 2 diabetes *mellitus*. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 8, p. 806, 2021.

BLONDE, L. Current challenges in diabetes management. **Clinical cornerstone**, v. 7, p. S6-S17, 2005.

BLUNCK, R.; BATULAN, Z. Mechanism of electromechanical coupling in voltage-gated potassium channels. **Frontiers in pharmacology**, v. 3, p. 166, 2012.

BO, S.; VALPREDA, S.; MENATO, G.; BARDELLI, C.; BOTTO, C.; GAMBINO, R.; PAGANO, G. Should we consider gestational diabetes a vascular risk factor?. **Atherosclerosis**, v. 194, n. 2, p. e72-e79, 2007.

BOLOTINA, V. M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J. J.; PAGANO, P. J.; COHEN, R. A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, v. 368, n. 6474, p. 850-853, 1994.

BORGES, A. S.; BASTOS, C.; DANTAS, D. M.; MILFONT, C. G.; BRITO, G. M.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; BARBOSA, R. Effect of *Lippia alba* (mill.) NE Brown essential oil on the human umbilical artery. **Plants**, v. 11, n. 21, p. 3002, 2022.

BORGES, J. C. D. A.; SOARES, N. P.; GRAZIANI, D.; OLIVEIRA JÚNIOR, E. R. D.; LIMA, E. M.; NEPOMUCENO, L. L.; ARAÚJO, E. G. D. Curcumin-rich extract from Central Brazil Curcuma longa protects human umbilical vein endothelial cells under oxidative stress. **ABCS health sci**, p. e022230-e022230, 2022.

BRAYDEN, J. E. Potassium channels in vascular smooth muscle. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 23, n. 12, p. 1069-1076, 1996.

BRITTO-JÚNIOR, J.; COELHO-SILVA, WC, MURARI, GF, NASH, CES, MÓNICA, FZ, ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. 6-Nitrodopamine is released by human umbilical cord vessels and modulates vascular reactivity. **Life Sciences**, v. 276, p. 119425, 2021.

BROCK, N. L.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of Terpenoids. Natural Products, p. 2693-2732, 2013.

BUSSE, R.; FÖRSTERMANN, U.; MATSUDA, H.; POHL, U. The role of prostaglandins in the endothelium-mediated vasodilatory response to hypoxia. **Pflügers Archiv**, v. 401, n. 1, p. 77-83, 1984.

CAIRRÃO, E.; SANTOS-SILVA, A. J.; ALVAREZ, E.; CORREIA, I.; VERDE, I. Isolation and culture of human umbilical artery smooth muscle cells expressing functional calcium channels. **In Vitro CellularDevelopmental Biology-Animal**, v. 45, p. 175-184, 2009.

CALDAS, G. F. R.; LIMEIRA, M. M. F.; ARAÚJO, A. V.; ALBUQUERQUE, G. S.; COSTA SILVA-NETO, J.; DA SILVA, T. G.; WANDERLEY, A. G. Repeated-doses and reproductive toxicity studies of the monoterpene 1, 8-cineole (eucalyptol) in Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 97, p. 297-306, 2016.

CAN, A.; KARAHUSEYINOGLU, S. Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. **Stem cells**, v. 25, n. 11, p. 2886-2895, 2007.
CAO-EHLKER, X.; FISCHER, C.; LU, K.; BRUEGMANN, T.; SASSE, P.; DENDORFER, A.; TOMASI, R. Optimized Conditions for the Long-Term Maintenance of Precision-Cut Murine Myocardium in Biomimetic Tissue Culture. **Bioengineering**, v. 10, n. 2, p. 171, 2023.

CARDOSO LIMA, T.; MOTA, M. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; VIANA DOS SANTOS, M. R.; DE SOUSA, D. P. Structural relationships and vasorelaxant activity of monoterpenes. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 1-4, 2012.

CARDOSO-TEIXEIRA, A. C.; FERREIRA-DA-SILVA, F. W.; PEIXOTO-NEVES, D.; OLIVEIRA-ABREU, K.; PEREIRA-GONÇALVES, Á.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Hydroxyl group and vasorelaxant effects of perillyl alcohol, carveol, limonene on aorta smooth muscle of rats. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1430, 2018.

CAROLAN, M.; DAVEY, M. A.; BIRO, M. A.; KEALY, M. Maternal age, ethnicity and gestational diabetes *mellitus*. **Midwifery**, v. 28, n. 6, p. 778-783, 2012.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. **Contact dermatitis**, v. 45, n. 2, p. 65-67, 2001.

CARVAJAL, J. A.; GERMAIN, A. M.; HUDIBRO-TORO, J.P.; WEINER, C. P. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. **Journal of cellular physiology**, v. 184, n. 3, p. 409-420, 2000.

CAUVIN, C.; JOHNS, A.; YAMAMOTO, M. K.; HWANG, O.; GELBAND, C. Ca2+ movements in vascular smooth muscle and their alterations in hypertension. In: **Membrane abnormalities in hypertension**. CRC Press, 2019. p. 145-180.

CHALLIS, J. R.; LOCKWOOD, C. J.; MYATT, L.; NORMAN, J. E.; STRAUSS, J. F.; PETRAGLIA, F. Inflammation and pregnancy. **Reproductive sciences**, v. 16, p. 206-215, 2009.

CHALLISS, R. J.; BLANK, J.L. Muscarinic acetylcholine receptor signaling pathways in smooth muscle. **Muscarinic receptor subtypes in smooth muscle**, p. 39-86, 2020.

CHAMARY, V. L.; LOIZIDOU, M.; BOULOS, P. B.; TAYLOR, I.; BURNSTOCK, G. Changes in vasoconstrictor and vasodilator neurotransmitters in nerves supplying arterioles in developing colorectal polyps. **Colorectal Disease**, v. 8, n. 3, p. 230-234, 2006.

CHATTOPADHYAY, R. R.; BHATTACHARYYA, S. K. Phcog Rev.: Review Article Herbal spices as alternative antimicrobial food preservatives: An update. **Pharmacogn. Rev**, v. 1, p. 3-5, 2007.

CHIRUMBOLO, S.; BJØRKLUND, G. The antinociceptive activity of geraniol. **BasicClinical PharmacologyToxicology**, v. 120, n. 2, p. 105-107, 2017.

CHRISTIANSON, D. W. Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. **Chemical reviews**, v. 117, n. 17, p. 11570-11648, 2017.

CHRISTOVA, T.; DURIDANOVA, D.; SETCHENSKA, M. Protein kinase C and smooth muscle contraction. **Biomedical Reviews**, v. 8, p. 87-100, 1997.

CHRISTOVA, T.; DURIDANOVA, D.; SETCHENSKA, M. Protein kinase C and smooth muscle contraction. **Biomedical Reviews**, v. 8, p. 87-100, 1997.

CIAGLIA, E.; MALFITANO, A. M.; LAEZZA, C.; FONTANA, A.; NUZZO, G.; CUTIGNANO, A.; ABATE, M.; PELIN, M.; SOSA, S.; BIFULCO, M.; GAZZERRO, P. Immuno-modulatory and anti-inflammatory effects of dihydrogracilin A, a terpene derived from the marine sponge *Dendrilla membranosa*. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 8, p. 1643, 2017.

CLAES, W. **Experimentation in Software Engineering: An Introduction.** Kluwerb Academic: London, UK, 2006.

CLARK, M. D.; CONTRERAS, G. F.; SHEN, R.; PEROZO, E. Electromechanical coupling in the hyperpolarization-activated K+ channel KAT1. **Nature**, v. 583, n. 7814, p. 145-149, 2020.

COELHO-DE-SOUZA, L. N.; LEAL-CARDOSO, J. H.; DE ABREU MATOS, F. J.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C. Relaxant effects of the essential oil of *Eucalyptus tereticornis* and its main constituent 1, 8-cineole on guinea-pig tracheal smooth muscle. **Planta medica**, v. 71, n. 12, p. 1173-1175, 2005.

COHEN, E. N.; PAULSON, W. J.; WALL, J.; ELERT, B. Thiopental, curare, and nitrous oxide anesthesia for cesarean section with studies on placental transmission. **Surgery, gynecologyobstetrics**, v. 97, n. 4, p. 456-462, 1953.

COJOCARU, K.-A.; LUCHIAN, I.; GORIUC, A.; ANTOCI, L.-M.; CIOBANU, C.-G.; POPESCU, R.; VLAD, C.-E.; BLAJ, M.; FOIA, L. G. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and therapeutic strategies in diabetes, obesity, and cardiovascular disease. **Antioxidants**, v. 12, n. 3, p. 658, 2023.

CORREA-ROTTER, R.; HOSTETTER, T.H.; ROSENBERG, M. E. Renin and angiotensinogen gene expression in experimental diabetes *mellitus*. **Kidney international**, v. 41, n. 4, p. 796-804, 1992.

COSTA RAPOSO, M. G. S.; REZENDE CORRÊA, G. Ação da Leptina no Desenvolvimento de Diabetes *Mellitus* Gestacional. **ACTA MSM-Periódico da EMSM**, v. 9, n. 3, p. 104-104, 2022.

COSTA, T. K. V. L. D.; BARROS, M. S.; BRAGA, R. M.; VIANA, J. D. O.; SOUSA, F. B. D.; SCOTTI, L.; BATISTA, A. U. D.; ALMEIDA, R. N.; CASTRO, R. D. D. Orofacial antinociceptive activity and anchorage molecular mechanism in silico of geraniol. **Brazilian Oral Research**, v. 34, p. e094, 2020.

CRAVOTTO, G.; CINTAS, P. Extraction of flavourings from natural sources. In: **Modifying flavour in food**. Woodhead Publishing, 2007. p. 41-63.

DANTAS, D. M, DE ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SENA BASTOS, C. M.; CALIXTO, G. L.; KERNTOPF, M. R.; BARBOSA, R. Characterization of the vasodilator effect of eugenol in isolated human umbilical cord arteries. **Chemico-Biological Interactions**, v. 359, p. 109890, 2022.

DE MELLO, J. F. Plants in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 2, n. 1, p. 49-55, 1980.

DE VINCENZI, M.; MANCINI, E.; DESSI, M. R. **Monographs on botanical flavouring substances used in foods**. Part V. Fitoterapia, v. 67, p. 241-251, 1996.

DEBEBE, S. K.; CAHILL, L. S.; KINGDOM, J. C.; WHITEHEAD, C. L.; CHANDRAN, A. R.; PARKS, W. T.; SERGHIDES, L.; BASCHAT, A.; MACGOWAN, C. K.; SLED, J. G. Wharton's jelly area and its association with placental morphometry and pathology. **Placenta**, v. 94, p. 34-38, 2020.

DEFREITAS, M. J.; MATHUR, D.; SEEHERUNVONG, W.; CANO, T.; KATSOUFIS, C. P.; DUARA, S.; YASIN, S.; ZILLERUELO, G.; RODRIGUES, M. R.; ABITBOL, C. L. Umbilical artery histomorphometry: a link between the intrauterine environment and kidney development. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 8, n. 3, p. 349-356, 2017.

DESAI, A. N. High blood pressure. **Jama**, v. 324, n. 12, p. 1254-1255, 2020.
DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. John WileySons Ltda, v. 73, n. 3, p. 178-178, 1998.

DHYANI, V.; GARE, S.; GUPTA, R. K.; SWAIN, S.; VENKATESH, K. V.; GIRI, L. GPCR mediated control of calcium dynamics: A systems perspective. **Cellular signalling**, v. 74, p. 109717, 2020.

DIAS, Z.; KORE, S. Length of the umbilical cord and perinatal outcomes: a study of 500 deliveries. **Journal of OBGYN**, v. 9, n. 2, p. 228-32, 2023.

DI NARO, E.; GHEZZI, F.; RAIO, L.; FRANCHI, M.; D'ADDARIO, V.; LANZILLOTTI, G.; SCHNEIDER, H. Umbilical vein blood flow in fetuses with normal and lean umbilical cord. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, v. 17, n. 3, p. 224-228, 2001b.

DILLMANN, W. H. Diabetic cardiomyopathy: what is it and can it be fixed?. **Circulation research**, v. 124, n. 8, p. 1160-1162, 2019.

DI NARO, E.; GHEZZI, F.; RAIO, L.; FRANCHI, M.;D'ADDARIO, V. Umbilical cord morphology and pregnancy outcome. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, v. 96, n. 2, p. 150-157, 2001a.

DIOCHOT, S.; RICHARD, S.; BALDY-MOULINIER, M.; NARGEOT, J.; VALMIER, J. Dihydropyridines, phenylalkylamines and benzothiazepines block N-, P/Q-and R-type calcium currents. **Pflügers Archiv**, v. 431, p. 10-19, 1995.

DJOKIĆ, V.; GOSTIMIROVIĆ, M.; RAJKOVIĆ, J.; RAKOČEVIĆ, J.; LABUDOVIĆ-BOROVIĆ, M.; JANKOVIĆ, S.; GOJKOVIĆ-BUKARICA, L. Expression of Kv4. 2 and Kv4. 3 potassium channels in human umbilical veins from normal, diabetic, and hypertensive pregnancies. **Vojnosanitetski pregled**, v. 80, n. 01, 2023.

DJOKIC, V.; JANKOVIC-RAZNATOVIC, S.; NOVAKOVIC, R.; KOSTIC, M.; RAJKOVIC, J.; LABUDOVIC-BOROVIC, M.; GOJKOVIC-BUKARICA, L. Effect of gestational diabetes *mellitus* and pregnancy-induced hypertension on human umbilical vein smooth muscle KATP channels. **Experimental and molecular pathology**, v. 111, p. 104323, 2019.

DOGAN, M. F.; YILDIZ, O.; ARSLAN, S. O.; ULUSOY, K. G. Potassium channels in vascular smooth muscle: a pathophysiological and pharmacological perspective. **Fundamentalclinical pharmacology**, v. 33, n. 5, p. 504-523, 2019.

DÖRSAM, B.; WU, C. F.; EFFERTH, T.; KAINA, B.; FAHRER, J. The eucalyptus oil ingredient 1, 8-cineol induces oxidative DNA damage. **Archives of toxicology**, v. 89, p. 797-805, 2015.

ĐUKANOVIĆ, Đ.; BOJIĆ, M. G.; MARINKOVIĆ, S.; TRAILOVIĆ, S.; STOJILJKOVIĆ, M. P.; ŠKRBIĆ, R. Vasorelaxant effect of monoterpene carvacrol on isolated human umbilical artery. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 100, n. 8, p. 755-762, 2022.

DÜNSER, M. W.; MEIER, J. Vasopressor hormones in shock—noradrenaline, vasopressin or angiotensin II: which one will make the race?. **Journal of Thoracic Disease**, v. 9, n. 7, p. 1843, 2017.

EBBING, C.; KESSLER, J.; MOSTER, D.; RASMUSSEN, S. Single umbilical artery and risk of congenital malformation: population-based study in Norway. **Ultrasound in ObstetricsGynecology**, v. 55, n. 4, p. 510-515, 2020.

EBLE, J. A.; NILAND, S. The extracellular matrix of blood vessels. **Current pharmaceutical design**, v. 15, n. 12, p. 1385-1400, 2009

EDMAN, K. A. P.; SCHILD, H. O. Interaction of acetylcholine, calcium and depolarization in the contraction of smooth muscle. **Nature**, v. 190, n. 4773, p. 350-352, 1961.

EGUCHI, D.; NISHIMURA, J.; KOBAYASHI, S.; KOMORI, K.; SUGIMACHI, K.; KANAIDE, H. Mechanism of contraction induced by bradykinin in the rabbit saphenous vein. **British journal of pharmacology**, v. 120, n. 3, p. 371-378, 1997.

EL-BASSOSSY, H. M.; ELBERRY, A. A.; GHAREIB, S.A. Geraniol improves the impaired vascular reactivity in diabetes and metabolic syndrome through calcium channel blocking effect. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 6, p. 1008-1016, 2016.

ELMARAKBY, A. A.; SULLIVAN, J. C. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. **Cardiovascular therapeutics**, v. 30, n. 1, p. 49-59, 2012.

ENNAZHIYIL, S. V.; RAJEEV, A. V.; DAMODARAN, M. K.; SUKUMARAN, T. T.; SRINIVASAN, C.; KUNNATHU, R. P. Effect of gestational diabetes *mellitus* and its management on the histological and histomorphometric structure of umbilical cord: a comparative study. **Anatomy & Cell Biology**, v. 58, n. 1, p. 22-34, 2025.

ERDOGAN, B. R.; KARAOMERLIOGLU, I.; YESILYURT, Z. E.; OZTURK, N.; MUDERRISOGLU, A. E.; MICHEL, M. C.; ARIOGLU-INAN, E. (Normalization of organ bath contraction data for tissue specimen size: does one approach fit all?. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 393, p. 243-251, 2020.

ERTEL, E. A.; CAMPBELL, K. P.; HARPOLD, M. M.; HOFMANN, F.; MORI, Y.; PEREZ-REYES, E.; CATTERALL, W. A. Nomenclature of voltage-gated calcium channels. **Neuron**, v. 25, n. 3, p. 533-535, 2000.

FAHMY, M.; FAHMY, M. Anatomy of the umbilical cord. **Umbilicus and umbilical cord**, p. 47-56, 2018.

FAN, G.; CUI, Y.; GOLLASCH, M.; KASSMANN, M. Elementary calcium signaling in arterial smooth muscle. **Channels**, v. 13, n. 1, p. 505-519, 2019.

FARRAR, D.; SIMMONDS, M.; BRYANT, M.; SHELDON, T. A.; TUFFNELL, D.; GOLDER, S.; LAWLOR, D. A. Treatments for gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. **BMJ open**, v. 7, n. 6, p. e015557, 2017.

FASOULAKIS, Z.; KOUTRAS, A.; ANTSAKLIS, P.; THEODORA, M.; VALSAMAKI, A.; DASKALAKIS, G.; KONTOMANOLIS, E. N. Intrauterine Growth Restriction Due to Gestational Diabetes: From Pathophysiology to Diagnosis and Management. **Medicina**, v. 59, n. 6, p. 1139, 2023.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. 2021. IDF Diabetes Atlas. 10ª edição. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/?dlmodal=actived lsrc=https%3A%2F%2Fdiabetesatlas.org%2Fidfawp%2Fresource-files%2F2021%2F07%2FIDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf>. Acesso em 13 de julho de 2023.

FÉLÉTOU, M.; KÖHLER, R.; VANHOUTTE, P. M. Nitric oxide: orchestrator of endothelium-dependent responses. **Annals of medicine**, v. 44, n. 7, p. 694-716, 2012.

FERGUSON, V. L.; DODSON, R. B. Bioengineering aspects of the umbilical cord. **European Journal of ObstetricsGynecology and Reproductive Biology**, v. 144, p. S108-S113, 2009.

FERNANDES, M. C. A. **Caracterização do efeito vasodilatador dos nitratos orgânicos GTN, NTHF, NCOE e BIS-NTHF em artéria e veia isoladas de cordão umbilical humano**. 2015. 182 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

FERRÃO, M. H. D. L.; PEREIRA, A. C. L.; GERSGORIN, H. C. T. S.; PAULA, T. A. A. D.; CORRÊA, R. R. M.; CASTRO, E. C. D. C. Efetividade do tratamento de gestantes hipertensas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 52, p. 390-394, 2006.

FERREIRA-DA-SILVA, F. W.; DA SILVA-ALVES, K. S.; ALVES-FERNANDES, T. A.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Effects of 1,8-cineole on Na^+ currents of dissociated superior cervical ganglia neurons. **Neuroscience Letters**, v. 595, p. 45-49, 2015.

FORSSAS, E.; MANDERBACKA, K.; ARFFMAN, M.; KESKIMÄKI, I. Socio-economic predictors of mortality among diabetic people. **The European Journal of Public Health**, v. 22, n. 3, p. 305-310, 2012.

FREDHOLM, B. B. Adenosine—a physiological or pathophysiological agent? **Journal of molecular medicine**, v. 92, n. 3, p. 201-206, 2014.

FRY, C. H. Experimental models to study the physiology, pathophysiology, and pharmacology of the lower urinary tract. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 49, n. 3, p. 201-210, 2004.

GALAN, D. M.; EZEUDU, N. E.; JASMIM GARCIA, J.; GERÔNIMO, C. A.; BERRY, N. M.; MALCOLM, B. J. Eucalyptol (1, 8-cineole): an underutilized ally in respiratory disorders?. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 2, p. 103-110, 2020.

GALLEY, H. F.; WEBSTER, N. R. Physiology of the endothelium. **British journal of anaesthesia**, v. 93, n. 1, p. 105-113, 2004.

GARCIA, N.; HERNANDEZ, P.; LANUZA, M. A.; TOMAS, M.; CILLEROS-MANE, V.; JUST-BORRAS, L.; VIGARA, M. D.; POLISHCHUK, A.; SEGURA, M. B.; TOMAS, J. Involvement of the voltage-gated calcium channels L-P/Q-and N-types in synapse elimination during neuromuscular junction development. **Molecular Neurobiology**, v. 59, n. 7, p. 4044-4064, 2022.

GARG, P.; BADHWAR, S.; JARYAL, A. K.; KACHHAWA, G.; DEEPAK, K. K.; KRIPLANI, A. The temporal trend of vascular function in women with gestational diabetes. **Vascular Medicine**, v. 22, n. 2, p. 96-102, 2017.

GAROVIC, V. D. Hypertension in pregnancy: diagnosis and treatment. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier, 2000. p. 1071-1076.

GHAFOURZADEH, M.; MIRZAEI, M.; SHARIFI, I.; KEYHANI, A.; SALARKIA, E. Anti-leishmanial and immunomodulatory effects of harmaline against *Leishmania tropica* through molecular docking, gene expression profiling and oxidative stress modulation. **Scientific Reports**, 2026.

GHANEM, F. A.; MOVAHED, A. Inflammation in high blood pressure: a clinician perspective. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 1, n. 2, p. 113-119, 2007.

GHOSH, D.; SYED, A. U.; PRADA, M. P.; NYSTORIAK, M. A.; SANTANA, L. F.; NIEVES-CINTRÓN, M.; NAVEDO, M. F. Calcium channels in vascular smooth muscle. **Advances in Pharmacology**, v. 78, p. 49-87, 2017.

GOKINA, N. I.; BONEV, A. D.; GOKIN, A. P.; GOLOMAN, G. Role of impaired endothelial cell Ca^{2+} signaling in uteroplacental vascular dysfunction during diabetic rat pregnancy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 304, n. 7, p. H935-H945, 2013.

GOLBIDI, S.; EDVINSSON, L.; LAHER, I. Smoking and endothelial dysfunction. Current vascular pharmacology, v. 18, n. 1, p. 1-11, 2020.

GOMES, L. L.; ARAÚJO NETO, A. P.; MEDEIROS, F. L. S.; SANTANA, M. T. P.; SANTOS, T. A.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; GUÊNES, G. M. T.; ALVES, M. A. S. G.; PENHA, E. S.; ANJOS, R. M.; OLIVEIRA, V. F.; SOUSA, A. P.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Análise *in silico* da toxicidade do monoterpeno Eucaliptol. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e158953092-e158953092, 2020.

GONZÁLEZ, C.; BAEZ-NIETO, D.; VALENCIA, I.; OYARZÚN, I.; ROJAS, P.; NARANJO, D.; LATORRE, R. K+ channels: function-structural overview. **Comprehensive physiology**, v. 2, n. 3, p. 2087-2149, 2012.

GOPLERUD, J. M.; DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M. Physiology of the placenta--gas exchange. **Annals of ClinicalLaboratory Science**, v. 15, n. 4, p. 270-278, 1985.

GORDON, R. J. Flavourings. **Food Additive User's Handbook**, p. 75-88, 1991.

GUEDES, D. N.; SILVA, D. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MEDEIROS, I. A. Muscarinic agonist properties involved in the hypotensive and vasorelaxant responses of rotundifolone in rats. **Planta Medica**, v. 68, n. 08, p. 700-704, 2002.

GUEDES, I. A.; MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor-ligand molecular docking. **Biophysical reviews**, v. 6, p. 75-87, 2014.

GUEVARA, D. C.; TREJO, E. 5-HT2A, 5-HT1B/D, 5HT3 and 5-HT7 receptors as mediators of serotonin-induced direct contractile response of bovine airway smooth muscle. **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 57, p. 79-93, 2021.

GÜNTHER, J.; HOFFMANN, J.; STECHER, L.; SPIES, M.; GEYER, K.; RAAB, R.; HAUNER, H. (2. How does antenatal lifestyle affect the risk for gestational diabetes *mellitus*? A secondary cohort analysis from the GeliS trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 150-158, 2022.

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, E.; ARROYO, P.; SALSOSO, R.; FUENZALIDA, B.; SÁEZ, T.; LEIVA, A.; SOBREVIA, L. Role of insulin and adenosine in the human placenta microvascular and macrovascular endothelial cell dysfunction in gestational diabetes mellitus. **Microcirculation**, v. 21, n. 1, p. 26-37, 2014.

GYASI-ANTWI, P.; WALKER, L.; MOODY, C.; OKYERE, S.; SALT, K.; ANANG, L.; ADAMS, G. Global prevalence of gestational diabetes *mellitus*: a systematic review and meta-analysis. **New American Journal of Medicine**, v. 1, n. 3, 2020.

HADI, A. R.; CARR, C. S.; AL SUWAIDI, J. Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. **Vascular health and risk management**, v. 1, n. 3, p. 183, 2005.

HAI-TAO, Y.; ZHI-HENG, G.; YI-RU, C.; YUE-TING, L.; HAI-YING, Z.; YA-JUAN, L.; LIN, X. Gestational diabetes *mellitus* decreased umbilical cord blood polyunsaturated fatty acids: a meta-analysis of observational studies. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 171, p. 102318, 2021.

HAMAD, A.M.; CLAYTON, A.; ISLAM, B.; KNOX, A. J. Guanylyl cyclases, nitric oxide, natriuretic peptides and airway smooth muscle function. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 5, p. L973-L983, 2003.

HAQ, I. U.; KHAN, T.; AHMAD, T.; SHAH, A. J. Insight into the cardiovascular mechanisms of blood pressure lowering effect of gitogenin: a steroidal saponin**. Clinical and Experimental Hypertension**, v. 43, 2021.

HARMON, J. S.; STEIN, R.; ROBERTSON, R. P. Oxidative stress-mediated, post-translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells. **Journal of biological chemistry**, v. 280, n. 12, p. 11107-11113, 2005.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2831-2846, 2007.

HASCHKA, S. J.; GAR, C.; SACCO, V.; BANNING, F.; FERRARI, U.; FREIBOTHE, I.; LECHNER, A. Pre-diabetes, diabetes and fluctuations of glucose tolerance after gestational diabetes *mellitus*: 5-year follow-up of a contemporary, prospective study in Germany. **BMJ Open Diabetes Research & Care**, v. 10, n. 2, 2022.

HASHIMOTO, K.; KOGA, M. Indicators of glycemic control in patients with gestational diabetes *mellitus* and pregnant women with diabetes *mellitus*. **World journal of diabetes**, v. 6, n. 8, p. 1045, 2015.

HAUGEN, G. The vasoactive effects of serotonin in normal and single umbilical artery cords in normotensive and hypertensive pregnancies. **Hypertension in Pregnancy**, v. 15, n. 1, p. 39-50, 1996.

HAUSPURG, A.; YING, W.; HUBEL, C. A.; MICHOS, E. D.; OUYANG, P. Adverse pregnancy outcomes and future maternal cardiovascular disease. **Clinical Cardiology**, v. 41, n. 2, p. 239-246, 2018.

HENGST, C. M.; VILLAR-BALLESTEROS, M. D. L.; BRENDEL, H.; GIEBE, S.; BRUNSSEN, C.; FRÜHAUF, A.; MORAWIETZ, H. Maternal gestational diabetes impairs fetoplacental insulin-induced vasodilation via AKT/eNOS pathway and reduces placental efficiency. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 23, p. 11507, 2025.

HENRY, L. K.; THOMAS, S. T.; WIDHALM, J. R.; LYNCH, J. H.; DAVIS, T. C.; KESSLER, S. A.; BOHLMANN, J.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Contribution of isopentenyl phosphate to plant terpenoid metabolism. **Nature plants**, v. 4, n. 9, p. 721-729, 2018.

HERSHKOVITZ, R.; SILBERSTEIN, T.; SHEINER, E.; SHOHAM-VARDI, I.; HOLCBERG, G.; KATZ, M.; MAZOR, M. Risk factors associated with true knots of the umbilical cord. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 98, n. 1, p. 36-39, 2001.

HIGASHIKUNI, Y.; LIU, W.; SATA, M. Not a small frog in a big pond: targeting bradykinin receptor B2 signaling in vascular smooth muscle cells for treatment of hypertension. **Hypertension Research**, v. 46, n. 10, p. 2415-2418, 2023.

HILDÉN, K.; MAGNUSON, A.; MONTGOMERY, S.; SCHWARCZ, E.; HANSON, U.; SIMMONS, D.; BACKMAN, H. Previous pre-eclampsia, gestational diabetes *mellitus* and the risk of cardiovascular disease: A nested case-control study in Sweden. **BJOG: An International Journal of Obstetrics Gynaecology**, v. 130, n. 10, p. 1209-1216, 2023.

HOFMANN, F.; LACINOVA, L.; KLUGBAUER, N. Voltage-dependent calcium channels: from structure to function. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 139**, p. 33-87, 2005.

HORI, M.; KARAKI, H. Regulatory mechanisms of calcium sensitization of contractile elements in smooth muscle. **Life sciences**, v. 62, n. 17-18, p. 1629-1633, 1998.

HOROWITZ, A.; MENICE, C. B.; LAPORTE, R.; MORGAN, K. G. Mechanisms of smooth muscle contraction. **Physiological reviews**, v. 76, n. 4, p. 967-1003, 1996.

HORVÁTH, G.; KOCSIS, B.; LEMBERKOVICS, É.; BÖSZÖRMÉNYI, A.; OTT, P.; MÓRICZ, Á. M. Detection of Antibacterial Activity of Essential Oil Components by TLC—Bioautography Using Luminescent Bacteria. **JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, v. 26, p. 114-118, 2013.

HOTAMISLIGIL, G. S.; ARNER, P.; CARO, J. F.; ATKINSON, R. L.; SPIEGELMAN, B. M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 95, n. 5, p. 2409-2415, 1995.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor-α: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, n. 5091, p. 87-91, 1993.

HUR, K. Y.; MOON, M. K.; PARK, J. S.; KIM, S. K.; LEE, S. H.; YUN, J. S.; KO, S. H. 2021 clinical practice guidelines for diabetes *mellitus* in Korea. **Diabetes & metabolism journal**, v. 45, n. 4, p. 461-481, 2021.

HUSSEIN, R. A.; EL-ANSSARY, A. A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. **Herbal medicine**, v. 1, n. 3, 2019.
IGNARRO, L. J. Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. **The FASEB Journal**, v. 3, n. 1, p. 31-36, 1989.

IGNARRO, L. J.; KADOWITZ, P.J. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 25, n. 1, p. 171-191, 1985.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Structure and mechanical properties of resistance arteries in hypertension: role of adhesion molecules and extracellular matrix determinants. **Hypertension**, v. 36, n. 3, p. 312-318, 2000.

INZUCCHI, S. E. Diagnosis of diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 367, n. 6, p. 542-550, 2012.

ITOH, T. Pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle cells-an overview. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 55, n. 1, p. 1-9, 1991.

JACKSON, W. F. Ion channels and vascular tone. **Hypertension**, v. 35, n. 1, p. 173-178, 2000.

JAKHAR, R.; DANGI, M.; KHICHI, A.; CHHILLAR, A. K. Relevance of molecular docking studies in drug designing. **Current Bioinformatics**, v. 15, n. 4, p. 270-278, 2020.

JALILZADEH-AMIN, G.; MAHAM, M. The application of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in medicinal plants, inhibits castor oil-induced diarrhea in rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 4, p. 594-599, 2015.

JEAN-QUARTIER, C.; JEANQUARTIER, F.; JURISICA, I.; HOLZINGER, A. In silico cancer research towards 3R. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2018.

JENSEN, L. A.; CHIK, C. L.; RYAN, E. A. Review of gestational diabetes *mellitus* effects on vascular structure and function. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 13, n. 3, p. 170-182, 2016.

JIANG, C. Y.; WANG, C.; XU, N. X.; FUJITA, T.; MURATA, Y.; KUMAMOTO, E. 1,8- and 1,4-Cineole enhance spontaneous excitatory transmission by activating different types of transient receptor potential channels in the rat spinal substantia gelatinosa. **Journal of Neurochemistry**, v. 136, n. 4, p. 764-777, 2016.

JIANG, Z.; GUO, X.; ZHANG, K.; SEKARAN, G.; CAO, B.; ZHAO, Q.; ZHANG, S.; KIRBY, G. M.; ZHANG, X. The essential oils and eucalyptol from Artemisia vulgaris L. prevent acetaminophen-induced liver injury by activating Nrf2-Keap1 and enhancing APAP clearance through non-toxic metabolic pathway. **Frontiers in pharmacology**, v. 10, p. 782, 2019.

JO, M. H.; KIM, B. C.; SUNG, K.; PANETTIERI JR, R. A.; AN, S. S.; LIU, J.; HA, T. Molecular nanomechanical mapping of histamine-induced smooth muscle cell contraction and shortening. **ACS nano**, v. 15, n. 7, p. 11585-11596, 2021.

JOHNSTONE, F. D.; UGAILY-THULESIUS, L.; THULESIUS, O.; NASRAT, A. N. Umbilical artery reactivity and ultrastructural changes in pregnancy-induced hypertension and other complicated pregnancies. **Clinical Physiology**, v. 7, n. 6, p. 493-502, 1987.

JONES, B. M.; MINGIN, G. C.; TYKOCKI, N. R. Histamine receptors rapidly desensitize without altering nerve-evoked contractions in murine urinary bladder smooth muscle. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 322, n. 3, p. F268-F279, 2022.

JORGENSEN, W. L. The many roles of computation in drug discovery. **Science**, v. 303, n. 5665, p. 1813-1818, 2004.

JUERGENS, L. J.; RACKÉ, K.; TULETA, I.; STOEBER, M.; JUERGENS, U. R. (Anti-inflammatory effects of 1, 8-cineole (eucalyptol) improve glucocorticoid effects in vitro: a novel approach of steroid-sparing add-on therapy for COPD and asthma?. **Synergy**, v. 5, p. 1-8, 2017.

JUERGENS, L. J.; TULETA, I.; STOEBER, M.; RACKÉ, K.; JUERGENS, U. R. Regulation of monocyte redox balance by 1, 8-cineole (eucalyptol) controls oxidative stress and pro-inflammatory responses in vitro: A new option to increase the antioxidant effects of combined respiratory therapy with budesonide and formoterol?. **Synergy**, v. 7, p. 1-9, 2018.

KADIVAR, M.; KHAMSEH, M. E.; MALEK, M.; KHAJAVI, A.; NOOHI, A. H.; NAJAFI, L. Histomorphological changes of the placenta and umbilical cord in pregnancies complicated by gestational diabetes *mellitus*. **Placenta**, v. 97, p. 71-78, 2020.

KADOWAKI, T.; YAMAUCHI, T.; KUBOTA, N.; HARA, K.; UEKI, K.; TOBE, K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 7, p. 1784-1792, 2006.

KAHHALE, S.; FRANCISCO, R. P. V.; ZUGAIB, M. Pré-Eclampsia. **Revista de Medicina (São Paulo)**, v. 97, n. 2, p. 226-234, 2018.

KANETO, H.; MATSUOKA, T. A.; MIYATSUKA, T.; KAWAMORI, D.; KATAKAMI, N.; YAMASAKI, Y.; MATSUHISA, M. PDX-1 functions as a master factor in the pancreas. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 13, n. 16, p. 6406-6420, 2008.

KARABAŞ, A. A.; ŞAHIN, A. S. Effects of Resveratrol, Caffeic Acid Phenethyl Ester and Silibinin on Isolated Human Umbilical Artery. **International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research**, v. 6, n. 1, p. 46-51, 2025.

KAYA, S.; NERGIZ, Y.; TURGUT, A. K. Histopathological changes of the umbilical cord in complicated pregnancies. **International Journal of Health Services Research and Policy**, v. 4, n. 1, p. 43-54, 2019.

KELLEY, K. W.; CARROLL, D. G.; MEYER, A. A review of current treatment strategies for gestational diabetes *mellitus*. **Drugs in context**, v. 4, 2015.

KELLOW, Z. S.; FELDSTEIN, V. A. Ultrasound of the placenta and umbilical cord: a review. **Ultrasound quarterly**, v. 27, n. 3, p. 187-197, 2011.

KIM, H.; TOYOFUKU, Y.; LYNN, F. C.; CHAK, E.; UCHIDA, T.; MIZUKAMI, H.; GERMAN, M. S. Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. **Nature medicine**, v. 16, n. 7, p. 804-808, 2010b.

KIM, S. Y.; ENGLAND, L.; WILSON, H. G.; BISH, C.; SATTEN, G. A.; DIETZ, P. (. Percentage of gestational diabetes *mellitus* attributable to overweight and obesity. **American journal of public health**, v. 100, n. 6, p. 1047-1052, 2010a.

KWON, H.; JUNG, Y. J.; LEE, Y.; SON, G. H.; KIM, H. O.; MAENG, Y. S.; KWON, J. Y. Impaired angiogenic function of fetal endothelial progenitor cells via PCDH10 in gestational diabetes mellitus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 22, p. 16082, 2023.

KJOS, S. L.; BUCHANAN, T. A. Gestational diabetes *mellitus*. **New England journal of medicine**, v. 341, n. 23, p. 1749-1756, 1999.

KLOPELL, F. C.; LEMOS, M.; SOUSA, J. P. B.; COMUNELLO, E.; MAISTRO, E. L.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. D. Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 7-8, p. 537-542, 2007.

KNIP, M.; VEIJOLA, R.; VIRTANEN, S. M.; HYOTY, H.; VAARALA, O.; AKERBLOM, H. K. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 54, n. suppl_2, p. S125-S136, 2005.

KNOT, H. J.; BRAYDEN, J. E.; NELSON, M. T. Calcium channels and potassium channels. In: **Biochemistry of smooth muscle contraction**. Academic Press, 1996. p. 203-219.

KOENNECKE, M.; BENECKE, F.; MASCHE, A.; LINKE, R.; BRUCHHAGE, K. L.; PRIES, R.; WOLLENBERG, B. Increased phosphorylation of eNOS in nasal polyps of chronic rhinosinusitis patients can be diminished by 1, 8-cineol. **Nitric Oxide**, v. 78, p. 89-94, 2018.

KOLE, M. B.; AYALA, N. K.; CLARK, M. A.; HAS, P.; ESPOSITO, M.; WERNER, E. F. Factors associated with hypoglycemia among neonates born to mothers with gestational diabetes *mellitus*. **Diabetes Care**, v. 43, n. 12, p. e194-e195, 2020.

KUMAR, M S.; KUMAR, S.; RAJA, B. Antihypertensive and antioxidant potential of borneol-a natural terpene in LNAME—induced hypertensive rats. **I*nternational Journal* of *Pharmaceutical* and Biological Science Archive**, v. 1, p. 271-279, 2010.

KUNTZ, I. D.; BLANEY, J. M.; OATLEY, S. J.; LANGRIDGE, R.; FERRIN, T. E. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. **Journal of molecular biology**, v. 161, n. 2, p. 269-288, 1982.

KYROU, I.; TSIGOS, C.; MAVROGIANNI, C.; CARDON, G.; VAN STAPPEN, V.; LATOMME, J.; MANIOS, Y. Sociodemographic and lifestyle-related risk factors for identifying vulnerable groups for type 2 diabetes: a narrative review with emphasis on data from Europe. **BMC endocrine disorders**, v. 20, p. 1-13, 2020.

LAHLOU, M. The success of natural products in drug discovery. **PharmacologyPharmacy**, v. 4, n. 03, p. 17-31, 2013.

LAHLOU, S.; FIGUEIREDO, A. F.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Cardiovascular effects of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 80, n. 12, p. 1125-1131, 2002.

LANDON, M. B.; SPONG, C. Y.; TROM, E.; CARPENTER, M. W.; RAMIN, S. M.; CASEY, B.; WAPNER, R. J.; VARNER, M. W.; ROUSE, D. J.; TRORP, J. M.; SCISCIONE, A.; CATALANO, P.; HARPER, M.; SAADE, G.; LAIN, K. Y, SOROKIN, Y.; PEACEMAN, A. M.; TOLOSA, J. E.; ANDERSON, G. B. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 14, p. 1339-1348, 2009.

LAPPAS, M.; HIDEN, U.; DESOYE, G.; FROEHLICH, J.; MOUZON, S. H. D.; JAWERBAUM, A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 12, p. 3061-3100, 2011.

LATEK, D.; LANGER, I.; KRZYSKO, K. A.; CHARZEWSKI, L. A molecular dynamics study of vasoactive intestinal peptide receptor 1 and the basis of its therapeutic antagonism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4348, 2019.

LAWRENCE, R. D. Three types of human diabetes. **Annals of Internal Medicine**, v. 43, n. 6, p. 1199-1208, 1955.

LEACH, L.; TAYLOR, A.; SCIOTA, F. Vascular dysfunction in the diabetic placenta: causes and consequences. **Journal of Anatomy**, v. 215, n. 1, p. 69-76, 2009.

LEELANANDA, S. P.; LINDERT, S. Computational methods in drug discovery. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 12, n. 1, p. 2694-2718, 2016.

LEELAPHIWAT, P.; CHONHENCHOB, V.; SINGH, S. P.; KRUENATE, J.; WICHAI, U.; ONG, P. K. Transport coefficients of eucalyptol through various polymeric films. **Packaging Technology and Science**, v. 25, n. 3, p. 161-172, 2012.

LEI, T. I. A. N.; SU, Z. H. A. O.; FENGHUA, D. I. N. G. Allicin induced vasorelaxation via endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. **Food Function**, 2025.

LEITE, M. C. A.; BRITO BEZERRA, A. P.; DE SOUSA, J. P.; OLIVEIRA LIMA, E. Investigating the antifungal activity and mechanism (s) of geraniol against *Candida albicans* strains. **Medical mycology**, v. 53, n. 3, p. 275-284, 2015.

LEUNG, S. W.; QUAN, A.; LAO, T. T.; MAN, R. Efficacy of different vasodilators on human umbilical arterial smooth muscle under normal and reduced oxygen conditions. **Early human development**, v. 82, n. 7, p. 457-462, 2006.

LEWINSKY, R. M.; RISKIN-MASHIAH, S. Autonomic imbalance in preeclampsia: evidence for increased sympathetic tone in response to the supine-pressor test. **Obstetrics & Gynecology**, v. 91, n. 6, p. 935-939, 1998.

LI, H.; AN, J. R.; SEO, M. S.; KANG, M.; HEO, R.; PARK, S.; PARK, W. S. Downregulation of large-conductance Ca^{2+}- activated K+ channels in human umbilical arterial smooth muscle cells in gestational diabetes *mellitus*. **Life Sciences**, v. 288, p. 120169, 2022.

LI, H.; SHIN, S. E.; SEO, M. S.; AN, J. R.; HA, K. S.; HAN, E. T.; PARK, W. S. Alterations of ATP-sensitive K+ channels in human umbilical arterial smooth muscle during gestational diabetes *mellitus*. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 470, n. 9, p. 1325-1333, 2018.

LICHOTA, A.; GWOZDZINSKI, L.; GWOZDZINSKI, K. Therapeutic potential of natural compounds in inflammation and chronic venous insufficiency. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 176, p. 68-91, 2019.

LIEW, S. Y.; MUKHTAR, M. R.; HADI, A. H. A.; AWANG, K.; MUSTAFA, M. R.; ZAIMA, K.; LITAUDON, M. Naucline, a New Indole Alkaloid from the Bark of *Nauclea officinalis*. **Molecules**, v. 17, 2012.

LIN, H. Y.; WENG, S. W.; SHEN, F. C.; CHANG, Y. H.; LIAN, W. S.; HSIEH, C. H.; WANG, P. W. Abrogation of toll-like receptor 4 mitigates obesity-induced oxidative stress, proinflammation, and insulin resistance through metabolic reprogramming of mitochondria in adipose tissue. **Antioxidantsredox signaling**, v. 33, n. 2, p. 66-86, 2020.

LIN, IN, Q.; ZHAO, G.; FANG, X.; PENG, X.; TANG, H.; WANG, H.; OUYANG, K. IP3 receptors regulate vascular smooth muscle contractility and hypertension. **JCI insight**, v. 1, n. 17, 2016.

LIN, N.; ZHANG, H.; SU, Q. Advanced glycation end-products induce injury to pancreatic beta cells through oxidative stress. **Diabetesmetabolism**, v. 38, n. 3, p. 250-257, 2012.

LINGAPPAN, K. NF-κB in oxidative stress. **Current opinion in toxicology**, v. 7, p. 81-86, 2018.

LINGHU, K.; LIN, D.; YANG, H.; XU, Y.; ZHANG, Y.; TAO, L.; SHEN, X. Ameliorating effects of 1, 8-cineole on LPS-induced human umbilical vein endothelial cell injury by suppressing NF-κB signaling in vitro. **European journal of pharmacology**, v. 789, p. 195-201, 2016.

LONTCHI-YIMAGOU, E.; SOBNGWI, E.; MATSHA, T. E.; KENGNE, A. P. Diabetes *mellitus* and inflammation. **Current diabetes reports**, v. 13, n. 3, p. 435-444, 2013.

LORIGO, M.; MARIANA, M.; FEITEIRO, J.; CAIRRAO, E. How is the human umbilical artery regulated?. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 44, n. 7, p. 1193-1201, 2018.

LORIGO, M.; OLIVEIRA, N.; CAIRRAO, E. Clinical importance of the human umbilical artery potassium channels. **Cells**, v. 9, n. 9, p. 1956, 2020.

LUC, K.; SCHRAMM-LUC, A.; GUZIK, T. J.; MIKOLAJCZYK, T. P. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. **Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 70, n. 6, 2019.

LÜSCHER, T. F.; NOLL, G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. **Atherosclerosis**, v. 118, p. S81-S90, 1995.

LÜSCHER, T. F.; TANNER, F. C. Endothelial regulation of vascular tone and growth. **American journal of hypertension**, v. 6, n. 7_Pt_2, p. 283S-293S, 1993.

MAGA, R.; BROUSSALIS, A.; CLEMENTE, S.; MAREGGIANI, G.; FERRARO, G. 1, 8 cineol: responsável pela atividade inseticida da *Lavandula spica* Mill (lavanda). **Revista Latinoamericana de Química** , v. 3, pág. 146-149, 2000.

MAIN, B. J.; MAFFULLI, N.; VALK, J. A.; RODRIGUEZ, H. C.; GUPTA, M.; EL-AMIN III, S. F.; GUPTA, A. Umbilical cord-derived wharton's jelly for regenerative medicine applications: A systematic review. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 11, p. 1090, 2021.

MALPAS, P.; SYMONDS, E. M. Arterial and venous pressures in the human umbilical cord. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 98, n. 2, p. 261-265, 1967.

MANGANA, C.; LORIGO, M.; CAIRRAO, E. Implications of Endothelial Cell-Mediated Dysfunctions in Vasomotor Tone Regulation. **Biologics**, v. 1, n. 2, p. 231-251, 2021.

MARASCHIN, J. F. Classification of diabetes. **Diabetes: An old disease, a new insight**, p. 12-19, 2013.

MARTÍN, P.; REBOLLEDO, A.; PALOMO, A. R. R.; MONCADA, M.; PICCININI, L.; MILESI, V. Diversity of potassium channels in human umbilical artery smooth muscle cells: A review of their roles in human umbilical artery contraction. **Reproductive sciences**, v. 21, n. 4, p. 432-441, 2014.

MASAKI, T. Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 35, n. 1, p. 235-255, 1995.

MATTOS, S. S. Fisiologia da circulação fetal e diagnóstico das alterações funcionais do coração do feto. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 69, p. 205-207, 1997.

MCGRATH, J. C.; MACLENNAN, S. J.; MANN, A. C.; STUART-SMITH, K.; WHITTLE, M. J. CONTRACTION of human umbilical artery, but not vein, by oxygen. **The Journal of Physiology**, v. 380, p. 513-519, 1986.

MCINTYRE, H. D.; CATALANO, P.; ZHANG, C.; DESOYE, G.; MATHIESEN, E. R.; DAMM, P. Gestational diabetes mellitus. **Nature reviews Disease primers**, v. 5, n. 1, p. 47, 2019.

MEDINA-LEYTE, D. J.; DOMÍNGUEZ-PÉREZ, M.; MERCADO, I.; VILLARREAL-MOLINA, M. T.; JACOBO-ALBAVERA, L. Use of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as a model to study cardiovascular disease: A review. **Applied Sciences**, v. 10, n. 3, p. 938, 2020.

MENEZES DANTAS, D.; DE ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SENA BASTOS, C. M.; CALIXTO, G. L.; KERNTOPF, M. R.; BARBOSA, R. Characterization of the vasodilator effect of eugenol in isolated human umbilical cord arteries. **Chemico-Biological Interactions**, v. 359, p. 109890, 2022.

MERRILL, D. C.; KAROLY, M.; CHEN, K.; FERRARIO, C. M.; BROSNIHAN, K. B. Angiotensin-(1-7) in normal and preeclamptic pregnancy. **Endocrine**, v. 18, n. 3, p. 239-245, 2002.

MEYER, W. W.; RUMPELT, H. J.; YAO, A. C.; LIND, J. Structure and closure mechanism of the human umbilical artery. **European journal of pediatrics**, v. 128, p. 247-259, 1978.

MISHRA, P.; GUPTA, P.; SRIVASTAVA, A. K.; POLURI, K. M.; PRASAD, R. Eucalyptol/β-cyclodextrin inclusion complex loaded gellan/PVA nanofibers as antifungal drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 609, p. 121163, 2021.

MOCELLIN, L. P.; GOMES, H. D. A.; SONA, L.; GIACOMINI, G. M.; PIZZUTI, E. P.; NUNES, G. B.; MACEDO, J. L. D. Gestational diabetes mellitus prevalence in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Cadernos de saude publica**, v. 40, p. e00064919, 2024.

MOHAMMED, R.; PROVITERA, L.; CAVALLARO, G.; LATTUADA, D.; ERCOLI, G.; MOSCA, F.; VILLAMOR, E. Vasomotor effects of hydrogen sulfide in human umbilical vessels. **J. Physiol. Pharmacol**, v. 68, n. 5, p. 737-747, 2017.

MOO, C. L.; OSMAN, M. A.; YANG, S. K.; YAP, W. S.; ISMAIL, S.; LIM, S. H. E.; LAI, K. S. Antimicrobial activity and mode of action of 1, 8-cineol against carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 20824, 2021.

MORGADO, M.; CAIRRÃO, E.; SANTOS-SILVA, A. J.; VERDE, I. Cyclic nucleotide-dependent relaxation pathways in vascular smooth muscle. **Cellular and molecular life sciences**, v. 69, p. 247-266, 2012.

MOTA, F. V. B.; DE ARAÚJO NETA, M. S.; DE SOUZA FRANCO, E.; BASTOS, I. V. G. A.; DA ARAÚJO, L. C. C.; DA SILVA, S. C.; DA SILVA, T. G. Evaluation of anti-inflammatory activity and molecular docking study of new aza-bicyclic isoxazoline acylhydrazone derivatives. **Medchemcomm**, v. 10, n. 11, p. 1916-1925, 2019.

MOWLAZADEH HAGHIGHI, S.; FATHALIPOUR, M.; ABBASI, M.; PURKHOSROW, A.; OFTADEHGAN, S.; KHALAFI-NEZHAD, A.; SATTARINEZHAD, E. Synthesis, Evaluation of Vasorelaxant Activity, and Molecular Docking of Py-ranopyrazole Derivatives as Calcium Channel Blockers. **Trends in Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 2, 2023.

MUSHTAQ, S.; ABBASI, B. H.; UZAIR, B.; ABBASI, R. Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. **EXCLI journal**, v. 17, p. 420, 2018.

NASCIMENTO, N. R. F.; REFOSCO, R. M. D. C.; VASCONCELOS, E. C. F.; KERNTOPF, M. R.; SANTOS, C. F.; BATISTA, F. J. A.; FONTELES, M. C. 1, 8-Cineole induces relaxation in rat and guinea-pig airway smooth muscle. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 3, p. 361-366, 2009.

NAVEDO, M. F.; TAKEDA, Y.; NIEVES-CINTRÓN, M.; MOLKENTIN, J. D.; SANTANA, L. F. Elevated Ca2+ sparklet activity during acute hyperglycemia and diabetes in cerebral arterial smooth muscle cells. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 298, n. 2, p. C211-C220, 2010.

NELSON, M. T.; PATLAK, J. B.; WORLEY, J. F.; STANDEN, N. B. Calcium channels, potassium channels, and voltage dependence of arterial smooth muscle tone. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 259, n. 1, p. C3-C18, 1990.

NEUENSCHWANDER, M.; BALLON, A.; WEBER, KS, NORAT, T.; AUNE, D.; SCHWINGSHACKL, L.; SCHLESINGER, S. Role of diet in type 2 diabetes incidence: umbrella review of meta-analyses of prospective observational studies. **bmj**, v. 366, 2019.

NICHOLS, C. G.; LOPATIN, A. N. Inward rectifier potassium channels. **Annual review of physiology**, v. 59, n. 1, p. 171-191, 1997.

NIELSEN, K. K.; DE COURTEN, M.; KAPUR, A. Health system and societal barriers for gestational diabetes *mellitus* (GDM) services-lessons from World Diabetes Foundation supported GDM projects. **BMC international health and human rights**, v. 12, p. 1-10, 2012.

NIEVES-CINTRÓN, M.; FLORES-TAMEZ, V. A, LE, T.; BAUDEL, M. M. A.; NAVEDO, M. F. Cellular and molecular effects of hyperglycemia on ion channels in vascular smooth muscle. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, n. 1, p. 31-61, 2021.

NISHIHIRA, K.; YAMASHITA, A.; TANAKA, N.; MORIGUCHI-GOTO, S.; IMAMURA, T.; ISHIDA, T.; ASADA, Y. Serotonin induces vasoconstriction of smooth muscle cell-rich neointima through 5-hydroxytryptamine2A receptor in rabbit femoral arteries. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 6, n. 7, p. 1207-1214, 2008.

NYSTORIAK, M. A.; NIEVES-CINTRÓN, M.; PATRIARCHI, T.; BUONARATI, O. R.; PRADA, M. P.; MOROTTI, S.; NAVEDO, M. F. Ser1928 phosphorylation by PKA stimulates the L-type Ca2+ channel CaV1. 2 and vasoconstriction during acute hyperglycemia and diabetes. **Science signaling**, v. 10, n. 463, p. eaaf9647, 2017.

OLIVEIRA, N.; FEITEIRO, J.; CAIRRÃO, E.; VERDE, I. Efeito do Bisfenol A na regulação da contração da artéria umbilical humana. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 6, n. 1, p. 50-51, 2016.

OTTOLINI, M.; SONKUSARE, S. K. The calcium signaling mechanisms in arterial smooth muscle and endothelial cells. **Comprehensive Physiology**, v. 11, n. 2, p. 1831, 2021.

OVESEN, P. G.; JENSEN, D. M.; DAMM, P.; RASMUSSEN, S.; KESMODEL, U. S. Maternal and neonatal outcomes in pregnancies complicated by gestational diabetes. A nation-wide study. **The Journal of Maternal-Fetal Neonatal Medicine**, v. 28, n. 14, p. 1720-1724, 2015.

OWENS, G. K.; KUMAR, M. S.; WAMHOFF, B. R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. **Physiological reviews**, v. 84, n. 3, p. 767-801, 2004.

PADUCH, R.; TRYTEK, M.; KRÓL, SK, KUD, J.; FRANT, M.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; FIEDUREK, J. Biological activity of terpene compounds produced by biotechnological methods. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 6, p. 1096-1107, 2016.

PANEE, J. Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 1-12, 2012.

PARK, J.; JANG, H. Anti-diabetic effects of natural products an overview of therapeutic strategies. **Molecularcellular toxicology**, v. 13, p. 1-20, 2017.

PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K. S.; GOMES, M. D. M.; LIMA, F. C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental Clinical Pharmacology**, v. 24, p. 341-350, 2010.

PEREIRA-DE-MORAIS, L.; ALENCAR SILVA, A.; BASTOS, C. M. S.; CALIXTO, G. L.; ARAÚJO, I. M.; ARAÚJO, M. C.; BARBOSA, R.; LEAL-CARDOSO, J. H. The preeclampsia condition alters external potassium-evoked contraction of human umbilical vessels. **Placenta**, v. 138, p. 68-74, 2023.

PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE SENA BASTOS, C. M.; CALIXTO, G. L.; ARAÚJO, I. M.; ARAÚJO, M. C.; LEAL-CARDOSO, J. H. The preeclampsia condition

alters external potassium-evoked contraction of human umbilical vessels. **Placenta**, v. 138, p. 68-74, 2023.

PERMUTT, M. A.; WASSON, J.; COX, N. Genetic epidemiology of diabetes. **The Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 6, p. 1431-1439, 2005.

PERUSQUÍA, M.; NAVARRETE, E.; GONZÁLEZ, L.; VILLALÓN, C. M. The modulatory role of androgens and progestins in the induction of vasorelaxation in human umbilical artery. **Life sciences**, v. 81, n. 12, p. 993–1002, 2007.

PEYTER, A. C.; BEAUMANN, M.; DELHAES, F.; JOYE, S.; MENÉTREY, S.; BAUD, D.; TOLSA, J. F. Fetal sex and the relative reactivity of human umbilical vein and arteries are key determinants in potential beneficial effects of phosphodiesterase inhibitors. **Journal of Applied Physiology**, v. 136, n. 6, p. 1526-1545, 2024.

PHOSRITHONG, N.; UNGWITAYATORN, J. Molecular docking study on anticancer activity of plant-derived natural products. **Medicinal chemistry research**, v. 19, p. 817-835, 2010.

PINTO-JUNIOR, V. R.; OSTERNE, V. J. S.; SANTIAGO, M. Q.; CORREIA, J. L. A.; PEREIRA-JUNIOR, F. N.; LEAL, R. B.; CAVADA, B. S. Structural studies of a vasorelaxant lectin from Dioclea reflexa Hook seeds: Crystal structure, molecular docking and dynamics. **International journal of biological macromolecules**, v. 98, p. 12-23, 2017.

POCIOT, F.; LERNMARK, Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 387, n. 10035, p. 2331-2339, 2016.

POORANSARI, P.; EBRAHIMI, A.; NAZEMI, N.; YAMINIFAR, F.; ABEDIASL, Z. Is gross morphology of placenta, umbilical cord, and neonatal outcome in well-controlled gestational diabetes mellitus pregnancy different? A case-control study. **International Journal of Reproductive BioMedicine**, v. 18, n. 6, p. 407, 2020.

PREDANIC, M.; PERNI, S. C.; FRIEDMAN, A.; CHERVENAK, F. A.; CHASEN, S. T. Fetal growth assessment and neonatal birth weight in fetuses with an isolated single umbilical artery. **ObstetricsGynecology**, v. 105, n. 5 Part 1, p. 1093-1097, 2005.

PROCTOR, L. K.; FITZGERALD, B.; WHITTLE, W. L.; MOKHTARI, N.; LEE, E.; MACHIN, G.; KEATING, S. J. Umbilical cord diameter percentile curves and their correlation to birth weight and placental pathology. **Placenta**, v. 34, n. 1, p. 62-66, 2013.

PROTIĆ, D.; RADUNOVIĆ, N.; SPREMOVIĆ-RAĐENOVIĆ, S.; ŽIVANOVIĆ, V.; HEINLE, H.; PETROVIĆ, A.; GOJKOVIĆ-BUKARICA, L. The role of potassium channels in the vasodilatation induced by resveratrol and naringenin in isolated human umbilical vein. **Drug development research**, v. 76, n. 1, p. 17-23, 2015.

PUBCHEM. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_3_3-Trimethyl-2-oxabicyclo_2.2.2_octan-6-ol. Acesso em: 29 de agosto de 2023.

RADENKOVIĆ, M.; RADUNOVIĆ, N.; MOMČILOV, P.; GRBOVIĆ, L. Altered response of human umbilical artery to 5-HT in gestational diabetic pregnancy. **Pharmacological Reports**, v. 61, n. 3, p. 520-528, 2009.

RAIO, L.; GHEZZI, F.; DI NARO, E.; FRANCHI, M.; BOLLA, D.; SCHNEIDER, H. Altered sonographic umbilical cord morphometry in early-onset preeclampsia. **ObstetricsGynecology**, v. 100, n. 2, p. 311-316, 2002.

RAJKOVIC, J.; PERIC, M.; STANISIC, J.; GOSTIMIROVIC, M.; NOVAKOVIC, R.; DJOKIC, V.; GOJKOVIC-BUKARICA, L. Effect of Type-2 Diabetes *Mellitus* on the Expression and Function of Smooth Muscle ATP-Sensitive Potassium Channels in Human Internal Mammary Artery Grafts. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 7, p. 857, 2024.

RAMYA, S.; LOGANATHAN, T.; CHANDRAN, M.; PRIYANKA, R.; KAVIPRIYA, K.; PUSHPALATHA, G. G. L.; SALUJA, V. Phytochemical Screening, GCMS, FTIR profile of Bioactive Natural Products in the methanolic extracts of Cuminum cyminum seeds and oil. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 12, n. 2-S, p. 110-118, 2022.

RASMUSSEN, L.; POULSEN, C. W.; KAMPMANN, U.; SMEDEGAARD, S. B.; OVESEN, P. G.; FUGLSANG, J. Diet and healthy lifestyle in the management of gestational diabetes *mellitus*. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 3050, 2020.

RAUNIO, H. In silico toxicology-non-testing methods. **Frontiers in pharmacology**, v. 2, p. 33, 2011.

REES, D. D.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 9, p. 3375-3378, 1989.

REITTER, A.; HAJDUK, B.; GEKA, F.; BUXMANN, H.; SCHLÖSSER, R.; LOUWEN, F. Doppler studies of gestational diabetes in the third trimester. **Ultraschall in der Medizin**, v. 32, supl. 2, p. E162-E168, 2011.

RIECK, S.; WHITE, P.; SCHUG, J.; FOX, A. J.; SMIRNOVA, O.; GAO, N.; KAESTNER, K. H. The transcriptional response of the islet to pregnancy in mice. **Molecular endocrinology**, v. 23, n. 10, p. 1702-1712, 2009.

ROBERTSON, R. P.; HARMON, J. S. Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: a case of double jeopardy for the pancreatic islet β cell. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 177-184, 2006.

RÖCKELEIN, G.; SCHNEIDER, R. Three-dimensional analysis of the tunica media of umbilical arteries. Scanning electron microscopy study. **Zeitschrift fur Geburtshilfe und Perinatologie**, v. 196, n. 6, p. 266-272, 1992.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, V. E.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, B.; QUIROGA-GARZA, A.; REYES-HERNÁNDEZ, C. G.; DE LA FUENTE-VILLARREAL, D.; DE LA GARZA-CASTRO, O.; ELIZONDO-OMAÑA, R. E. Human umbilical vessels: Choosing the optimal decellularization method. **ASAIO Journal**, v. 64, n. 5, p. 575-580, 2018.

ROFFINO, S.; LAMY, E.; FOUCAULT-BERTAUD, A.; RISSO, F.; REBOUL, R.; TELLIER, E.; CHAREYRE, C.; DIGNAT-GEORGE, F.; SIMEONI, U.; CHARPIOT, P. Premature birth is associated with not fully differentiated contractile smooth muscle cells in human umbilical artery. **Placenta**, v. 33, n. 6, p. 511-517, 2012.

ROGINES-VELO, M.; PELOROSSO, F.; ZOLD, C.; BRODSKY, P.; ROTHLIN, R. Characterization of 5-HT receptor subtypes mediating contraction in human umbilical vein. 1. Evidence of involvement of 5-HT_{2A} receptors using functional and radioligand binding assays. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 366, n. 6, p. 587-595, 2002b.

ROGINES-VELO, M.; PELOROSSO, F.; ZOLD, C.; BRODSKY, P.; ROTHLIN, R. Characterization of 5-HT receptor subtypes mediating contraction in human umbilical vein. 2. Evidence of involvement of 5-HT1B receptors using functional studies. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 366, n. 6, p. 596-604, 2002a.

RORSMAN, P. The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint. **Diabetologia**, v. 40, n. 5, p. 487-495, 1997.

RUZICKA, L. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. **Experientia**, v. 9, n. 10, p. 357-367, 1953.

SALEMME, S.; REBOLLEDO, A.; SPERONI, F.; PETRUCCELLI, S.; MILESI, V. L, P-/Q-and T-type Ca^{2+} channels in smooth muscle cells from human umbilical artery. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 1-4, p. 055-064, 2006.

SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J. D.; BUENO, M.; ALVAREZ-RIVERA, G.; TUDELA, J.; IBAÑEZ, E.; CIFUENTES, A. In vitro neuroprotective potential of terpenes from industrial orange juice by-products. **Food & function**, v. 12, n. 1, p. 302-314, 2021.

SANDERS, K. M.; DON KOH, S. Two-pore-domain potassium channels in smooth muscles: new components of myogenic regulation. **The Journal of physiology**, v. 570, n. 1, p. 37-43, 2006.

SANDOO, A.; VAN ZANTEN, J. J. V.; METSIOS, G. S.; CARROLL, D.; KITAS, G. D. The endothelium and its role in regulating vascular tone. **The open cardiovascular medicine journal**, v. 4, p. 302, 2010.

SAN MARTÍN, R.; SOBREVIA, L. Gestational diabetes and the adenosine/L-arginine/nitric oxide (ALANO) pathway in human umbilical vein endothelium. **Placenta**, v. 27, n. 1, p. 1-10, 2006.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. 1, 8-cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 46, p. 331-337, 2001.

SANTOS, S.; BARATA, P.; CHARMIER, A.; LEHMANN, I.; RODRIGUES, S.; MELOSINI, M. M.; FERNANDES, R. Cannabidiol and terpene formulation reducing SARS-CoV-2 infectivity tackling a therapeutic strategy. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 841459, 2022.

SARIKABADAYI, Y. U.; AYDEMIR, O.; KANMAZ, G.; AYDEMIR, C.; OGUZ, S. S.; ERDEVE, O.; DILMEN, U. Umbilical artery intima-media and wall thickness in infants of diabetic mothers. **Neonatology**, v. 102, n. 2, p. 157-162, 2012.

SARIKAYA, S.; UYSAL, E.; ABDURRAHMAN, M. E. R. T.; KÖREZ, M. K.; GÜNENC, O.; SAVAŞ, B.; SERIN, E. The Relationship Between Placenta and Umbilical Cord Characteristics and Fetal Distress. **Genel Tıp Dergisi**, v. 33, n. 5, p. 562-568, 2023.

SATO, K.; OZAKI, H.; KARAKI, H. Changes in cytosolic calcium level in vascular smooth muscle strip measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator fura 2. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 246, n. 1, p. 294-300, 1988.

SCHNEIDER, H. Oxygenation of the placental-fetal unit in humans. **Respiratory physiologyneurobiology**, v. 178, n. 1, p. 51-58, 2011.

SCHNEIDER, M. F. Membrane charge movement and depolarization-contraction coupling. **Annual review of physiology**, v. 43, n. 1, p. 507-517, 1981.

SCHUBERT, R.; NELSON, M. T. Protein kinases: tuners of the BKCa channel in smooth muscle. **Trends in pharmacological sciences**, v. 22, n. 10, p. 505-512, 2001.

SECK, A.; AGNE, F. D.; FALL, A. S.; SAR, F. B.; OUÉDRAOGO, V.; MBENGUE, A.; SAMB, A. Insulin resistance and arterial stiffness: impact of gestational diabetes on pulse wave velocity. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 6, n. 9, p. 2895, 2018.

SENA BASTOS, C. M.; DE ALENCAR SILVA, A.; BATISTA, P. R.; DA SILVA DUARTE, M. R.; MAGALHÃES, L. M. U.; DE MATOS, Y. M. L. S.; BARBOSA, R**.** Influence of perillyl alcohol on human umbilical vein relaxation: mechanisms involving calcium channels and protein kinase C. **Placenta**, v. 174, p. 84–94, fev. 2026.

SENA BASTOS, C. M.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE MENEZES DANTAS, D.; BATISTA, P. R.; LIMA GOMES, M. F.; DELMONDE, G, A.; MENEZES, I, R, A.; SILVA.; R, E, R.; BARBOSA, R. Perillyl Alcohol Promotes Relaxation in Human Umbilical Artery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 42, p. 7072-7082, 2024.

SEOL, G. H.; KIM, K. Y. Eucalyptol and its role in chronic diseases. **Drug discovery from mother nature**, p. 389-398, 2016.

SHARMIN, R.; HAMOH, T.; SIGAEVA, A.; MZYK, A.; DAMLE, V. G.; MORITA, A.; SCHIRHAGL, R. Fluorescent nanodiamonds for detecting free-radical generation in real time during shear stress in human umbilical vein endothelial cells. **ACS sensors**, v. 6, n. 12, p. 4349-4359, 2021.

SHI, N.; CHEN, S. Y. Smooth muscle cell differentiation: model systems, regulatory mechanisms, and vascular diseases. **Journal of cellular physiology**, v. 231, n. 4, p. 777-787, 2016.

SIGMA-ALDRICH. **Catálogo de produtos. Disponível em: http://www. sigmaaldrich. com/catalog/product/sial/270709**, 2023.

SILVA, A.A, DE MORAIS, L. P.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE MENEZES DANTAS, D.; BATISTA, P. R.; DIAS, F. J.; BARBOSA, R. Vasorelaxant effect of phenylpropanoids: Methyl eugenol and eugenol in human umbilical cord vein. **Biomedicine Pharmacotherapy**, v. 178, p. 117227, 2024.

SILVA, A.A, DE MORAIS, L. P.; DE SENA BASTOS, C. M.; DE MENEZES DANTAS, D.; BATISTA, P. R.; DIAS, F. J.; BARBOSA, R. Vasorelaxant effect of phenylpropanoids: Methyl eugenol and eugenol in human umbilical cord vein. **Biomedicine Pharmacotherapy**, v. 178, p. 117227, 2024.

SILVA, A.A, PEREIRA-DE-MORAIS, L.; BATISTA, P. R.; MILFONT, C. G. B.; ARAÚJO, I. M.; DE SENA BASTOS, C. M.; BARBOSA, R Investigation of the vasodilatory, tocolytic and spasmolytic effects of rutin on Wistar rats tissues. **Pharmacological Research-Natural Products**, p. 100172, 2025.

SILVA, M.; RIBEIRO, F. P.; MEDEIROS, M. A.; SAMPAIO, P. A.; SILVA, Y.; SILVA, M. T.; RIBEIRO, L. A. The vasorelaxant effect of p-cymene in rat aorta involves potassium channels. **The Scientific World Journal**, v. 2015, 2015.

SILVA, R. E R.; ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SOUSA ALMEIDA, N.; IRITI, M.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; BARBOSA, R. Relaxant effect of monoterpene (−)-Carveol on isolated human umbilical cord arteries and the involvement of ion channels. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2681, 2020.

SILVA, R. E. R.; DE ALENCAR SILVA, A.; PEREIRA-DE-MORAIS, L.; DE SOUSA ALMEIDA, N.; IRITI, M.; KERNTOPF, M. R.; BARBOSA, R. Relaxant effect of monoterpene (-)-carveol on isolated human umbilical Cord arteries and the involvement of ion channels. **Molecules**, v. 25, p. 1-11, 2020.

SINGH, S. D. Gestational diabetes and its effect on the umbilical cord. **Early human development**, v. 14, n. 2, p. 89-98, 1986.

SIMONSEN, A. C.; CANESCHI, C. D.; BANHOLI, M. C.; DE ALMEIDA MAROÑAS, P.; DAS CHAGAS, D. R. S.; COUTINHO, S. D. A. M. Síndrome Hipertensiva Gestacional: Manejo Farmacológico. **ACTA MSM-Periódico da EMSM**, v. 7, n. 3, p. 153-160, 2020.

SKINNER, B. M.; JOHNSON, E. E. P. Nuclear morphologies: their diversity and functional relevance. **Chromosoma**, v. 126, p. 195-212, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. SBD. Diretrizes 2019-2020. CLANAD Editora Científica: São Paulo, 383p.; 2019.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological reviews**, v. 83, n. 4, p. 1325-1358, 2003.

SOMLYO, A. P.; WU, X.; WALKER, L. A.; SOMLYO, A. V. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. **Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology, Volume 134**, p. 201-234, 1999.

SOMLYO, A. V.; SOMLYO, A. P. Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 159, n. 1, p. 129-145, 1968.

SONG, Y.; SEO, S.; LAMICHHANE, S.; SEO, J.; HONG, J. T.; CHA, H. J.; YUN, J. Limonene has anti-anxiety activity via adenosine A2A receptor-mediated regulation of dopaminergic and GABAergic neuronal function in the striatum. **Phytomedicine**, v. 83, p. 153474, 2021.

SOLIS-HERRERA, C.; TRIPLITT, C.; REASNER, C.; DEFRONZO, R. A.; CERSOSIMO, E. Of diabetes mellitus. In: **Endotext [Internet]**. MDText.com, Inc., 2018.

SOUZA, R. H. L.; CARDOSO, M. S. P.; MENEZES, C. T.; SILVA, J. P.; DE SOUSA, D. P.; BATISTA, J. S. Gastroprotective activity of α-terpineol in two experimental models of gastric ulcer in rats. **DARU: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 277, 2011.

SPIEGL, G.; ZUPKÓ, I.; MINORICS, R.; CSÍK, G.; CSONKA, D.; FALKAY, G. Effects of experimentally induced diabetes mellitus on pharmacologically and electrically elicited myometrial contractility. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, n. 9, p. 884-891, 2009.

SPURWAY, J.; LOGAN, P.; PAK, S. The development, structure and blood flow within the umbilical cord with particular reference to the venous system. **Australasian journal of ultrasound in medicine**, v. 15, n. 3, p. 97-102, 2012.

STALL, J. T.; BLUMENTHAL, D. K.; DELANEROLLE, P.; HIGH, C. W.; MANNING, D. R. Phosphorylation and regulation of contractile proteins. In: **Ions-Cyclic Nucleotides-Cholinergy**. Pergamon, 1979. p. 171-180.

STEPANYUK, A.; KIRSCHNING, A. Synthetic terpenoids in the world of fragrances: Iso E Super® is the showcase. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 15, n. 1, p. 2590-2602, 2019.

STRANGE, P. G. Agonist binding, agonist affinity and agonist efficacy at G protein-coupled receptors. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 7, p. 1353-1363, 2008.

SUMNER, M. J.; CANNON, T. R.; MUNDIN, J. W.; WHITE, D. G.; WATTS, I. S. Endothelin ETA and ETB receptors mediate vascular smooth muscle contraction. **British journal of pharmacology**, v. 107, n. 3, p. 858, 1992.

SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H. Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants—Natural health products for human health. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1845, 2023.

SUN, Y. H. Vasorelaxant effects of the extracts and some flavonoids from the buds of *Coreopsis tinctoria*. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, p. 1158-1164, 2013.

SVENSSON, J.; STRANDBERG, K.; TUVEMO, T.; HAMBERG, M. Thromboxane A2: Effects of airway and vascular smooth muscle. **Prostaglandins**, v. 14, n. 3, p. 425-436, 1977.

SWANSON, T. H.; GREEN, C. L. Nifedipine: more than a calcium channel blocker. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 17, n. 3, p. 255-260, 1986.

TAHARA, A.; TSUKADA, J.; TOMURA, Y.; WADA, K. I.; KUSAYAMA, T.; ISHII, N.; TANAKA, A. Pharmacologic characterization of the oxytocin receptor in human uterine smooth muscle cells. **British journal of pharmacology**, v. 129, n. 1, p. 131-139, 2000.

TAKATA, S.; HIRATA, Y.; TAKAGI, Y.; FUKASE, M.; FUJITA, T. The cellular mechanism of action by vasoconstrictor hormones in cultured rat vascular smooth muscle cells. **American Journal of Hypertension**, v. 3, n. 8_Pt_2, p. 227S-230S, 1990.

TALAKATTA, G.; SARIKHANI, M.; MUHAMED, J.; DHANYA, K.; SOMASHEKAR, B. S.; MAHESH, P. A.; SUNDARESAN, S.; RAVINDRA, P. V. Diabetes induces fibrotic changes in the lung through the activation of TGF-β signaling pathways. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 11920, 2018.

THIEMERMANN, C. Biosynthesis and interaction of endothelium-derived vasoactive mediators. **Eicosanoids**, v. 4, n. 4, p. 187-202, 1991.

THOMAS, M. R.; BHATIA, J. K.; KUMAR, S.; BORUAH, D. The histology and histomorphometry of umbilical cord cross section in preeclampsia and normal pregnancies: a Comparative Study. **Journal of Histotechnology**, v. 43, n. 3, p. 109-117, 2020.

THUESEN, A. D.; LYNGSØ, K. S.; RASMUSSEN, L.; STUBBE, J.; SKØTT, O.; POULSEN, F. R.; HANSEN, P. B.L. P/Q-type and T-type voltage-gated calcium channels are involved in the contraction of mammary and brain blood vessels from hypertensive patients. **Acta Physiologica**, v. 219, n. 3, p. 642-653, 2017.

TIPCOME, K.; WATANAPA, W. B.; RUAMYOD, K. Hesperetin Relaxes Depolarizing Contraction in Human Umbilical Vein by Inhibiting L-Type Ca^{2+} Channel. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 31, n. 5, p. 412-421, 2025.

TOMIDA, S.; ISHIMA, T.; NAGAI, R.; AIZAWA, K. T-type voltage-gated calcium channels: potential regulators of smooth muscle contractility. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 22, p. 12420, 2024.

TOYO-OKA, T.; NAYLER, W. G. Third generation calcium entry blockers. **Blood pressure**, v. 5, n. 4, p. 206-208, 1996.

TRONCOSO, M. E.; GERMANÓ, M. J.; ARRIETA, V. J.; GARCÍA BUSTOS, M. F.; CIFUENTE, D.; CARGNELUTTI, D. E.; LOZANO, E. S. Antiparasitic Activity of Two Natural Terpenes from *Salvia cuspidata* against *Leishmania amazonensis*. **Journal of Natural Products**, v. 86, n. 4, p. 797-803, 2023.

TSALAMANDRIS, S.; ANTONOPOULOS, A. S.; OIKONOMOU, E.; PAPAMIKROULIS, G. A.; VOGIATZI, G.; PAPAIOANNOU, S.; TOUSOULIS, D. The role of inflammation in diabetes: current concepts and future perspectives. **European cardiology review**, v. 14, n. 1, p. 50, 2019.

TSIEN, R.W.; HESS, P.; McCLESKEY, E.W.; ROSENBERG, R.L. Calcium channels: mechanisms of selectivity, permeation, and block. Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.; v 16, p. 265-290, 1987.

TUFIÑO, C.; VILLANUEVA-LÓPEZ, C.; IBARRA-BARAJAS, M.; BRACHO-VALDÉS, I.; BOBADILLA-LUGO, R. A. Experimental gestational diabetes mellitus induces blunted vasoconstriction and functional changes in the rat aorta. **BioMed Research International**, v. 2014, n. 1, p. 329634, 2014.

VAN WIJK, M. J.; BOER, K.; VAN DER MEULEN, E. T.; BLEKER, O. P.; SPAAN, J. A.; VANBAVEL, E. Resistance artery smooth muscle function in pregnancy and preeclampsia. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 186, n. 1, p. 148-154, 2002.

VERGARA, C.; LATORRE, R.; MARRION, N. V.; ADELMAN, J. P. Calcium-activated potassium channels. **Current opinion in neurobiology**, v. 8, n. 3, p. 321-329, 1998.

VERPOORTE, R. Secondary metabolism. In: **Metabolic engineering of plant secondary metabolism**. Springer, Dordrecht, 2000. p. 1-29.

VIAU, M.; LAFOND, J.; VAILLANCOURT, C. Expression of placental serotonin transporter and 5-HT 2A receptor in normal and gestational diabetes *mellitus* pregnancies. **Reproductive biomedicine online**, v. 19, n. 2, p. 207-215, 2009.

VICECONTI, M.; EMILI, L.; AFSHARI, P.; COURCELLES, E.; CURRELI, C.; FAMAEY, N.; PAPPALARDO, F. Possible contexts of use for in silico trials methodologies: a consensus-based review. **IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics**, v. 25, n. 10, p. 3977-3982, 2021.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VOORMOLEN, D. N.; DE WIT, L.; VAN RIJN, B. B.; DEVRIES, J. H.; HERINGA, M. P.; FRANX, A.; LAMAIN-DE RUITER, M. Neonatal hypoglycemia following diet-controlled and insulin-treated gestational diabetes *mellitus*. **Diabetes Care**, v. 41, n. 7, p. 1385-1390, 2018.

VURAL, M.; CAMUZCUOGLU, H.; TOY, H.; CECE, H.; AYDIN, H.; EREN, M. A.; AKSOY, N. Evaluation of the future atherosclerotic heart disease with oxidative stress and carotid artery intima media thickness in gestational diabetes mellitus. **Endocrine Research**, v. 37, n. 3, p. 145-153, 2012.

WANG, C.; ZHANG, J.; CHEN, H.; FAN, Y.; SHI, Z. Antifungal activity of eugenol against Botrytis cinerea. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 137-143, 2010.

WANG, R.; WU, Y.; TANG, G.; WU, L.; HANNA, S. T. Altered L-type Ca2+ channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 278, n. 3, p. H714-H722, 2000.

WANG, Y.; LIU, T.; XIE, J.; CHENG, M.; SUN, L.; ZHANG, S.; ZHANG, N. A review on application of molecular simulation technology in food molecules interaction. **Current Research in Food Science**, 2022.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**, v. 27, n. 4, p. 201-206, 2003.

WEISSMAN, A; JAKOBI, P. Sonographic measurements of the umbilical cord in pregnancies complicated by gestational diabetes. **Journal of ultrasound in medicine**, v. 16, n. 10, p. 691-694, 1997.

WONG, S. L.; WONG, W. T.; TIAN, X. Y.; LAU, C. W.; HUANG, Y. Prostaglandins in action: indispensable roles of cyclooxygenase-1 and-2 in endothelium-dependent contractions. **Advances in Pharmacology**, v. 60, p. 61-83, 2010.

WONG, V. W.; JALALUDIN, B. Gestational diabetes *mellitus*: who requires insulin therapy?. **Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 51, n. 5, p. 432-436, 2011.

WRAY, S.; BURDYGA, T. Sarcoplasmic reticulum function in smooth muscle. **Physiological reviews**, v. 90, n. 1, p. 113-178, 2010.

WU, Y.; XIAO, Y.; YUE, Y.; ZHONG, K.; ZHAO, Y.; GAO, H. A deep insight into mechanism for inclusion of 2R, 3R-dihydromyricetin with cyclodextrins and the effect of complexation on antioxidant and lipid-lowering activities. **Food Hydrocolloids**, v. 103, p. 105718, 2020.

XIE, K.; ZHANG, Y.; WEN, J.; CHEN, T.; KONG, J.; ZHANG, J.; WU, J. Genetic predisposition to gestational glucose metabolism and gestational diabetes *mellitus* risk in a Chinese population. **Journal of diabetes**, v. 11, n. 11, p. 869-877, 2019.

XU, J.; HU, Z. Q.; WANG, C.; YIN, Z. Q.; WEI, Q.; ZHOU, L. J.; YIN, L. Z. Acute and subacute toxicity study of 1, 8-cineole in mice. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 7, n. 4, p. 1495, 2014.

XU, Y. X. Z.; XI, S.; QIAN, X. Evaluating traditional Chinese medicine and herbal products for the treatment of gestational diabetes mellitus. **Journal of diabetes research**, v. 2019, n. 1, p. 9182595, 2019.

XU, Z. (±)-Praeruptorin A enantiomers exert distinct relaxant effects on isolated rat aorta rings dependent on endothelium and nitric oxide synthesis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 186, p. 239-246, 2010.

YAMPOLSKY, M.; SALAFIA, C. M.; SHLAKHTER, O.; HAAS, D.; EUCKER, B.; THORP, J. Modeling the variability of shapes of a human placenta. **Placenta**, v. 29, n. 9, p. 790-797, 2008.

YARIBEYGI, H.; ATKIN, S. L.; SAHEBKAR, A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 2, p. 1300-1312, 2019.

YIMAM, B. B.; DESALEW, A. Phytochemical Screening, Antibacterial Effect, and Essential Oil Extract from the Leaf of Artemisia afra against on Selected Pathogens. **Advances in Microbiology**, v. 12, n. 7, p. 386-397, 2022.

YIN, C.; LIU, B.; WANG, P.; LI, X.; LI, Y.; ZHENG, X.; LIU, B. Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis. **British Journal of Pharmacology**, v. 177, n. 9, p. 2042-2057, 2020.

YU, W.; MACKERELL, A. D., JR. Computer-Aided Drug Design Methods. **Methods Molecular Biology**, v. 1520, n., p. 85-106, 2017.

YUUI, K.; KUDO, R.; KASUDA, S. Arterial thromboxane A2-induced transient contraction after IL-1β exposure. **European Journal of Inflammation**, v. 20, p. 1721727X221077946, 2022.

ZAMPONI, G. W.; STRIESSNIG, J.; KOSCHAK, A.; DOLPHIN, A. C. The physiology, pathology, and pharmacology of voltage-gated calcium channels and their future therapeutic potential. **Pharmacological reviews**, v. 67, n. 4, p. 821-870, 2015.

ZAVALA-MENDOZA, D.; GRASA, L.; ZAVALA-SÁNCHEZ, M. Á.; PÉREZ-GUTIÉRREZ, S.; MURILLO, M. D. Antispasmodic effects and action mechanism of essential oil of *Chrysactinia mexicana* A. Gray on rabbit ileum. **Molecules**, v. 21, n. 6, p. 783, 2016.

ZELIS, R. Mechanisms of vasodilation. **The American journal of medicine**, v. 74, n. 6, p. 3-12, 1983.

ZHANG, Z.; ZHANG, Y.; HUANG, S.; LI, M.; LI, L.; QI, L.; HE, Y.; XU, Z.; TANG, J. Influence of gestational diabetes mellitus on the cardiovascular system and its underlying mechanisms. **Frontiers in Endocrinology**, v. 16, p. 1474643, 2025.

ZHANG, Q.; WU, S.; SUN, G.; ZHANG, R.; LI, X.; ZHANG, Y.; YUAN, D. Hyperglycemia aggravates monocyte-endothelial adhesion in human umbilical vein endothelial cells from women with gestational diabetes mellitus by inducing Cx43 overexpression. **Annals of Translational Medicine**, v. 9, n. 3, p. 234, 2021.

ZERAATPISHEH, Z.; VATANPARAST, J. Eucalyptol induces hyperexcitability and epileptiform activity in snail neurons by inhibiting potassium channels. **European Journal of Pharmacology**, v. 764, p. 70-78, 2015.

ZHAO, J.; LIAO, D.; GREGERSEN, H. Phasic and tonic Stress-Strain data obtained in intact intestinal segment in vitro. **Digestive diseases and sciences**, v. 53, p. 3145-3151, 2008.

ZHOU, L.; MCDONALD, C.; YAWNO, T.; JENKIN, G.; MILLER, S.; MALHOTRA, A. Umbilical cord blood and cord tissue-derived cell therapies for neonatal morbidities: current status and future challenges. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 11, n. 2, p. 135-145, 2022.

ZHOU, Z.; JANUARY, C. T. Both T-and L-type Ca^{2+} channels can contribute to excitation-contraction coupling in cardiac Purkinje cells. **Biophysical journal**, v. 74, n. 4, p. 1830-1839, 1998.

ZHU, J.; ALEGRE-REQUENA, J. V.; CHERRY, P.; CURTIS, D.; HARVEY, B. G.; JABED, M. A.; KIM, S.; MCENALLY, C. S.; PFEFFERLE, L. D.; W.; WOODROFFE, J. D. Sooting tendencies of terpenes and hydrogenated terpenes as sustainable transportation biofuels. **Proceedings of the Combustion Institute**, v. 39, n. 1, p. 877-887, 2023.

ZÖLLKAU, J.; SWIDERSKI, L.; SCHMIDT, A.; WESCHENFELDER, F.; GROTEN, T.; HOYER, D.; SCHNEIDER, U. The relationship between gestational diabetes metabolic control and fetal autonomic regulation, movement and birth weight. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 15, p. 3378, 2021.

ANEXO 1 - Parecer consubstanciando com aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional do Cariri.

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ATIVIDADE VASORRELAXANTE, ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VEGETAIS EM VASOS UMBILICAIS HUMANOS ACOMETIDOS POR DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

Pesquisador: Rosell Barbosa

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 70529723.3.0000.5055

Instituição Proponente: Universidade Regional do Cariri - URCA

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO CEARENSE DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.653.278

Apresentação do Projeto:

O cordão umbilical humano exerce grande importância para a manutenção da vida fetal, desse modo, o desequilíbrio do seu funcionamento está implicado em uma série de distúrbios, entre os quais o Diabetes Mellitus Gestacional (DMG). O DMG pode surtir vários malefícios, principalmente nas funções vasculares, nos quais poucos medicamentos atuam para diminuir/prevenir suas consequências. Com isso, a busca por biomoléculas terapêuticas mais eficazes nessas condições se torna necessária. Assim, objetiva-se caracterizar o efeito vasodilatador associado às propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes de metabólitos secundários vegetais em artérias e veias umbilicais humanas de mulheres com e sem DMG. Mediante aprovação ética, segmentos de cordões umbilicais humanos serão coletados. Em laboratório, serão dissecados para obtenção dos vasos umbilicais, que em seguida, serão seccionados e suspensos em equipamento banho de órgãos para registro de suas tensões isométricas na presença e ausência de metabólitos secundários vegetais, permitindo inferir sua propriedade vasorrelaxante e possíveis vias mecanísticas. As atividades anti-inflamatórias e antioxidantes serão mensuradas por métodos colorimétricos e imunoenzimáticos a partir de homogenatos das preparações vasculares. Espera-se a obtenção de dados que revelem o potencial vasorrelaxante, antioxidante e anti-inflamatório de metabólitos secundários vegetais que contribuam para a identificação de candidatos

Endereço: Rua Cel. Antônio Luiz, nº 1161
Bairro: Pimenta **CEP:** 63.105-000
UF: CE **Município:** CRATO
Telefone: (88)3102-1212 **Fax:** (88)3102-1291 **E-mail:** cep@urca.br

ANEXO 2 - Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

Eu, _____, portador do RG _____, acadêmico do curso de _____ da Universidade Regional do Cariri (Campus Pimenta, Crato, Ceará), sob orientação do Prof.(a). _____ e coorientação do Prof.(a). _____, estou realizando uma pesquisa intitulada: **Influência de metabólitos secundários vegetais na fisiologia da vasculatura umbilical humana acometida por diabetes *mellitus* gestacional: atividade vasorrelaxante, antioxidante e anti-inflamatória de metabólitos secundários vegetais em vasos umbilicais humanos acometidos por diabetes *mellitus* gestacional**, que tem como objetivo geral *investigar a vasoatividade de metabólitos secundários de ocorrência vegetal em vasos umbilicais humanos saudáveis e acometidos com diabetes mellitus gestacional*.

Essa pesquisa tem como modelo experimental o **cordão umbilical humano** e necessita da doação desse material biológico para ser realizada. Por essa razão, a Sra. está sendo convidada a participar voluntariamente dessa pesquisa (1ª etapa) podendo, caso se sinta desconfortável, desistir a qualquer momento, sem sofrer nenhum dano. Em caso de aceite, vosso prontuário será consultado para registro de dados clínicos e outras informações necessárias (2ª etapa) com garantia de anonimato, e um fragmento do cordão umbilical da porção destinada ao descarte será coletado (3ª etapa), logo após o parto, não trazendo nenhum prejuízo à mãe e ao filho(a).

A realização desta pesquisa é de grande relevância, pois favorecerá a descoberta de produtos naturais com potencial para tratar/prevenir as complicações vasculares decorrentes da diabetes *mellitus* gestacional. Qualquer dúvida em relação à pesquisa poderá ser esclarecida pelos pesquisadores através dos seguintes contatos: (88) 99619-8716, (88) 98865-0857 ou (88) 99802-9135, e para mais informações contate o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Regional do Cariri (endereço: rua Cel. Antônio Luiz, 1161, CEP 63105-000, Pimenta - Crato/CE, (88) 3102.1212, cep@urca.br)

Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma cópia deste Termo.

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Nome do (s) responsável (eis): _____
Data de nascimento: ____/____/_____
RG ou CPF: _____

Foi esclarecido que:

• o fragmento de cordão umbilical - FCU - deverá ser coletado somente após a secção do cordão umbilical, não trazendo, portanto nenhum prejuízo à mãe e ao (à) filho (a);

• o FCU deverá ser utilizado para realização de experimentos com vasos umbilicais humanos (veias e artérias). O critério de utilização deverá ser de acordo com as normas do comitê de ética humano;

• todas as informações referentes à mãe, ao (à) filho (a) e ao FCU coletado, deverão ser tratadas de forma sigilosa, garantindo o anonimato;

• o prontuário hospitalar da mãe ou do (a) filho (a) poderá ser consultado pelos pesquisadores a qualquer momento, para obtenção de dados sociodemográficos, clínicos, obstétricos e bioquímicos necessários;

• o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis - LFCE - fica autorizado a descartar o restante do FCU caso não seja utilizado para fins de experimentos fisiofarmacológicos;

• fica autorizada a utilização da unidade do FCU em outros projetos de pesquisa aprovados pelo comitê de ética humano, projetos esses vinculados com a Universidade Regional do Cariri - URCA;

• não receberemos nenhuma remuneração, compensação material ou financeira, ou privilégio pela doação da unidade do FCU;

• a doação é livre e voluntária sendo facultada a desistência no momento da coleta, sem que isto cause prejuízo ao atendimento da mãe e do recém-nascido;
• este consentimento prévio não obriga o hospital, a maternidade, ou a URCA a colher o FCU do (a) nosso (minha) filho (a), se houver impedimentos técnicos para a coleta;
• lemos, compreendemos e estamos satisfeitos com todas as informações recebidas. Pudemos formular todas as perguntas convenientes e todas as dúvidas foram esclarecidas.
• Em consequência, damos o nosso consentimento para coleta do FCU do (a) nosso (a) filho (a) e aceitamos as condições acima descritas.

_____
Assinatura do (s) responsável (eis) legal (ais)

_____
Assinatura e carimbo do médico responsável pela coleta

_____
Assinatura e carimbo do pesquisador responsável pela pesquisa/coleta

Nº do TCLE: _____/_____
Local:_____ Data:_____

ANEXO 3 - Termo de Anuência da Instituição Coparticipante

SÃOCAMILO
Hospital e Maternidade
São Francisco de Assis

ANUÊNCIA DE INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTE

Eu, Dr. **Marcelo Vasconcelos** (CPF nº 212 907 458 42, RG nº 2005029126102, CNS nº _____, telefone: (88) 98365 5111, e-mail: _____), DIRETOR ADMINISTRATIVO na Sociedade Beneficente São Camilo – Hospital e Maternidade São Francisco de Assis, responsável pela Sociedade Beneficente São Camilo – Hospital e Maternidade São Francisco de Assis (CNPJ nº 60.975.737/0054-63, telefone: (88) 3312-4000, e-mail: ouvidoria@saocamilocrato.org.br), situada na Rua Coronel Antônio Luiz, nº 1028 (CEP: 63105.000), bairro Pimenta, Crato (Ceará – Brasil), declaro, para os devidos fins, ter ciência dos objetivos e metodologia do projeto intitulado "**Influência de metabólitos secundários vegetais na fisiologia da vasculatura umbilical humana acometida por diabetes *mellitus* gestacional: Atividade vasorrelaxante, antioxidante e anti-inflamatória de metabólitos secundários vegetais em vasos umbilicais humanos acometidos por diabetes *mellitus* gestacional**", que será desenvolvido sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. **Roseli Barbosa** (CPF nº 20645371807, RG nº 2008434127-5, Matrícula/URCA: 431287x, telefone: (88) 9619-8716, e-mail: roselibarbo@gmail.com, endereço: Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis – Universidade Regional do Cariri CNPJ 06.740.864/0001-26, Rua Coronel Antônio Luiz, 1161, CEP 63105-000, bairro Pimenta, Crato, Ceará, Brasil).

Na condição de instituição coparticipante desse projeto, autorizo a realização da coleta de material biológico (cordão umbilical humano com sangue), e de dados pessoais (data de nascimento e tipo sanguíneo) e variáveis sociodemográficas, clínicas, antropométricas e bioquímicas do binômio doador (mãe/bebê), a partir do prontuário e eventuais breves perguntas (em casos excepcionais da informação não constar no prontuário), mediante formulário de coleta de dados, pela equipe composta além da pesquisadora responsável, por doutores colaboradores (Dr. **Luis Pereira de Morais** – Pós-doutorando/ URCA, Dra. **Andressa de Alencar Silva** – Docente/URCA e Dra. **Renata Evaristo Rodrigues Silva** – Docente/URCA), pós-graduandos (Me. **Paulo Ricardo Batista** – Doutorando/PPQB-URCA, Ma. **Sara Tavares de Sousa Machado** – Doutoranda/PPQB-URCA, Ma. **Carla Mikevely de Sena Bastos** – Doutoranda/PPGCF-UECE, Bela. **Francisca Daliane Severino da Silva** – Mestranda/PPQB-URCA, e Bel. **Francisco Junio Dias** – Mestrando/PMBqBM-UFCA) e graduandos (**Gabriela Lucena Calixto** – DENF/URCA, **Laiza Maria Ulisses Magalhães** – DCBio/URCA, **Luiz Ramon dos Santos Pereira** – DCBio/URCA, **Maria Raquel da Silva Duarte** – DCBio/URCA, **Antonio César Vieira da Silva** – DCBio/URCA, e **Maria Jérica da Silva Sousa** – DCBio/URCA), mediante acordo prévio entre os pesquisadores e o DIRETOR ADMINISTRATIVO da Sociedade Beneficente São Camilo – Hospital e Maternidade São Francisco de Assis (local onde a coleta será realizada), quanto à escolha dos dias e horários adequados para realização da coleta dos dados conforme disposto no projeto.

Esta autorização está condicionada à aprovação da referida pesquisa por um Comitê de Ética em Pesquisa antes do início da coleta de dados. O descumprimento desse condicionamento assegura-nos o direito de retirar esta anuência a qualquer momento da pesquisa.

Crato (Ceará – Brasil), 25 de 04 de 2024.

Marcelo Vasconcelos
Diretor Administrativo

Assinatura legível do responsável pela Instituição e carimbo

Sociedade Beneficente São Camilo
Hospital e Maternidade São Francisco

ANEXO 4- Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação abaixo identificada, autorizo à Universidade Regional do Cariri – URCA, a disponibilizar por tempo indeterminado ao alcance do público a obra abaixo citada, através do site http://bdtd.ibict.br/bdtd/, bem como da rede mundial de computadores – Internet, sem pagamento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, conforme permissões assinaladas, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data, atendendo à Portaria Nº 13 de 15/02/2006 da CAPES.

Identificação do Material Bibliográfico:	( ) Dissertação	(X) Tese
Autor: Sara Tavares de Sousa Machado		
CPF:064.529.543-42	RG: 2007895126-1	
Nacionalidade: Brasileira	Estado Civil: Solteira	
Endereço Completo: Rua Vereador José Bezerra Sobrinho, 171		
CEP: 63046333	Cidade: Juazeiro do Norte	Estado: CE
Fone/Celular:	E-mail: sara.tavares@urca.br	
Título: EUCALIPTOL (1,8-CINEOL) PROMOVE VASORRELAXAMENTO EM ARTÉRIAS E VEIAS UMBILICAIS HUMANAS DE PARTURIENTES NORMOGLICÊMICAS E COM DIABETES *MELLITUS* GESTACIONAL ATRAVÉS DO ENVOLVIMENTO DOS CANAIS IÔNICOS EM ESTUDO *ex vivo* E *in silico*		
Orientador: Roseli Barbosa		
Coorientador: Luís Pereira de Morais		
Membros da Banca: Profa. Dra. Roseli Barbosa- Orientadora/Presidente (Universidade Regional do Cariri-URCA) Prof. Dr. Luís Pereira de Morais- Coorientador (Universidade Regional do Cariri-URCA) Profa. Dra. Janaína Esmeraldo Rocha (Membro titular interno) Profa. Dra. Maria Flaviana Bezerra Morais Braga (Membro suplente interno) Profa. Dra. Renata Evaristo Rodrigues Duarte (Membro titular externo ao programa de pós-graduação) Profa. Dra. Yedda Maria Lobo Soares de Matos (Membro titular externo ao programa de pós-graduação) Profa. Dra. Emmily Petícia do Nascimento Sales (Membro suplente externo ao programa de pós-graduação)		
Data da Defesa: 16/09/2026	Curso: Pós-graduação em química biológica	
Área do Conhecimento: Bioatividades		
Palavras-Chave: Canais de Cálcio tipo L; Diabetes *mellitus* gestacional; Vasorrelaxamento; Eucaliptol.		
3. Agência de Fomento:		
Informações de Acesso ao Documento: para publicação	(X) Acesso Total	( ) Acesso Parcial
Em caso de publicação parcial, especifique o(s) arquivo(s) e/ou capítulo(s) restrito(s):		

Crato, 30 de setembro de 2026

Havendo concordância com a publicação eletrônica enviamos o(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação gerada a partir da versão final corrigida e aprovada pelo Orientador. A restrição (parcial ou total) poderá ser mantida por até dois anos a partir da data de autorização da publicação sob responsabilidade do Programa. A extensão deste prazo demandará justificativa formal apresentada será comunicada à CAPES

Assinatura do Autor: Assinatura do Orientador: