



Atividade antiagregante plaquetária e anticoagulante do galato de etila in vivo em ratos tratados

Antiplatelet and anticoagulant activity of ethyl gallate in vivo in treated rats

Actividad antiplaquetaria y anticoagulante del galato de etilo in vivo en ratones tratados

Ricardo Cartaxo Ramalho^{1,3}, Robson Cavalcante Veras^{1,2}, Júlio César Pinheiro Lúcio de Oliveira², Gabriel Felipe Siqueira Fernandes⁴, Tays Amanda Felisberto Gonçalves², Daniele Idalino Janebro³, Isac Almeida de Medeiros^{2,3}, Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz^{1,2,3}.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade anticoagulante e antiagregante plaquetária do galato de etila em ratos. **Métodos:** Trata-se de um estudo experimental, conduzido em ratos Wistar divididos em cinco grupos: grupo controle, grupo galato de etila 5 mg.kg⁻¹, grupo galato de etila 50 mg.kg⁻¹, grupo enoxaparina 5 mg.kg⁻¹, grupo galato de etila 5 mg.kg⁻¹ + enoxaparina 5 mg.kg⁻¹; foram avaliadas as atividades antiagregantes plaquetária e anticoagulante, frente estímulo por ADP e triagem de coagulação, respectivamente. Todos os protocolos foram aprovados pela Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba. **Resultados:** Redução na agregação plaquetária dos grupos tratados com galato de etila e não houve alteração no perfil de coagulação, quando comparados ao grupo controle, indicando uma possível atividade antiagregante plaquetária sem prejuízo na coagulação; observou-se ainda uma potencialização na atividade da enoxaparina pela via intrínseca da coagulação, revelando um potencial do composto em associação com o fármaco já estabelecido na terapêutica. **Conclusão:** O galato de etila mostrou relevante potencial antiagregante e não afetou na via da coagulação, revelando-se como um agente antiagregante plaquetário promissor e de possível aplicação terapêutica.

Palavras-chave: Hemostasia, Trombose, Emulsão, Terapêutica.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the anticoagulant and antiplatelet activity of ethyl gallate in rats. **Methods:** This was an experimental study conducted on Wistar rats divided into five groups: control group, group ethyl gallate 5 mg.kg⁻¹, group ethyl gallate 50 mg.kg⁻¹, group enoxaparin 5 mg.kg⁻¹, group ethyl gallate 5 mg.kg⁻¹ + enoxaparin 5 mg.kg⁻¹; antiplatelet and anticoagulant activities were evaluated against ADP stimulation and coagulation tests, respectively. All protocols were approved by Comissão de Ética de Uso de Animais of Universidade Federal da Paraíba. **Results:** Reduction in platelet aggregation in the groups treated with ethyl gallate and no change in the coagulation profile, compared to control group, indicating a possible antiplatelet activity without impairing coagulation; an enhancement in the activity of enoxaparin via the intrinsic coagulation pathway was also observed, revealing a potential of the compound in association with the drug already established in

¹ Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB.

therapy. **Conclusion:** Ethyl gallate showed relevant antiplatelet potential and did not affect the coagulation pathway, revealing itself as a promising antiplatelet agent with possible therapeutic application.

Keywords: Hemostasis, Thrombosis, Emulsion, Therapeutics.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad anticoagulante y antiplaquetaria del galato de etilo en ratones. **Métodos:** Se trató de un estudio experimental realizado en ratones Wistar divididos en cinco grupos: grupo control, grupo galato de etilo 5 mg.kg⁻¹, grupo galato de etilo 50 mg.kg⁻¹, grupo enoxaparina 5 mg.kg⁻¹, grupo galato de etilo 5 mg.kg⁻¹ + enoxaparina 5 mg.kg⁻¹; se evaluaron las actividades antiagregante plaquetaria y anticoagulante frente a la estimulación con ADP y el ensayos de la coagulación, respectivamente. Todos los protocolos fueron aprobados por la Comissão de Ética de Uso de Animais de la Universidade Federal da Paraíba. **Resultados:** Reducción de la agregación plaquetaria en los grupos tratados con galato de etilo y ningún cambio en el perfil de coagulación en comparación con el grupo control, lo que indica una posible actividad antiagregante plaquetaria sin perjudicar la coagulación; también se observó una potenciación de la actividad de la enoxaparina a través de la vía intrínseca de la coagulación, lo que revela el potencial del compuesto en asociación con el fármaco. **Conclusión:** El galato de etilo mostró un potencial antiagregante relevante y no afectó la coagulación, revelándose como un prometedor agente antiagregante plaquetario con posible aplicación terapéutica.

Palabras clave: Hemostasia, Trombosis, Emulsión, Terapéutica.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um grupo de condições que afetam os vasos sanguíneos e o coração. A doença arterial coronariana (DAC), o acidente vascular cerebral (AVC), a doença arterial periférica e a cardiopatia congênita são apenas algumas das afecções que compõem esse grupo (OMS, 2022). As DCVs representam a principal causa de morte global, e o Brasil não foge à regra. Dados do DATASUS de 2022 indicam que cerca de 27% dos óbitos totais, mais de 400 mil pessoas, foram causados por problemas do aparelho circulatório no ano em questão.

A gravidade do problema se acentua pela presença de fatores de risco como diabetes, hipertensão, obesidade, tabagismo e colesterol elevado, que aumentam significativamente as chances de desenvolver distúrbios na hemostasia, predispondo o indivíduo a eventos tromboembólicos e, dessa forma, ampliando a probabilidade do acometimento por doenças cardiovasculares (GOTTSÄTER A, 2017; TURETZ M, et al., 2018; VICENTE O, 2018; LEE SH e KIM WH, 2019; NAVI BB, et al., 2021).

O sangue desempenha um papel crucial no organismo, transportando substâncias essenciais e removendo resíduos do metabolismo. Para garantir essa função vital de fluxo do sangue, o corpo possui um mecanismo de controle fino e seguro chamado hemostasia. A hemostasia é responsável por manter o sangue fluindo livremente nos vasos sanguíneos, ao mesmo tempo em que impede a perda excessiva de sangue em caso de lesões ao leito vascular (GOLAN DE, 2014). Quando um vaso sanguíneo é lesado, de forma imediata ocorre uma vasoconstrição reflexa, seguida da formação de um tampão plaquetário primário com posterior estabilização desse tampão por meio de uma rede de fibrina recobrimo-o e produzindo então um trombo localizado e estável (HILAL-DANDAN R e BRUNTON L, 2015).

Após esse processo, com a lesão vascular solucionada, esse tampão precisa ser degradado para a restauração do fluxo, o mecanismo de fibrinólise evita a permanência do trombo e impede um quadro de trombose (CHO SY e HUR M, 2019). Em um vaso intacto, há um balanço necessário e positivo em que os fatores anticoagulantes são superiores aos pró-coagulantes, em especial devido a sua camada endotelial, quando esse vaso é lesado, passa a ter características temporariamente favoráveis à coagulação sanguínea.

Se há um desbalanço entre as duas forças, o desfecho final pode ser a trombose. A trombose, estado patológico onde há distúrbio dessa balança, é uma complicação frequente e grave das doenças cardiovasculares, ela pode ser caracterizada como um trombo que, à medida que preenche o espaço da luz do vaso

sanguíneo, grande ou médio calibre, veia ou artéria, interrompe gradativamente o fluxo de sangue, diminuindo dessa forma a irrigação dos tecidos, podendo levar ao aumento de morbidade e mortalidade por eventos como, por exemplo, infarto agudo do miocárdio e embolia pulmonar (SCHÜNEMANN HJ, et al. 2018).

A trombose é dividida de acordo com o local do acometimento, podendo ser uma trombose venosa (TV) e uma trombose arterial (TA). Há diferenças na etiologia de ambas, o tromboembolismo venoso ocorre quando o endotélio, apesar de sua integridade, assume caráter pró-coagulante, devido a maior expressão de moléculas de adesão e menor produção de autacóides antitrombóticos e antiagregantes, como é o caso do óxido nítrico e da prostaciclina (CHIU JJ e CHIEN S, 2011; VON BRUHL M, et al., 2012); já a trombose arterial sendo causada pelo rompimento de placas ateroscleróticas e consequente exposição da lâmina basal, rica em fatores pró-coagulantes e mediadores da ativação plaquetária como o colágeno e o fator de von Willebrand (FvW) (HILAL-DANDAN R e BRUNTON L, 2015)

Ademais, as plaquetas são essenciais para a hemostasia. Ao aderirem ao endotélio lesado, passam pelo processo de degranulação, liberam grânulos que iniciam a formação do tampão hemostático, dentre eles o ácido araquidônico (AA), serotonina (5-HT), difosfato de adenosina (ADP), entre outros. Boa parte das doenças cardiovasculares aumenta a taxa de cisalhamento sanguíneo, gerando prejuízos ao endotélio e expondo o colágeno subendotelial (CHIU JJ e CHIEN S, 2011). Plaquetas e o fator de von Willebrand aderem ao colágeno, iniciando a formação do tampão primário.

Ao longo dos anos, foi observado que lesões vasculares desencadeavam a coagulação sanguínea. Desde então, diversos estudos elucidam os mecanismos de coagulação, que envolve uma série de reações em cadeia, iniciadas pela exposição do fator tecidual, o qual, em conjunto com o fator VII, ativa outros fatores de coagulação, culminando na conversão de fibrinogênio em fibrina, que forma a rede de fibrina do coágulo (HILAL-DANDAN R e BRUNTON L, 2015).

Há hoje na terapêutica, medicamentos como o ácido acetilsalicílico (AAS), um antiagregante de uso oral que atua inibindo a enzima ciclooxigenase-1; e a heparina, anticoagulante indireto sendo cofator da antitrombina, ambos atuando em diferentes alvos do processo hemostático (HILAL-DANDAN R e BRUNTON L, 2015). O uso do AAS está associado com inúmeras reações adversas, a heparina por sua vez tem baixo índice terapêutico e é restrita ao ambiente hospitalar, além de possuir um custo elevado de mercado tornando-a inacessível a populações mais carentes, reafirmando a necessidade de um maior empenho na procura por uma alternativa às terapias anticoagulantes e antiagregantes que sejam mais seguras, rentáveis e acessíveis.

Nos últimos anos, essa busca tem se voltado aos produtos naturais. Seu fácil acesso e ótimo custo-benefício tornam evidente o potencial de pesquisa e necessidade de investigação de suas qualidades como alternativa terapêutica. À luz das evidências apresentadas, a literatura científica indica a versatilidade do ácido gálico como precursor na síntese de compostos com potencial bioativo e farmacológico (BADHANI B, et al., 2015; MOHAN S, et al., 2017).

O ácido gálico é destacado na literatura como um potente inibidor da agregação plaquetária, atuando na supressão das vias de sinalização PKCa/p38/MAPK e Akt/GSK β em resposta ao ADP (CHANG SS, et al., 2012). Foi sugerido por estudos preliminares do nosso grupo de pesquisa que dois desses derivados, o galato de etila e o galato de octila, são promissores e que a modificação química do ácido gálico preserva sua bioafinidade e modula sua potência. O galato de etila, um composto fenólico presente em plantas como *Phyllanthus urinaria*, *Pistacia integerrima*, *Alchornea trewioides* e *Hamamelis virginiana*, tem apresentado propriedades notáveis em pesquisas ao longo do tempo.

É demonstrado na literatura a capacidade desse composto de inibir a hiperalgesia induzida por injeção de bradicinina e substância P em ratos (MIGUEL OG, et al., 1996; COELHO IS, 2014, SANTOS AR, et al., 1999); além de suprimir a expressão de moléculas de adesão celular (E-selectina, VCAM-1, ICAM-1) induzidas por IL-1 α e TNF- α em células endoteliais de cordão umbilical humano; nesse mesmo estudo ainda foi evidenciada uma diminuição da expressão de moléculas de adesão e, conseqüentemente, redução da adesão leucocitária, sugerindo um potencial papel na modulação da resposta inflamatória (SANTOS AR, et al., 2000; MURASE T, et al., 1999).

Considerando o potencial do galato de etila descrito na literatura e os promissores resultados encontrados pelo nosso grupo de pesquisa, objetivou-se avaliar a sua atuação *in vivo* na hemostasia, avaliando a atividade antiagregante plaquetária e anticoagulante desse derivado do ácido gálico em ratos, frente a ativação plaquetária induzida por ADP em plaquetas lavadas; e testes de triagem de coagulação, tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada, através de uma emulsão compatível para diversas vias de administração.

MÉTODOS

O galato de etila (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) foi disperso em uma emulsão do tipo óleo/água, na concentração de 3% (equivalente a 151 mMol.L⁻¹). A formulação foi preparada utilizando-se de agentes solubilizantes (MCT e Cremophor), foi homogeneizada e armazenada sob refrigeração, sendo utilizada em até 7 dias. Os protocolos experimentais foram feitos com a utilização de ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com peso em torno de 300 a 350 g. Foram mantidos sob condições controladas de temperatura e umidade (22 ± 1°C), ciclo claro-escuro de 12 horas e em gaiolas plásticas de polipropileno com livre acesso à água e ração *ad libitum* (Nuvillab, Nuvital Nutrientes S/A, Colombo, Paraná, Brasil).

Para realização dos experimentos, os animais foram tratados e manipulados em consonância com a lei 11.794/2008, sob a resolução nº879/2008, submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (CEUA nº 9106020519). Os grupos de animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos diferentes: grupo controle (CTL), grupo galato de etila 5 mg.kg⁻¹ (GAETIL 5 mg.kg⁻¹), grupo galato de etila 50 mg.kg⁻¹ (GAETIL 50 mg.kg⁻¹), grupo enoxaparina 5 mg.kg⁻¹ (ENOX 5 mg.kg⁻¹) – anticoagulante injetável de potente atividade –, grupo enoxaparina 5 mg.kg⁻¹ + galato de etila 5 mg.kg⁻¹ (ENOX 5 mg.kg⁻¹ + GAETIL 5 mg.kg⁻¹). Os animais foram inicialmente anestesiados via intraperitoneal com cetamina (75 mg.kg⁻¹) e xilazina (10 mg.kg⁻¹).

As substâncias foram administradas por via intravenosa na veia caudal e após 1h da administração foram realizados os protocolos experimentais. Ao final dos experimentos, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésico, também por via intraperitoneal (GROENEVELD D, 2019). Decorrida 1 hora da administração das substâncias, os animais foram colocados em decúbito dorsal para serem abertos na região abdominal, foi localizada e isolada a veia cava inferior. Em seguida, o sangue foi coletado do leito vascular e foi aliquoteado em tubos de coleta contendo citrato de sódio 3,8%. Para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) o sangue foi centrifugado a 150 g (rcf) em temperatura ambiente por 10 minutos. Outrossim, o plasma pobre em plaquetas (PPP) foi obtido a partir da centrifugação do sangue a 1500 g em temperatura ambiente por 15 minutos (DE SILVA E, et al., 2022).

A avaliação da agregação plaquetária das amostras foi feito com a utilização do equipamento agregômetro (Agrego, São Paulo, Brasil). Para tal, o sangue coletado, como descrito anteriormente, foi colocado em tubos de coleta contendo citrato de sódio 3,8% e centrifugados nas programações supracitadas a fim de se obter o PRP e o PPP. Para calibração foi utilizado uma cubeta com uma alíquota de 300 µl de PPP mantido por 10 minutos à 37 °C. Em seguida, cubetas com 300 µl de PRP foram utilizadas em cada um dos canais do sistema para análise de agregação plaquetária frente estímulo a um agente agregante, nesse caso foi usado ADP na concentração de 17 µmol.L⁻¹ (CHAN CHH, 2020).

A avaliação das duas vias da hemostasia secundária foi feita através das metodologias de tempo de trombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), via extrínseca e via intrínseca, respectivamente. Na determinação do TP foi pipetado 50 µl do PPP em cubetas pré-aquecidas e mantidas à 37 °C por 3 minutos. Após esse período de incubação, foi adicionado à cubeta 100 µl do reagente pré-aquecido (37 °C) PT-SI (extrato liofilizado do cérebro de coelho e cloreto de cálcio), o equipamento então registrou o tempo que leva até a formação da fibrina.

Na determinação do TTPa, foi pipetado 50 µl de PPP em cubetas pré-aquecidas à 37 °C por 1 minuto, ato contínuo, foi pipetado 50 µl do reagente a-PTT-EL (extrato cloroformizado de cérebro de coelho: fosfolípidos 0,007%, ácido eláxico 0,0037%) na cubeta e após homogeneização, a mistura foi mantida em 37°C por 3

minutos para incubação; por último, é registrado o tempo até a formação do coágulo sanguíneo segundos depois da adição de 50 µl de cloreto de cálcio pré-aquecido à 37 °C na cubeta (HARRIS HM, et al., 2022).

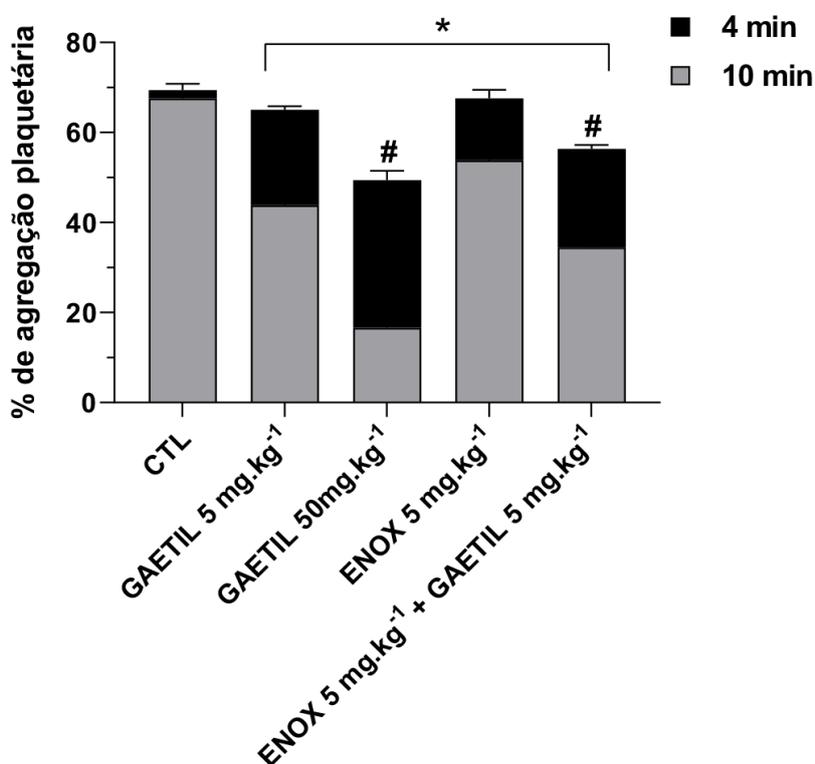
Os dados foram expressos como a média ± erro padrão da média (e.p.m.), foi usado o teste de análise de variância ordinária (ANOVA) para avaliar três ou mais grupos, seguido de pós-teste de Tukey. Um resultado foi considerado com significativa diferença estatística quando o $p < 0,05$. Toda análise estatística foi feita com a utilização do software GraphPad Prism versão 8.0 (GraphPad Software, San Diego, California, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi avaliado o potencial do galato de etila em reduzir a atividade de agregação plaquetária em plaquetas lavadas de rato, frente estímulo do agente agregante ADP. Após análise dos dados, foi possível observar que o galato de etila na dose de 50 mg.kg⁻¹ reduziu o percentual de agregação plaquetária quando comparado com o grupo controle, no tempo de 4 minutos após exposição ao agente agregante (49,4 ± 2,1% vs 69,4 ± 1,4%, respectivamente, $p < 0,05$). Essa diferença não foi observada na menor dose do galato de etila (5 mg.kg⁻¹) quando comparado ao grupo controle.

A dose de 50 mg.kg⁻¹ do galato de etila ainda apresentou uma redução significativa quando comparada ao grupo ENOX 5 mg.kg⁻¹ no mesmo tempo (49,4 ± 2,1% vs 67,6 ± 2,0 %, respectivamente). Essa diferença ainda foi vista no grupo ENOX 5 mg.kg⁻¹ + GAETIL 5 mg.kg⁻¹ que obteve menor percentual de agregação quando comparado ao grupo controle e ao grupo ENOX 5 mg.kg⁻¹ (56,3 ± 1,0% vs 69,4 ± 1,4% e 67,6 ± 2,0%, respectivamente) (**Figura 1**).

Figura 1 – Galato de etila reduz a agregação plaquetária e estabilidade do tampão plaquetário.



Legenda: Percentual de agregação plaquetária em diferentes tempos. Os resultados foram expressos como média ± SEM (n = 6). * $p < 0,05$ vs CTL; # $p < 0,05$ vs GAETIL 5 mg.kg⁻¹.

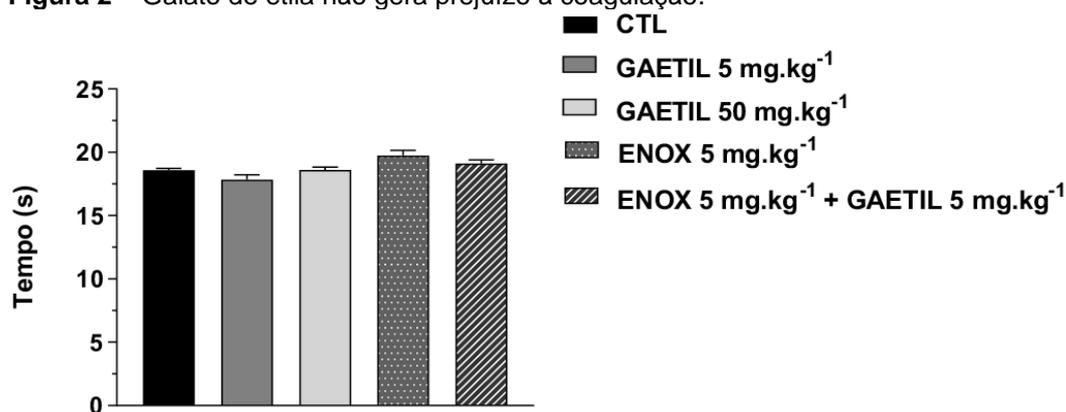
Fonte: Ramalho RC, et al., 2024.

Já no tempo de 10 minutos, observou-se uma capacidade pronunciada do grupo galato de etila 50 mg.kg⁻¹ na redução de agregação quando comparado com todos os outros grupos. Na sua menor dose, o galato de etila também mostrou-se capaz de reduzir a agregação plaquetária, observando-se uma diferença significativa quando comparada aos grupos controle e ENOX 5 mg.kg⁻¹ (43,8 ± 1,4% vs 67,6 ± 1,2% e 53,8 ± 3,0%, respectivamente). É importante notar que o grupo onde foram usadas as doses de 5 mg.kg⁻¹ de enoxaparina + 5 mg.kg⁻¹ galato de etila, também apresentou uma diferença em relação aos grupos controle e ENOX de forma isolada, porém essa diferença não foi tão acentuada como o grupo GAETIL 50 mg.kg⁻¹.

O potencial de redução da porcentagem de agregação plaquetária do galato de etila, em especial na dose de 50 mg.kg⁻¹, sendo notada uma diferença relevante nos dois tempos, 4 e 10 minutos, mostra que a substância foi capaz de modular o mecanismo de ativação das plaquetas possivelmente pela inibição das vias de ativação da hemostasia primária. As diferenças em relação ao tempo também sugerem que as plaquetas dos animais tratados com o galato de etila na dose de 50 mg.kg⁻¹ tinham menor capacidade de se aderirem e que o tampão parcialmente estabelecido não possuía adesão suficiente pra se manter ao longo do tempo de exposição ao ADP, notando-se essa diferença especialmente no registro após decorridos 10 minutos.

Esses resultados respaldam triagens feitas anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa, que demonstraram uma atividade antiagregante do galato de etila encubado em plasma de ratos frente estímulo por ADP. A respeito da avaliação do TP e TTPa, não foi notada uma diferença entre os grupos no tempo de protrombina, indicando não haver uma influência direta pela via extrínseca (via comum) (**Figura 2**).

Figura 2 – Galato de etila não gera prejuízo à coagulação.



Legenda: Avaliação do Tempo de Protrombina. Os resultados foram expressos como média ± SEM (n = 6).

Fonte: Ramalho RC, et al., 2024.

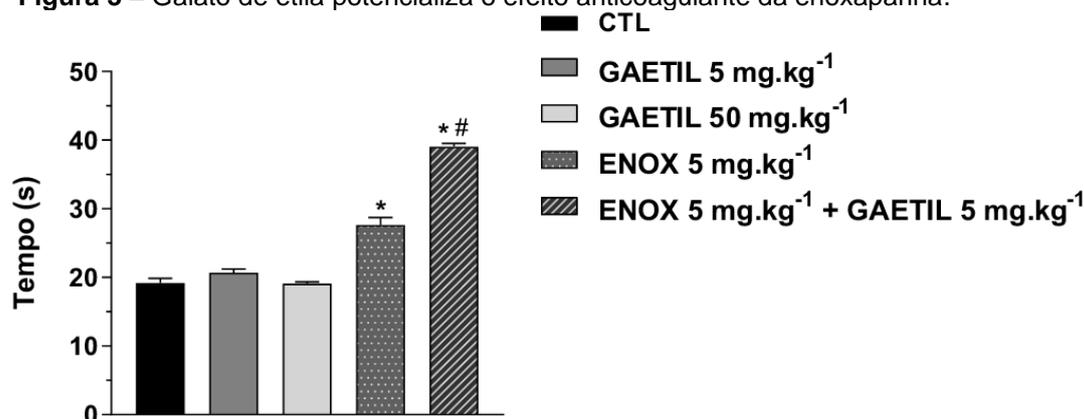
Já quando avaliado o tempo de tromboplastina parcial ativada, foi notada uma diferença já esperada do grupo ENOX 5 mg.kg⁻¹ quando comparado ao controle. (27,6 ± 1,1s vs 19,2 ± 0,7s, respectivamente). Interessantemente, a associação da enoxaparina 5 mg.kg⁻¹ ao galato de etila 5 mg.kg⁻¹, apresentou uma diferença significativa em relação ao controle (39,1 ± 0,5 s vs 19,2 ± 0,7s, respectivamente) mas também em relação à enoxaparina isolada (39,1 ± 0,5 s vs 27,6 ± 1,1 s, respectivamente), demonstrando uma prolongação no tempo para formação do coágulo, indicando que de alguma forma o galato de etila na dose de 5 mg.kg⁻¹ foi capaz de ampliar a capacidade da ENOX 5 mg.kg⁻¹ em retardar o tempo para que o coágulo seja formado, sugerindo uma possível aditividade do galato de etila em relação a atividade anticoagulante da enoxaparina e implicando um importante efeito terapêutico.

Entretanto, preconiza-se uma maior investigação tendo em vista que o galato de etila, em ambas doses avaliadas, não possui efeito anticoagulante de forma isolada (**Figura 3**). O presente estudo demonstrou o potencial relevante do galato de etila como agente antiplaquetário. A capacidade da nossa substância de reduzir a agregação plaquetária sugere uma possível atuação sobre o mecanismo de ativação das plaquetas, essa diferença sendo notavelmente vista no registro do início ao fim, sugerindo uma capacidade de atuação

ampla em diferentes processo da agregação. Esses resultados corroboram com dados da literatura a respeito dos derivados do ácido gálico, segundo YUN-CHOI HS, et al. (1996), derivados alquilados do ácido gálico apresentaram efeitos antitrombóticos em ratos.

Dados não publicados do nosso grupo de pesquisa também sugerem uma atividade antiagregante do galato de etila frente estímulo por ADP, reforçando os resultados encontrados no atual estudo. O perfil da resposta variou de acordo com a dose utilizada, em especial no grupo GAETIL 5 mg.kg⁻¹ que não apresentou diferença significativa em relação ao controle, quando analisamos o registro 4 minutos após a exposição ao ADP, entretanto a dose de 50 mg.kg⁻¹ do galato de etila apresentou resultados promissores em ambos tempos de registro.

Figura 3 – Galato de etila potencializa o efeito anticoagulante da enoxaparina.



Legenda: Avaliação do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada. Os resultados estão expressos como média ± SEM (n = 6). *p<0,05 vs CTL; #p<0,05 vs ENOX 5 mg.kg⁻¹.

Fonte: Ramalho RC, et al., 2024.

Constatamos que sua atividade é voltada à inibição da agregação plaquetária, tendo em vista que a substância, quando administrada de forma isolada, não apresentou nenhuma alteração significativa no processo de coagulação, entretanto, interessantemente, foi possível notar que o galato de etila potencializou o efeito da enoxaparina quando administrados de forma conjunta, indicando uma alternativa para possível interação entre as substâncias, a fim de alcançar efeitos terapêuticos mais eficientes e menos tóxicos, além de possivelmente melhorar o custo-benefício da terapia.

CONCLUSÃO

Isto posto, as avaliações propostas foram capazes de elucidar a atividade antiagregante do galato de etila no sistema de emulsão, implicando um possível alvo terapêutico, foi inteirada ainda a capacidade desse derivado do ácido gálico de potencializar a atividade da enoxaparina, mostrando um potencial não só isolado mas também em terapias conjuntas com outros fármacos, podendo ser usado em formulações que reduzam a dose de medicamentos com efeitos adversos indesejados, mantendo o efeito terapêutico e possibilitando opções mais seguras, além de possivelmente baratear o valor final dessas terapias, em especial com a heparina, gerando maior custo-benefício. Os resultados promissores apresentados, instigam futuras investigações da atividade do galato de etila e outros derivados do ácido gálico, tornando-os alvos interessantes no desenvolvimento de novos tratamentos.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Os autores gostariam de agradecer a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e o Instituto UFPB de Desenvolvimento da Paraíba (IDEP) pelo apoio estrutural, logístico e financeiro para a realização do presente estudo.

REFERÊNCIAS

1. ACHNECK HE, et al. Fisiopatologia do sangramento e da coagulação no paciente de cirurgia cardíaca: do endotélio vascular à superfície do dispositivo de assistência circulatória. *Circulação*, 2010; 122(20): 2068-2077.
2. ANDRADE MGS, et al. Efeitos biológicos do plasma rico em plaquetas. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 2007; 6(2): 204-213.
3. BADHANI B, et al. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Rsc Advances*, 2015; 5(35): 27540-27557.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos. 2ª edição. Brasília: ANVISA. 2007. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-controle-de-qualidade-de-produtos-cosmeticos.pdf/view> Acessado em: 22 de outubro de 2024.
5. CHAN CHH, et al. Shear-dependent platelet aggregation size. *Artificial organs*, 2020; 44(12): 1286-1295.
6. CHANG SS, et al. Gallic Acid Attenuates Platelet Activation and Platelet-Leukocyte Aggregation: Involving Pathways of Akt and GSK3 β . *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012; 683872.
7. CHIU JJ e CHIEN S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiological reviews*, 2011; 91(1): 327- 387.
8. CHO SY e HUR M. Expanded impacts of platelet functions: beyond hemostasis and thrombosis. *Annals of Laboratory Medicine*, 2019; 39(4): 343-344.
9. COELHO IS. Efeito terapêutico do galato de etila na nocicepção neuropática e induzida por algógenos em camundongos. Tese de Mestrado (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014; 91.
10. DE SILVA E, et al. Apoptosis in platelets is independent of the actin cytoskeleton. *Plos one*, 2022; 17(11): 0276584.
11. FITZGERARD GA e PATRONO CP. The coxibs selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *New England Journal Med*, 2001; 345(6): 433-442.
12. GOLAN DE, et al. Princípios de farmacologia. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014; 3.
13. GOTTSÄTER A. Pharmacological secondary prevention in patients with mesenteric artery atherosclerosis and arterial embolism. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2017; 31(1): 105-109.
14. GROENEVELD D, et al. O fator de von Willebrand retarda o reparo hepático após lesão hepática aguda induzida por paracetamol em camundongos. *J Hepatol*, 2020; 72(1): 146-155.
15. HARRIS HM, et al. Safety and pharmacokinetics of intranasally administered heparin. *Pharmaceutical Research*, 2022; 39(3): 541-551.
16. HILAL-DANDAN R e BRUNTON L. Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman. Porto Alegre: AMGH Editora, 2012; 12.
17. KUIJPERS MJE, et al. Molecular Mechanisms of Hemostasis, Thrombosis and Thrombo-Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022; 23(10): 5825.
18. LEE SH e KIM WH. Superficial Vein Thrombosis and Severe Varicose Veins Complicating Venous Thromboembolism. *Journal of Cardiovascular Imaging*, 2019; 27(2): 154-155.
19. MIGUEL G, et al. Chemical and preliminary analgesic evaluation of geraniin and furosin isolated from *Phyllanthus sellowianus*. *Planta Medica*, 1996; 62(2): 146-149.
20. MOHAN S, et al. Evaluation of ethyl gallate for its antioxidant and anticancer properties against chemical-induced tongue carcinogenesis in mice. *The Biochemical journal*, 2017; 474(17): 3011-3025.
21. MURASE T, et al. Gallates inhibit cytokine-induced nuclear translocation of NF- κ B and expression of leukocyte adhesion molecules in vascular endothelial cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 1999; 19(6): 1412-1420.
22. NAVI BB, et al. Cancer and embolic stroke of undetermined source. *Stroke*, 2021; 52(3): 1121-1130.
23. ORME R, et al. Monitoring antiplatelet therapy. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2017; 43(3): 311-319.

24. PIEDADE PR, et al., Papel da curva de agregação plaquetária no controle da antiagregação na prevenção secundária do acidente vascular cerebral isquêmico. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 2003; 61(3): 764–767.
25. RAGHUNATHAN S, et al. Platelet-inspired nanomedicine in hemostasis thrombosis and thromboinflammation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2022; 20(7): 1535-1549.
26. SANTOS AR, et al., The involvement of K⁺ channels and Gi/o protein in the antinociceptive action of the gallic acid ethyl ester. *European journal of pharmacology*, 1999; 379(1): 7–17.
27. SASHINDRANATH M, et al. The mode of anesthesia influences outcome in mouse models of arterial thrombosis. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2019; 3(2): 197-206.
28. SCHÜNEMANN HJ, et al. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: prophylaxis for hospitalized and nonhospitalized medical patients. *Blood Advances*, 2018; 2(22): 3198–3225.
29. TEDJASEPUTRA A, et al. Adrenal failure secondary to bilateral adrenal haemorrhage in heparin-induced thrombocytopenia. *Annals of Hematology*, 2020; 99(3): 657-659.
30. TURETZ M, et al. Epidemiology, pathophysiology, and natural history of pulmonary embolism. *Seminars in interventional radiology*, 2018; 35(2): 92-98.
31. VINCENT LL e OTTO CM. Infective endocarditis: update on epidemiology, outcomes, and management. *Current cardiology reports*, 2018; 20(10): 1-9.
32. VON BRÜHL M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 2012; 209(4): 819-835.
33. YUN-CHOI HS et al. Esters of substituted benzoic acids as anti-thrombotic agents. *Archives of Pharmacal Research*, 1996; 19(1): 66-70.