

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Edla de Azevedo Herculano

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOVASCULARES DO  
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DOS FRUTOS DE *SYZYGIUM*  
*CUMINI* (L.) SKEELS

Maceió – AL

2011

Edla de Azevedo Herculano

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOVASCULARES DO  
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DOS FRUTOS DE *SYZYGIUM*  
*CUMINI* (L.) SKEELS

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde** da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), para obtenção do título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Área de concentração: DOENÇAS CRÔNICAS.**

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro

Maceió – AL

2011

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos**

H539a Herculano, Edla de Azevedo.  
Avaliação dos efeitos cardiovasculares induzidos pelo extrato hidroalcoólico dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels / Edla de Azevedo Herculano. – 2012.  
71 f. : il., tab.

Orientador: Êurica Adélia Nogueira Ribeiro.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2012.

Bibliografia: f. 62-71.

1. *Syzygium cumini*. 2. Efeito anti-hipertensivo. 3. Vasorrelaxamento. 4. Hipotensão. I. Título.

CDU: 615.22:615.322



Universidade Federal de Alagoas  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Praça Afrânio Jorge, s/n. Prado  
CEP 57.010-020. Maceió-AL  
(82) 3223-5613; 3336-0757  
e-mail: [pgcs@propep.ufal.br](mailto:pgcs@propep.ufal.br)

Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna Edla de Azevedo Herculano, intitulada: "Efeitos cardiovasculares de *Syzygium cumini* (L.) Skeels", orientada pela Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Êurica Adélia Nogueira Ribeiro, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 04 de maio de 2012.

Os membros da Banca Examinadora consideraram a candidata APROVADA.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Robinson Sabino da Silva – (ICBS/UFAL)

Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva - (UFAL)

Prof. Dr. Isac Almeida de Medeiros – (UFPB)

Aos meus pais **José Maria** (*in memoriam*) e **Ivania** que nunca mediram esforços por minha educação e formação profissional;

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. **Êurica Ribeiro**, profissional em que me espelho e admiro. Pela orientação, incentivo e persistência. Tornando possível a realização de um sonho.

*“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,  
nunca tem medo e nunca se arrepende”*

(Leonardo da Vinci)

## **AGRADECIMENTOS**

A **Deus**, por permitir minhas conquistas e dar-me forças diante dos obstáculos;

Aos meus irmãos **Wagner** e **Yuri**, pelo carinho e apoio;

A meu tio **Severino Mendes**, pelo incentivo e por sempre apoiar minhas decisões;

A minha amiga **Cintia Danieli** pelo apoio, companheirismo e incentivo apenas encontrados em uma amizade verdadeira como a que construímos;

À **Pricilla Matos** e família pelo acolhimento, apoio, carinho e por proporcionarem que me sentisse como parte da família;

À **Janylle Ferro** pela amizade e estímulo;

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular que contribuíram direta ou indiretamente para realização do trabalho;

Ao Prof. Dr. **João Xavier** pela oportunidade e apoio aos projetos em que estive inserida;

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

**Muito obrigada**

Edla de Azevedo Herculano  
Abril, 2012.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1 - Foto de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels. -----   | 24 |
| FIGURA 2 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação dos efeitos cardiovasculares do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre PA e FC em ratos Wistar não anestesiados.----- | 32 |
| FIGURA 3 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da influência dos fatores relaxantes derivados do endotélio em ratos Wistar não anestesiados.-----                         | 33 |
| FIGURA 4 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação dos receptores muscarínicos e ganglionares em ratos Wistar não anestesiados.-----                          | 34 |
| FIGURA 5 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da atividade anti-hipertensiva em ratos Wistar e SHR não anestesiados.-----  | 34 |
| FIGURA 6 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito relaxante induzido pelo EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.-----                     | 36 |
| FIGURA 7 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação da síntese de NO no efeito relaxante do EHFSC.-----  | 37 |
| FIGURA 8 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito relaxante do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM. -----  | 38 |
| FIGURA 9 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação dos canais para K <sup>+</sup> no efeito vasorelaxante do EHFSC.-----                                      | 39 |



## LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| GRÁFICO 1 – Efeitos do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre a PAM e FC em ratos Wistar não anestesiados.-----                   | 42 |
| GRÁFICO 2 - Efeito do EHFSC sobre a PAM e FC em ratos Wistar e SHR não-anestesiados.-----  | 43 |
| GRÁFICO 3 - Efeito do L-NAME sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC em ratos Wistar não anestesiados.-----             | 44 |
| GRÁFICO 4 - Efeito da indometacina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC em ratos Wistar não anestesiados.-----       | 45 |
| GRÁFICO 5 - Efeito da atropina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC em ratos Wistar não-anestesiados.-----           | 46 |
| GRÁFICO 6 - Efeito do hexametônio sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC em ratos Wistar não anestesiados.-----        | 47 |
| GRÁFICO 7 - Efeito anti-hipertensivo do EHFSC em ratos Wistar e SHR não anestesiados.-----   | 49 |
| GRÁFICO 8 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com FEN.-----              | 50 |
| GRÁFICO 9 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar na presença de L-NAME.-----               | 51 |
| GRÁFICO 10 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com KCl 80 mM.-----       | 52 |
| GRÁFICO 11 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com FEN e KCl 80 mM.----- | 53 |
| GRÁFICO 12 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar na presença de KCl 20 mM -----           | 54 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1 - Composição da solução nutritiva Tyrode.-----   | 29 |
| TABELA 2 - Composição da solução despolarizante de Tyrode com cloreto de potássio a 80 mM.-----   | 29 |
| TABELA 3 - Composição da solução Tyrode com cloreto de potássio a 20 mM.---   | 30 |
| TABELA 4 - Comparação dos valores de $E_{máx}$ e $pD_2$ do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar.----- | 54 |

## RESUMO

Os efeitos cardiovasculares do extrato hidroalcoólico de *Syzygium cumini* (L.) Skeel (Myrtaceae) (EHFSC) foram estudados em ratos usando uma combinação *in vivo* e *in vitro*. Em animais hipertensos (SHR) não anestesiados, o EHFSC promoveu efeito anti-hipertensivo a partir da quarta hora após administração de 200 mg/kg, v.o. Este efeito não foi observado em ratos normotensos, após administração de 100 ou 500 mg/kg. Entretanto após tratamento com 500 mg/kg observamos efeito hipertensivo e taquicárdico. Além disso, EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg; i.v.) produziu hipotensão significativa dose não-dependente ( $-15,1 \pm 1,4\%$ ;  $-13,8 \pm 1,1\%$ ;  $-14,9 \pm 1,5\%$ ;  $-13 \pm 0,9\%$ ;  $-11,2 \pm 1,5$  e  $-13 \pm 1,7\%$ , respectivamente) com redução da frequência cardíaca ( $-5,7 \pm 1\%$ ;  $-5,3 \pm 1,3\%$ ;  $-5,6 \pm 0,5\%$ ;  $-14 \pm 1,5\%$ ;  $-8,3 \pm 1\%$  e  $-9,6 \pm 1,7\%$ , respectivamente) em ratos normotensos, bem como em SHR, hipotensão ( $-7,4 \pm 0,5\%$ ;  $-11 \pm 2\%$ ;  $-8 \pm 1\%$ ;  $-5,9 \pm 0,7\%$ ;  $-9 \pm 0,7\%$  e  $-9,9 \pm 1,6\%$ , respectivamente) e bradicardia ( $-0,8 \pm 0,8\%$ ;  $-3,5 \pm 2\%$ ;  $-3,3 \pm 0,5\%$ ;  $-0,4 \pm 0,3\%$ ;  $-4,0 \pm 0,3\%$  e  $-6,9 \pm 1,5\%$ , respectivamente). A resposta hipotensora não foi alterada após bloqueio da síntese de óxido nítrico pelo L-NAME (20 mg/kg; i.v.) ou atropina (2 mg/kg, i.v.), entretanto a bradicardia foi revertida à taquicardia na presença de L-NAME ( $2,3 \pm 0,5\%$ ;  $1,3 \pm 0,9\%$ ;  $2,4 \pm 1,3\%$ ;  $2,5 \pm 1,2\%$ ;  $0,1 \pm 1,1\%$  e  $5 \pm 0,6\%$ , respectivamente) e atenuada pela atropina nas maiores doses ( $-2,4 \pm 1\%$ ;  $-4,1 \pm 0,9\%$ ;  $-5,2 \pm 1\%$  e  $-5,2 \pm 0,4\%$ , respectivamente). Além disso, após o bloqueio com indometacina (3 mg/kg; i.v.) tanto o efeito hipotensor ( $-4,8 \pm 0,9\%$ ;  $-3,8 \pm 0,4\%$ ;  $-8,6 \pm 0,9\%$ ;  $-6,1 \pm 0,9\%$ ;  $-3,8 \pm 0,5\%$  e  $-4,6 \pm 1,1\%$ , respectivamente) como a bradicardia ( $1,6 \pm 1,2\%$ ;  $2,1 \pm 0,4\%$ ;  $-0,9 \pm 0,5\%$ ;  $-2,0 \pm 1,6\%$  e  $-1,7 \pm 0,8\%$ , respectivamente) foram atenuados. Enquanto que após o bloqueio com hexametônio (30 mg/kg; i.v.) houve redução significativa do efeito hipotensor nas doses de 0,5; 5 e 10 mg/kg ( $-6,8 \pm 0,7$ ;  $-5,8 \pm 1\%$  e  $-7,9 \pm 1,9\%$ , respectivamente) com redução do efeito bradicárdico em todas as doses ( $-0,1 \pm 0,5\%$ ;  $-1,5 \pm 0,9\%$ ;  $-2,3 \pm 0,7\%$ ;  $1,5 \pm 1,5\%$  e  $3,7 \pm 0,8\%$ , respectivamente). Em anéis de artéria mesentérica superior, EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) antagonizou de maneira concentração-dependente as contrações induzidas por fenilefrina ( $10^{-4}\text{M}$ ) e KCl (80 mM) ( $\text{PD}_2 = 2,74 \pm 0,1$  e  $2,16 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente) apenas nas preparações com endotélio funcional intacto. Contudo, quando pré-incubados com L-NAME (100  $\mu\text{M}$ ) o efeito vasorelaxante não foi inibido ( $\text{PD}_2 = 2,92 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ ), por outro lado os experimentos quando realizados na presença da concentração de  $\text{K}^+$  20 mM o vasorelaxamento foi atenuado ( $\text{PD}_2 = 1,73 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ ). Baseados nestes resultados, sugere-se que o EHFSC promove efeito anti-hipertensivo quatro horas após administração oral de 200 mg/kg do extrato. Além disso, o efeito hipotensor provavelmente ocorre devido a uma vasodilatação periférica dependente de endotélio, com envolvimento de prostanóides e provável participação de canais iônicos. A ação bradicárdica ocorre de forma independente com provável ativação indireta dos receptores muscarínicos  $\text{M}_2$  cardíacos.

**Palavras-chave:** *Syzygium cumini*; hipotensão; efeito anti-hipertensivo; vasorelaxamento

## ABSTRACT

The cardiovascular effects of hydroalcoholic extract of the *Syzygium cumini* (L.) Skeels fruits (Myrtaceae) (EHSCF) were studied in rats using a combination of *in vivo* and *in vitro*. After administration of single oral dose (200 mg/kg) we observed a significant decrease in blood pressure from four hours after administration in spontaneously hypertensive rats (SHR). Moreover EHFSC (0.5; 1; 5; 10; 20 and 30 mg/kg; i.v.) produced hypotension ( $-15.1 \pm 1.4\%$ ;  $-13.8 \pm 1.1\%$ ;  $-14.9 \pm 1.5\%$ ;  $-13 \pm 0.9\%$ ;  $-11.2 \pm 1.5$  and  $-13 \pm 1.7\%$ , respectively) associated with bradycardia ( $-5.7 \pm 1\%$ ;  $-5.3 \pm 1.3\%$ ;  $-5.6 \pm 0.5\%$ ;  $-14 \pm 1.5\%$ ;  $-8.3 \pm 1\%$  and  $-9.6 \pm 1.7\%$ , respectively) in normotensive rats, as well as SHR, hypotension ( $-7.4 \pm 0.5\%$ ;  $-11 \pm 2\%$ ;  $-8 \pm 1\%$ ;  $-5.9 \pm 0.7\%$ ;  $-9 \pm 0.7\%$  and  $-9.9 \pm 1.6\%$ , respectively) followed by bradycardic effect ( $-0.8 \pm 0.8\%$ ;  $-3.5 \pm 2\%$ ;  $-3.3 \pm 0.5\%$ ;  $-0.4 \pm 0.3\%$ ;  $-4.0 \pm 0.3\%$  e  $-6.9 \pm 1.5\%$ , respectively). The bradycardia was reversed in tachycardia ( $2.3 \pm 0.5\%$ ;  $1.3 \pm 0.9\%$ ;  $2.4 \pm 1.3\%$ ;  $2.5 \pm 1.2\%$ ;  $0.1 \pm 1.1\%$  and  $5 \pm 0.6\%$ , respectively) after L-NAME (20 mg/kg), after indomethacin (2 mg/kg) both hypotension ( $-4.8 \pm 0.9\%$ ;  $-3.8 \pm 0.4\%$ ;  $-8.6 \pm 0.9\%$ ;  $-6.1 \pm 0.9\%$ ;  $-3.8 \pm 0.5\%$  and  $-4.6 \pm 1.1\%$ , respectively) and bradycardia ( $1.6 \pm 1.2\%$ ;  $2.1 \pm 0.4\%$ ;  $-0.9 \pm 0.5\%$ ;  $-2.0 \pm 1.6\%$  and  $-1.7 \pm 0.8\%$ , respectively) were reduced and after pretreatment with atropine the bradycardic effect was attenuated just in higher doses ( $-2.4 \pm 1\%$ ;  $-4.1 \pm 0.9\%$ ;  $-5.2 \pm 1\%$  and  $-5.2 \pm 0.4\%$ , respectively). The hypotension just doses 0.5; 5 and 10 mg/kg ( $-6.8 \pm 0.7$ ;  $-5.8 \pm 1\%$  and  $-7.9 \pm 1.9\%$ , respectively) and bradycardia in all doses ( $-0.1 \pm 0.5\%$ ;  $-1.5 \pm 0.9\%$ ;  $-2.3 \pm 0.7\%$ ;  $1.5 \pm 1.5\%$  and  $3.7 \pm 0.8\%$ , respectively) were significantly reduced after hexamethonium. Moreover, EHFSC (1 - 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) induced a concentration-dependent vasodilator effect in endothelium-dependent in mesenteric artery rings pre-contracted by Phe ( $10^{-4}\text{M}$ ) and KCl (80 mM) ( $\text{pD}_2 = 2.74 \pm 0.1$  e  $2.16 \pm 0.06$   $\mu\text{g/mL}$ , respectively). L-NAME (100  $\mu\text{M}$ ) pretreatment not inhibited the vasorelaxation inhibited ( $\text{pD}_2 = 2.92 \pm 0.12$   $\mu\text{g/mL}$ ), however in KCl (20 mM) preparations vasorelaxant response was attenuated ( $\text{pD}_2 = 1.73 \pm 0.1$   $\mu\text{g/mL}$ ). These results so far show that extract induced antihypertensive effect and hypotension due the probably release of prostanoids and bradycardia which could be due to both indirect cardiac muscarinic activation. The vasorelaxant effect is probably mediated by potassium channel activated in endothelium.

**Keywords:** *Syzygium cumini*; hypotension; antihypertensive effect; vasorelaxant

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> -----  | 15 |
| <b>1.1 Considerações Sobre Pressão Arterial</b> -----  | 15 |
| <b>1.2 Hipertensão Arterial Sistêmica</b> -----  | 17 |
| <b>1.3 Contração e Relaxamento do Músculo Liso Vascular</b> -----  | 20 |
| <b>1.4 Considerações Sobre Plantas Medicinais</b> -----  | 21 |
| <b>1.5 A Família Myrtaceae e <i>Syzygium cumini</i></b> -----  | 23 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> -----   | 26 |
| <b>2.1 Geral</b> -----   | 26 |
| <b>2.2 Específicos</b> -----   | 26 |
| <b>3 MATERIAL</b> -----  | 27 |
| <b>3.1 Obtenção do Extrato Hidroalcoólico e Frações Hexânica e Metanólica dos Frutos de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels</b> -----   | 27 |
| <b>3.2 Animais</b> -----   | 27 |
| <b>3.3 Drogas e Reagentes</b> -----  | 28 |
| <b>3.4 Soluções Nutritivas</b> -----   | 28 |
| <b>4 MÉTODO</b> -----  | 31 |
| <b>4.1 Ensaio Farmacológicos</b> -----   | 31 |
| <b>4.2 Ensaio Farmacológicos e Protocolos Experimentais <i>in vivo</i></b> -----   | 31 |
| <b>4.2.1 Medida direta da PA e FC em ratos não anestesiados</b> -----  | 31 |
| <b>4.2.2 Avaliação do efeito do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre PAM e FC em ratos Wistar e SHR não anestesiados</b> -----  | 32 |
| <b>4.2.3 Avaliação da influência dos fatores relaxantes derivados do endotélio sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida por EHFSC em ratos Wistar não anestesiados</b> ----- | 32 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4.2.4 Avaliação da participação dos receptores muscarínicos e ganglionares na resposta hipotensora e bradicárdica induzida por EHFSC em ratos Wistar não anestesiados-----</b>        | <b>33</b> |
| <b>4.2.5 Avaliação da atividade anti-hipertensiva-----</b>   | <b>34</b> |
| <b>4.3 Ensaios Farmacológicos e Protocolos <i>in vitro</i>-----</b>  | <b>35</b> |
| <b>4.3.1 Preparações com artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar---</b>   | <b>35</b> |
| <b>4.3.2 Efeito de EHFSC sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com FEN na presença ou ausência de endotélio---</b>                          | <b>36</b> |
| <b>4.3.3 Efeito de L-NAME sobre a resposta relaxante induzida por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolados de ratos Wistar-----</b>                                       | <b>37</b> |
| <b>4.3.4 Efeito do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar -----</b>  | <b>37</b> |
| <b>4.3.5 Verificação da participação dos canais para K<sup>+</sup> na resposta relaxante induzida por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar -----</b>   | <b>39</b> |
| <b>4.4 Análises Estatísticas-----</b>  | <b>40</b> |
| <b>5 RESULTADOS-----</b>   | <b>41</b> |
| <b>5.1 Efeitos do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre PAM e FC em ratos Wistar e SHR não-anestesiados-----</b>   | <b>38</b> |
| <b>5.2 Avaliação da participação dos fatores relaxantes derivados do endotélio, sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida por EHFSC em ratos Wistar não anestesiados-----</b> | <b>41</b> |
| <b>5.3 Efeito do bloqueio dos receptores muscarínicos e ganglionares na hipotensão e bradicardia induzida por EHFSC em ratos Wistar não-anestesiados-----</b>                            | <b>44</b> |
| <b>5.4 Avaliação da atividade anti-hipertensiva do EHFSC-----</b>  | <b>46</b> |
| <b>5.5 Efeito do EHFSC sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar, pré-contraídos com FEN na presença e ausência de endotélio funcional-----</b>                | <b>48</b> |
| <b>5.6 Avaliação da participação da via do NO na resposta relaxante induzida por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wista--</b>                             | <b>50</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>5.7 Efeito do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar -----</b>  | <b>51</b> |
| <b>5.8 Avaliação da participação dos canais para K<sup>+</sup> no efeito vasorelaxante induzido por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar -----</b> | <b>53</b> |
| <b>6 DISCUSSÃO-----</b>  | <b>55</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----</b>   | <b>62</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações Sobre Pressão Arterial

O sistema cardiovascular humano e em diversas espécies animais, é composto por um coração e vasos sanguíneos (artérias, capilares e veias). Este sistema contribui com a homeostase celular, pois, além de outras funções, é responsável por levar substâncias essenciais e remover subprodutos do metabolismo dos tecidos (BERNE e LEVY, 2009). Sua regulação cardiovascular ocorre por meio de alterações nos diâmetros dos vasos de resistência (principalmente arteríolas), no desempenho cardíaco e/ou no volume das veias (CAMPAGNOLE-SANTOS e HAIBARA, 2001).

A pressão arterial média (PAM) é um parâmetro fisiológico e representa matematicamente a pressão arterial pulsátil. De modo simplificado, a PAM pode ser expressa como produto do débito cardíaco (DC) e resistência vascular periférica total (RVPT) de acordo com a equação:  $PAM = DC \times RVPT$ . O DC é a quantidade de sangue ejetado do coração para o organismo a cada minuto e pode ser representado em função dos parâmetros fisiológicos, volume sistólico (VS) e frequência cardíaca (FC):  $DC = VS \times FC$ . Deste modo, qualquer alterações sobre estes parâmetros induzem mudanças a pressão arterial (OATES e BROWN, 2003).

O controle da pressão arterial (PA) é realizado por uma ação conjunta e integrada do sistema renal, neural e endócrino, que promovem alterações no sistema cardiovascular, (CAMPAGNOLE-SANTOS; HAIBARA, 2001).

O baroreflexo é um mecanismo de controle da PA a curto prazo, considerado essencial para homeostase cardiovascular. É constituído pelos barorreceptores (ou pressorreceptores) situados nos seios carotídeos e arco aórtico e respondem ao estiramento vascular e à deformação induzida pelo aumento da pressão. Quando ativados inibem as regiões vasoconstrictoras do bulbo, havendo uma vasodilatação periférica e conseqüente redução da pressão sanguínea. De forma adicional ocorre ainda uma bradicardia devido à estimulação vagal (GUYENET, 2006; KAREMAKER, 2008).

Os quimiorreceptores periféricos também são responsáveis pela regulação da PA a curto prazo, constituem em corpos na bifurcação carotídea e vários corpos pequenos na região do arco aórtico. Apesar de estarem envolvidos primeiramente na regulação da respiração, também atuam



na regulação local do tônus da musculatura lisa dos vasos, estimulando as regiões vasoconstritoras a partir de uma redução de  $O_2$  ou excesso de  $CO_2$  e  $H^+$ , bem como regiões vasodilatadoras a partir do aumento de  $O_2$  ou redução de  $CO_2$  e  $H^+$  (CARVALHO e COSTA, 1979; GUYTON e HALL 2011).

Os mecanismos hormonais, implicados no controle da PA a médio prazo, promovem elevação da PA através do sistema catecolaminérgico (adrenalina e noradrenalina) e hormônio antidiurético ou redução da PA através da liberação do peptídeo atrial natriurético (PAN) e ativação do sistema caliceína-cininas. Além de estimular substâncias produzidas localmente pelo endotélio, como óxido nítrico (NO), endotelinas e prostaglandinas, que promovem alterações na RVP, modificando a taxa de fluxo sanguíneo a nível local, podendo interferir sistemicamente na modulação da PA (EVORA et al, 1995; OATES e BROWN, 2003).

O órgão mais importante no controle da pressão a longo prazo é o rim, pois quando a RVP é constante, o aumento de líquido no organismo aumenta o DC e conseqüentemente a PAM. portanto, o controle a longo prazo da pressão arterial é determinado pelo equilíbrio dos fluidos no organismo, ou seja, equilíbrio entre a ingestão e eliminação de líquidos (BERNE e LEVY, 2009). Para exercer este controle, o rim secreta renina, uma enzima proteolítica que é liberada pelas células do aparelho justaglomerular para a circulação. Esta liberação ocorre mediante três estímulos: estimulação simpática, redução na carga de sódio na mácula densa e redução na pressão de filtração glomerular (SHEPHERD e VANHOTTE, 1979). No plasma, a renina leva a conversão do angiotensinogênio (produzido pelo fígado) em angiotensina I, esta por sua vez é convertida em angiotensina II por meio da enzima conversora de angiotensina (ECA) (FERREIRA e BRUNINI, 2007). Angiotensina II é um peptídeo que atua no sistema cardiovascular promovendo vasoconstricção, aumento da contratilidade cardíaca e hipertrofia cardíaca. Nos rins promove reabsorção tubular de sódio, além de estimular a secreção de aldosterona. Este sistema é denominado sistema renina-angiotensina aldosterona (SRAA) e seus mecanismos em conjunto são responsáveis pela elevação da PA (ATLAS, 2007).

## 1.2 Hipertensão Arterial Sistêmica

Através de estudos fisiológicos foi possível o conhecimento de um grande número de substâncias e de sistemas que interagem de maneira complexa para garantir níveis adequados de pressão arterial (PA) nas mais diversas situações. Acredita-se que disfunções na síntese e liberação dessas substâncias, e nos nesses sistemas de controles resultam na chamada hipertensão arterial sistêmica (HAS) (CAIN e KHALIL, 2002). Esta condição clínica caracteriza-se pela manutenção dos níveis tensionais arteriais acima dos considerados normais (GUIMARÃES e RIBAS, 2006). Segundo a VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão (2010) este valor, para adultos, é de até 130/85 mmHg, para pressões sistólicas e diastólicas respectivamente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

A HAS é considerada um fator de risco para diversas doenças cardiovasculares (PÉRES, MAGNA e VIANA, 2003; SALGADO e CARVALHAES, 2003; LYRA et al, 2006), pois 85% dos pacientes que sofrem acidente vascular cerebral (AVC) e 40% das vítimas de infarto agudo do miocárdio (IAM) são hipertensas. Além disso, pacientes hipertensos também apresentam maior suscetibilidade à insuficiência cardíaca (IC) (ARAÚJO e GARCIA, 2006). Dados importantes, visto que este grupo de doenças permanece como principal causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo com uma elevada probabilidade de crescimento de sua incidência (KEARNEY et al, 2005; MARK et al, 2007).

Além disso, a HAS apresenta uma prevalência mundial de 26,4% e no Brasil estudos populacionais realizados em algumas cidades estimam-se que cerca de 22,3 a 43,9% da população do país é hipertensa (GUS et al, 2004). Com base nestes estudos, pode-se afirmar que a hipertensão constitui um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo.

Por isso, hipertensos devem ser tratados adequadamente. Deste modo, devido a HAS ser uma condição crônica, este tratamento visa apenas o controle da doença e possui como finalidade primordial a redução da morbidade e mortalidade cardiovasculares (SRTRELEC et al, 2003

As medidas não farmacológicas caracterizam o início da terapia e consistem na melhoria da qualidade de vida do paciente (GUEDES et al 2005). As principais recomendações não medicamentosas para prevenção da HAS são: alimentação saudável, consumo controlado de sal e álcool, ingestão de potássio e combate ao sedentarismo e ao tabagismo. Com o agravamento da doença, de acordo com a necessidade de cada indivíduo, fármacos são adicionados ao tratamento. Esta

adição considera o benefício que cada medicamento oferece, ou seja, visa utilizar aqueles com menores probabilidades de efeitos adversos (SBC, 2010).

Estes medicamentos utilizados no tratamento da HAS são chamados de anti-hipertensivos e estes não devem apenas reduzir a PA, mas também os eventos cardiovasculares fatais (SBC, 2010). Os anti-hipertensivos atuam sob um ou mais dos seguintes parâmetros fisiológicos envolvidos no controle da PA: a) resistência vascular periférica total (RVPT), b) o débito cardíaco (DC), c) volume sistólico (VS) e d) frequência cardíaca (FC) (OATES e BROWN, 2010). ). Exemplos de medicamentos anti-hipertensivos encontram-se no QUADRO 1.

QUADRO 1: Classificação farmacológica dos fármacos utilizados no tratamento da hipertensão (continua).

|  |
|--|
| <p><i>Diuréticos</i></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Diuréticos de Alça:</b> furosemida, bumetamida, piretamida.</li><li>2. <b>Tiazídicos:</b> hidroclorotiazida, clortalidona, indapamida</li><li>3. <b>Diuréticos poupadores de potássio:</b> espirolactona, triantereno, amilorida</li></ol> <p><i>Antagonistas dos canais de cálcio</i></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Fenilalquilaminas:</b> verapamil</li><li>2. <b>Benzotiazepinas:</b> diltiazem</li><li>3. <b>Diidropiridinas:</b> anlodipino, lacidipino, lercanidipino, manidipino, nifedipino, nisoldipino, nitrendipino, felodipino, isradipino</li></ol> <p><i>Inibidores adrenérgicos:</i></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Betabloqueadores:</b> bisoprolo, carvedilol*, metoprolol, nadolol, nebivolol**, pindolol, atenolol, propranolol</li><li>2. <b>Alfabloqueadores:</b> terazosina, prazosina, doxazosina</li><li>3. <b>Ação central:</b> alfametildopa, clonidina, guanabenz, monoxidina, rilmenidina</li></ol> <p><i>Vasodilatadores de ação direta</i></p> <p>hidralazina, minoxidil</p> <p><i>Inibidores da enzima conversora de angiotensina</i></p> <p>delapril, perindopril, captopril, enalapril, lisinopril, ramipril, cilazapril, benazepril, trandolapril, quinapril, fosinopril</p> |
|--|

QUADRO 1: Classificação farmacológica dos fármacos utilizados no tratamento da hipertensão (continuação).

|   |
|---|
| <i>Inibidores do receptore AT<sub>1</sub></i>                               |
| losartana, valsartana, irbesartana, candesartana, telmisartana, olmesartana |
| <i>Inibidor direto da renina</i>  |
| Alisquireno   |

\*Alfa-1 e betabloqueador adrenérgico, \*\* Betabloqueador e liberador de óxido nítrico. Adaptado de: SBC, 2010.

A causa do aumento de PA na maioria dos pacientes (90% dos casos de hipertensão) permanece desconhecida e por isso, a patologia é denominada hipertensão arterial primária. Acredita-se que essa síndrome seja, na realidade, poligênica e que as influências ambientais desempenhem papel importante na manifestação final do fenótipo (OPARIL et al, 2003).

Para melhor estudar este tipo de hipertensão Okamoto e Aoki em 1963 introduziram um modelo experimental, os ratos espontaneamente hipertensos – SHR. Este modelo foi desenvolvido através do cruzamento entre animais de mesma prole, resultando em animais naturalmente portadores de hipertensão em 100% dos descendentes. A semelhança entre a hipertensão humana e a dos SHR, inclui: a) predisposição genética sem etiologia específica, b) aumento da resistência periférica total e c) igual resposta a tratamentos com drogas (FAZAN et al, 2006).

Por ser um modelo de hipertensão experimental, sabe-se que os SHR quando comparados ao seu controle Wistar-Kyoto (WKY) possuem um aumento de 30% na pressão arterial média (PAM). Além de alterações vasculares, pois no primeiro e segundo ramos de artérias mesentéricas de resistência os vasos estão 23% mais espessos, 34% mais contraídos e demonstram menor resposta ao fator hiperpolarizante derivado do endotélio (FHDE) (MULVANY e HALPERN, 1976). Sabe ainda que o um aumento da atividade simpática e da atividade simpática renal em SHR é que são a principal via na patogênese do estado hipertensivo (GRISK e RETING, 2004). Entretanto, assim como a hipertensão essencial em humanos, a HAS em SHR, possui causa desconhecida (RUMMERY e HILL, 2004).

### 1.3 Contração e Relaxamento do Músculo Liso Vascular

O processo de acoplamento excitação–contração ocorre por dois mecanismos principais: eletromecânico e farmacomecânico, ambos, por meio de diferentes vias moleculares aumentam o nível intracelular de cálcio (REMBOLB, 1996).

O acoplamento eletromecânico tem início com a despolarização da membrana plasmática devido à entrada de íons, que alteram o gradiente eletroquímico e promovem a abertura de canais para cálcio dependentes de voltagem. Este evento permite a difusão de cálcio extracelular para o interior da célula, obedecendo ao gradiente de concentração (NELSON et al, 1990). Dois tipos de canais para cálcio foram descritos no músculo liso vascular: tipo L (*long lasting*) e tipo T (*transient*). Havendo uma preponderância dos canais do tipo L, estes estão envolvidos no processo tipo de acoplamento eletromecânico. Sua ativação ocorre devido à despolarização da membrana celular e a desativação por meio da repolarização ou hiperpolarização (ALBERNETHY e SOLDATOV, 2002).

O acoplamento farmacomecânico independe da despolarização celular, mas envolve a interação de agonistas com seus receptores acoplados a proteína G na membrana plasmática (PAIVA e FARIAS, 2005). Após ativação desta proteína há fosforilação de fosfolipases celulares, estas enzimas hidrolizam o fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato associado à membrana, liberando o inositol 1,4,5 trisfosfato (IP<sub>3</sub>) e o diacilglicerol (DAG), que atuam em diferentes alvos (BERRIDGE, 1993). O DAG ativa a proteína quinase C (PKC), responsável pelo aumento da condutância iônica dos canais transmembranais para cálcio (do tipo L) e para potássio. A PKC também modula a sensibilidade do aparato contrátil ao cálcio. Por outro lado, o IP<sub>3</sub> liga-se aos receptores de membrana do retículo sarcoplasmático, causando a liberação de cálcio para o citoplasma celular (PAIVA e FARIAS, 2005). O influxo de cálcio para o interior da célula também pode ocorrer através dos canais para cálcio operados por receptores (ROCs), esse influxo é favorecido pelo gradiente de concentração do íon, uma vez que o cálcio encontra-se em maiores concentrações no meio extracelular (NILSSON et al, 1994).

Após aumento do cálcio intracelular ocorre ligação de quatro íons à proteína calmodulina (Ca<sup>2+</sup>-calmodulina), este complexo liga-se á quinase da cadeia leve da miosina (MLCK). Resultando em alteração da conformação e deslocando a sequência autoinibitória da MLCK,

ativando a quinase e causando a fosforilação da miosina. Esta fosforilação permite o deslizamento dos filamentos de miosina sobre a actina (REMBOLD, 1996).

Por outro lado, no músculo em repouso os sítios de ligação da actina com a miosina estão obstruídos pelo complexo tropomiosina-caldesmon, localizado ao longo dos filamentos finos. A mudança de conformação do caldesmon (induzida pela  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina) libera o complexo tropomiosina-caldesmon, desbloqueando os sítios de ligação da actina e permitindo a formação do complexo actomiosina (HOROWITZ, 1996). Portanto, o desenvolvimento de tensão do músculo liso depende da ativação da miosina pela fosforilação direta e da ativação da actina pela desinibição causada pela saída do complexo tropomiosina-caldesmon (HOROWITZ, 1996; REMBOLD, 1996; PAIVA e FARIAS, 2005).

O relaxamento do músculo liso vascular ocorre através de ações contrárias àquelas responsáveis pela contração. Estas ações reduzem a concentração intracelular de cálcio com consequente dissociação do complexo calmodulina-MLCK. O processo ocorre por meio do sequestro de cálcio pelo retículo sarcoplasmático, extrusão pelas cálcio ATPases da membrana plasmática e desfosforilação da miosina pela enzima fosfatase da cadeia leve da miosina, reduzindo o número de pontes actina-miosina (REMBOLD, 1996). Além disso, a dessensibilização ao cálcio também é um mecanismo indutor do relaxamento, que ocorre quando o músculo é tratado com agentes que elevam o nível de nucleotídeos intracelulares, tais como forskolin, isoproterenol e nitroprussiato de sódio (LINCOLN e COMWELL, 1991).

#### **1.4 Considerações Sobre Plantas Medicinais**

O uso de espécies vegetais com finalidades terapêuticas é uma prática antiga que surgiu da necessidade humana em adaptar e modificar os recursos naturais para seu próprio benefício (SCHULZ; HANSEL e TYLER, 2002). Nos dias atuais o emprego destas plantas como fonte de recurso terapêutico ainda persiste (DI STASI, 1996). E mesmo que poucos destes vegetais tenham eficácia, segurança e mecanismos de ação conhecidos, cerca de 80% da população já usou alguma planta na busca de alívio de alguma sintomatologia desagradável (VORA e MANSOOR, 2005; OLIVEIRA; SIMÕES e SASSI, 2006). Vale também ressaltar que em algumas comunidades, a utilização destas é um dos únicos recursos na prevenção e tratamento de enfermidades (MACIEL; DIAS e MEDEIROS 2004). Foi este hábito que norteou o tratamento

farmacológico de doenças, bem como o surgimento da produção de medicamentos a partir de fontes naturais (SCHULZ; HANSEL e TYLER, 2002).

Através de uma perspectiva histórica existem relatos do uso de plantas medicinais a mais de 2000 anos, por isso, não seria contra-senso admitir que muitas destas, possuem ações específicas e estão livres de efeitos colaterais perigosos (SCHULZ; HANSEL e TYLER, 2002). Caso contrário, o conhecimento sobre suas indicações e efeitos não persistiriam. Entretanto, para utilização racional de espécies vegetais como medicamentos, é necessário um maior avanço científico da pesquisa farmacológica. Pois estes avanços proporcionariam também a avaliação de substâncias com propriedades curativas atribuídas à planta e sua transformação em produtos medicinais seguros (PACHU, 2007).

Vale ressaltar que 40% dos fármacos empregados atualmente foram desenvolvidos de fontes naturais, destes 25% são de plantas (CALIXTO, 2003). Como exemplo de medicamentos que surgiram através de estudos com plantas, pode-se citar: a) morfina, um hipnoanalgésico, preparado dos bulbos de *Papaver somniferum*; b) os alcalóides vincristina e vimblastina, provenientes da *Catrananthus roseus*, utilizados como quimioterápicos (VIEGAS, BOLZANI e BARREIRO, 2006); c) quinina, extraída da casca da árvore *Cinchona*, empregada como antimalárico; d) digoxina, glicosídeo cardiotônico proveniente da planta *Digitalis lanata* e usada na insuficiência cardíaca e e) reserpina proveniente do arbusto *Rauwolfia serpentina*, utilizada no tratamento da hipertensão leve e moderada (BARREIRO, 1990; FARNSWORTH, 1990; SVENDSEN e SCHEFFER, 1992; SCHULZ; HANSEL e TYLER, 2002; KOROLKOVAS e BURKHALTER, 2008).

No Brasil e no mundo o uso de plantas medicinais como tratamento alternativo de doenças como as que atingem o sistema cardiovascular cresce significativamente. Com base nestes dados, diversos vegetais têm sido estudados com objetivos de fornecer bases científicas para tais aplicações e ampliar o arsenal terapêutico de doenças como a hipertensão (BASTOS et al, 2009). Como exemplos podemos citar a *Curcuma longa* L., empregada no tratamento da HAS pela população e utilizada como corante e flavorizante de alimentos no sul da Ásia e África. Tem sua ação hipotensora, bradicárdica e vasorelaxante comprovadas em ratos (ADARAMOYE e MEDEIROS, 2008). Outro exemplo é o diterpeno pimarane ácido *ent*-pimara-8(14),15-dien-19-oic isolado das raízes da *Vigüeira arenaria*, empregada pela população javanesa como anti-hipertensiva, promove relaxamento em anéis de carótida e de aorta isoladas de rato, indicando

que o ácido pode levar a redução da pressão por diminuir a resistência vascular periférica (HIPÓLITO et al, 2009). Além de *Sida cordifolia*, planta comum no nordeste brasileiro, conhecida como “Malva Branca” é utilizada pela população no tratamento de diversas doenças. Estudos observaram que a fração aquosa do extrato hidroalcoólico das folhas da planta em questão foi capaz de causar efeito hipotensor associado à bradicardia (MEDEIROS et al, 2006). Vale ressaltar que os mecanismos pelos quais os exemplos citados exercem suas ações ainda são investigados.

### 1.5 A Família Myrtaceae e *Syzygium cumini*

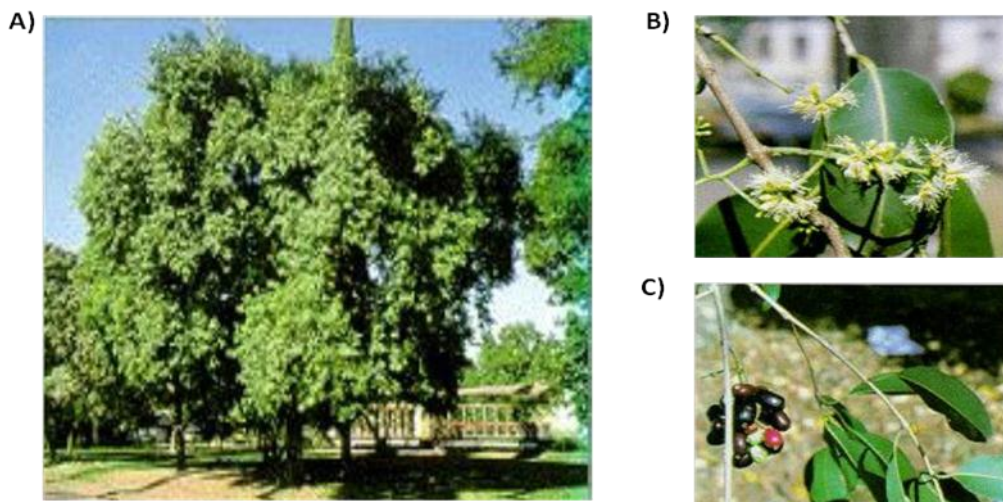
A família Myrtaceae compreende cerca de 100 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos distribuídas pelo mundo (GRESSLER; PIZO e MORELLATO, 2006). Inúmeras espécies desta família são utilizadas pela população, como, *Psidium guajava* (Goiaba) tem suas folhas utilizadas como: antibacteriana, antiinflamatória, agente estimulante e no tratamento de hemorragias, diarreias e de infestações de vermes intestinais (GUPTA, 1995). A pitanga, *Eugenia uniflora*, empregada para redução de colesterol, ácido úrico, hipertensão, como adstringente digestivo e para emagrecer (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al. 1987). O óleo essencial extraído das folhas dos conhecidos araçazeiros do nordeste, *Psidium guianensis* e *Psidium pohlianum* possuem ações anticonvulsivante, analgésica e antiinflamatória, comprovadas em animais (RIBEIRO, 2007).

A espécie estudada, *Syzygium cumini* (L.) Skeels (*S. cumini*), (FIGURA 1) conhecida popularmente como “Brinco de viúva” ou “Jamelão”, pertence à família das Myrtaceae. É originária da Índia, entretanto, adaptou-se muito bem às condições de solo e clima do Brasil, tornando-se espécie subespontânea na região Nordeste (AGOSTINI-COSTA e DA SILVA, 2008). A árvore pode chegar até 10 metros de altura e possui flores creme ou brancas, com pétalas arredondadas. Apresentam fruto com semente única e grande, envolta por uma polpa carnosa (CRAVEIRO; ANDRADE e MATOS, 1983). Inicialmente foi nomeada como *Eugenia jambolana* Lam (BHATIA; BAJAJ; GHANGAS, 1971) e possui como sinonímias científicas os nomes, *Calyptantes caryophyllaefolia* D.C, *Calyptantes jambolana* Willd., *Eugenia glomerata* Sieb., *Eugenia moorei* Mull., *Eugenia jambos* L., *Jambolifera pendunculata* Hoult., *Syzygium*



*caryofolium* D.C., *Syzygium jambos* Mills., *Jambosa vulgaris* D.C., *Caryophyllus jambos* Stokes., e *Syzygium jambolanum* D.C. (POZETTI, 1989; MORTON, 1987).

FIGURA 1 - Foto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels.



(A), flores (B) e (C) frutos.

*S. cumini* tem suas sementes aplicadas na terapêutica homeopática sob a forma de tintura. Enquanto que na alopatia é utilizada em casos de leucorréia e constipação (POZETTI, 1989), ainda como hipoglicemiante e antimicrobiano (MUTHU et al, 2006; KUMAR et al, 2009), antiinflamatório (MURUGANANDAN et al, 2001), antialérgico (KIM et al, 1998) e para reduzir a pressão arterial em pacientes hipertensos (AQUINO, 2009; SILVA et al, 2012). Alguns destes empregos possuem comprovação científica.

Extratos de *S. cumini* apresentaram potencial antimicrobiano em diferentes espécies do gênero *Candida* (HÖFLING et al, 2010), ação antialérgica (BRITO et al, 2007) e antiinflamatória (SLOWING et al, 1994; COSTA; 1999; LIMA et al, 2007).

O efeito hipoglicemiante do chá das folhas de *S. cumini* foi observado em modelos clínicos e pré-clínicos em pacientes diabéticos tipo II. Os resultados não foram sugestivos de que *S. cumini* possa apresentar efeito hipoglicemiante em paciente com diabetes tipo II (TEXEIRA, 2000). Entretanto, estudos indicam que no diabetes induzido por aloxana em ratos, a planta demonstra efeito hipoglicemiante (FLORES et al, 1998).

A fração clorofórmica extraída das sementes de jambolão alterou de maneira geral o padrão de comportamento de animais experimentais, além de antagonizar as ações tóxicas das

anfentaminas, o que indica que o extrato possui ações depressoras no SNC (CHAKRABORTY; MAHAPATRA; CHAUDHURI 1986).

Cirqueira e Alves (2005) realizaram experimento em ratos normotensos Wistar anestesiados, para observar o efeito sob a pressão arterial e o volume urinário após a administração via orogástrica do extrato aquoso das folhas de *S. cumini* durante 90 minutos. Os autores constataram que o extrato possuía ação diurética e hipotensora. Com propósito de também avaliar o efeito hipotensor Jiménez (1995), avaliou o efeito da administração endovenosa de doses da fração acetato de etila do extrato aquoso das folhas em cães, os estudos demonstraram ação hipotensora associada à bradicardia, no entanto sem qualquer efeito direto do extrato com a resistência periférica. Também foi observado que o efeito hipotensor e bradicárdico poderiam estar relacionados a uma ativação de quimiorreceptores cardiopulmonares e não excluiu também a probabilidade de uma ação direta no músculo cardíaco (JIMÉNEZ, 1996).

Outro estudo sobre o efeito de jambolão sobre o sistema cardiovascular avaliou a resposta hipotensora do extrato de suas folhas. Neste foi observado que em ratos normotensos o extrato promoveu redução da PA após duas semanas de tratamento oral e que o efeito poderia ser devido à redução da resistência vascular. Pois o extrato promoveu ação vasorelaxante, em aorta e artéria mesentérica superior, provavelmente através de um antagonismo dos canais de cálcio (RIBEIRO, 2007).

Diante da confirmação de que diferentes extratos das folhas de *S. cumini* possuem ações cardiovasculares, aliado ao grande potencial de aproveitamento na obtenção de fármacos que o gênero em questão possui e principalmente ao uso popular de preparações envolvendo o fruto da planta no tratamento da hipertensão arterial, o presente trabalho foi desenvolvido com fins de investigar as ações sobre o sistema cardiovascular do extrato hidroalcoólico dos frutos de *S. cumini* (EHFSC).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar os efeitos cardiovasculares induzidos pelo extrato hidroalcoólico e frações hexânica e metanólica dos frutos de *S. cumini* através de uma abordagem *in vivo* e *in vitro*.

### 2.2 Específicos

- Testes *in vivo*

- Caracterizar os efeitos de EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre a PA e FC em ratos Wistar e SHR não-anestesiados;
- Elucidar os possíveis mecanismos de ação implicados nos efeitos *in vivo* induzidos por EHFSC em ratos Wistar através do uso de ferramentas farmacológicas específicas;
- Caracterizar os efeitos subcrônicos da administração oral do EHFSC sobre a PA e FC em ratos SHR.

- Testes *in vitro*

- Avaliar o efeito de EHFSC sobre artéria mesentérica superior isolada de rato Wistar;
- Elucidar os possíveis mecanismos de ação implicados nos efeitos *in vitro* induzidos por EHFSC em ratos Wistar através do uso de ferramentas farmacológicas específicas.

### 3 MATERIAL

#### 3.1 Obtenção do Extrato hidroalcoólico e Frações Hexânica e Metanólica dos Frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels

Os extratos foram obtidos do Laboratório de Pesquisa Química e Recursos Naturais da UFAL (LPqRN). Os frutos de *S.cumini* foram coletados em maio de 2009 na cidade de Maceió – AL. A espécie foi devidamente identificada pela botânica Flávia de Barros Prado Moura. Uma exsicata do material botânico encontra-se depositada no Herbário Professor Honório Monteiro (MUFAL), sob n.º de registro MUFAL 4080.

Para obtenção do extrato hidroalcoólico de *S. cumini* (EHFSC) foram coletados de 4.600 g de frutos, posteriormente, separados em polpa (950 g, após secagem) e sementes (1.150 g, após secagem). A polpa foi submetida a um processo de extração utilizando solução hidroalcoólica a 70%, sob forte agitação em ciclos de meia hora cada. O extrato foi seco sob pressão reduzida em evaporador rotatório e após tal processo, foram obtidos 38,13 g de extrato hidroalcoólico da polpa. A partir desse procedimento obteve-se por partição líquido-líquido as frações metanólica (FMFSC) e hexânica (FHFSC), utilizando-se respectivamente metanol e hexano.

#### 3.2 Animais

Foram utilizados para realização dos experimentos ratos machos Wistar e SHR pesando entre 250 e 350 g. Estes animais foram provenientes do Biotério Central e mantidos no Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisa Experimental (NUCIEEX) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), foram submetidos às condições controlada de temperatura ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas (6-18 horas) sem restrição de ração e água. Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL (CEP), certidão número 009715/08-34.

### 3.3 Drogas e Reagentes

Foram utilizadas para a realização dos experimentos: tiopental sódico (Cristália), sal sódico de heparina (Roche). Da Sigma: cloridrato de L (-) fenilefrina (FEN), sulfato de atropina, cloridrato de acetilcolina (ACh), nitroprussiato de sódio (NPS), N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina-metil éster (L-NAME), hexametônio, indometacina (INDO). As soluções estoques de indometacina foram dissolvidas juntamente com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) em água destilada. As demais substâncias foram dissolvidas em água destilada (experimentos *in vitro*) ou salina (experimentos *in vivo*).

### 3.4 Soluções Nutritivas

Para a preparação das soluções nutritivas foram utilizadas as seguintes substâncias da Merck: cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), sulfato de magnésio hepta-hidratado (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O), cloreto de magnésio hexa-hidratado (MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O), glicose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>). Da Vetec: bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>), fosfato de sódio mono-hidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O), fosfato dissódico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), fosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (da VETEC). Na solução despolarizante de Tyrode com cloreto de potássio a 20 mM ou a 80 mM a concentração de Na<sup>+</sup> foi isosmoticamente alterada. As tabelas a seguir mostram as composições das mesmas:

TABELA 1 - Composição da solução nutritiva Tyrode.

| <b>Substância</b>                                  | <b>Concentração (mM)</b> |
|--|--------------------------|
| NaCl   | 158,3                    |
| KCl  | 4,0                      |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O               | 2,0                      |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O               | 1,05                     |
| NaHCO <sub>3</sub>                                 | 10,0                     |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O | 0,42                     |
| C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>      | 5,6                      |

TABELA 2 - Composição da solução despolarizante de Tyrode com cloreto de potássio a 80 mM.

| <b>Substância</b>                                  | <b>Concentração (mM)</b> |
|--|--------------------------|
| NaCl   | 78,3                     |
| KCl  | 80,0                     |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O               | 2,0                      |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O               | 1,05                     |
| NaHCO <sub>3</sub>                                 | 10,0                     |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O | 0,42                     |
| C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>      | 5,6                      |

TABELA 3 - Composição da solução de Tyrode com cloreto de potássio a 20 mM.

| <b>Substância</b>                                  | <b>Concentração (mM)</b> |
|--|--------------------------|
| NaCl   | 138,3                    |
| KCl  | 20,0                     |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O               | 2,0                      |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O               | 1,05                     |
| NaHCO <sub>3</sub>                                 | 10,0                     |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O | 0,42                     |
| C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>      | 5,6                      |

## 4 MÉTODO

### 4.1 Ensaio Farmacológicos

Foram utilizadas dois tipos de abordagens: uma com ensaios farmacológicos *in vivo*, utilizando animais Wistar e SHR íntegros, e outra com ensaios farmacológicos *in vitro*, utilizando artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar.

### 4.2 Ensaio Farmacológicos e Protocolos Experimentais *in vivo*

#### 4.2.1 Medida direta da pressão arterial e frequência cardíaca em ratos não anestesiados

Brevemente, antes da realização dos experimentos, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (45 mg/kg, i.p.). E cateteres de polietileno (PE), um segmento de PE-10 (diâmetro interno e externo de 0,28 e 0,61 mm, respectivamente) soldado a um segmento de PE-50 (diâmetro interno e externo de 0,58 e 0,96 mm, respectivamente) preenchidos com solução salina heparinizada (1 : 10 v/v) foram implantados na aorta abdominal e na veia cava inferior, via artéria e veia femoral esquerdas, respectivamente. Após a inserção e fixação, os cateteres foram tunelizados subcutaneamente e exteriorizados, através de uma incisão na região cervical posterior do animal. Para os experimentos em que a ação anti-hipertensiva do extrato foi avaliada, apenas a artéria femoral esquerda foi canulada. Após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos em gaiolas individuais.

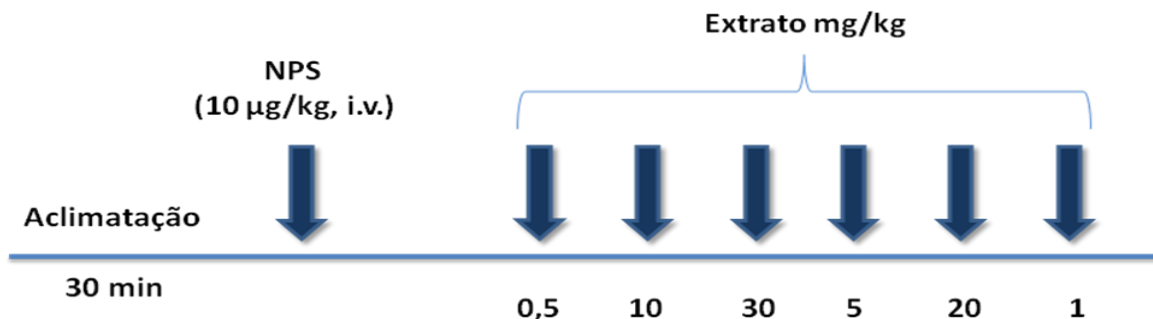
Para o registro das pressões arteriais e FC, após um período de recuperação de 24 horas, o peso dos animais foi verificado e o cateter aórtico foi conectado a um transdutor de pressão (BLPR, AECAD, SP, Brasil) pré-calibrado, que estava acoplado a um amplificador (Modelo 04P, AECAD, SP, Brasil) e conectado a um micro-computador equipado com uma placa conversora analógico-digital e o software AQCAD (AVS Projetos, SP, Brasil). A frequência escolhida para amostragem dos dados foi 500 Hz. Para cada ciclo cardíaco, o computador calculava a pressão arterial sistólica, diastólica, média e o intervalo de pulso (referido como frequência cardíaca). O cateter venoso foi utilizado para administração das drogas. Após os experimentos os animais foram sacrificados com tiopental sódico (i.v.).



#### 4.2.2 Avaliação do efeito do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre PAM e FC em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos não anestesiados

Para obtenção de uma curva dose-resposta controle os animais foram mantidos em aclimação por um período de no mínimo 30 minutos, assim os parâmetros cardiovasculares foram estabilizados. Em seguida administrou-se NPS (10 mg/kg, i.v.) afim de verificar a eficácia da implantação do cateter venoso. Após o retorno dos parâmetros hemodinâmicos, diferentes doses dos extratos (EHFSC, FM ou FH) foram administradas (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg) de forma randômica, com intervalos de tempo suficiente para que os parâmetros cardiovasculares retornassem aos valores basais (FIGURA 2).. Os valores de PAM e FC foram computados antes (valores da linha de base) e imediatamente após a administração das substâncias, e suas variações foram expressas em porcentagem, para cada dose, calculadas por meio das fórmulas (equação 1 e 2). Cada tipo de extrato foi administrado como protocolo distinto.

FIGURA 2 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação dos efeitos cardiovasculares do EHFSC sobre PAM e FC em ratos Wistar não anestesiados.



$$1) \text{ Resposta (\%)} = \frac{(\text{PAM depois} - \text{PAM antes}) \times 100}{\text{PAM antes}}$$

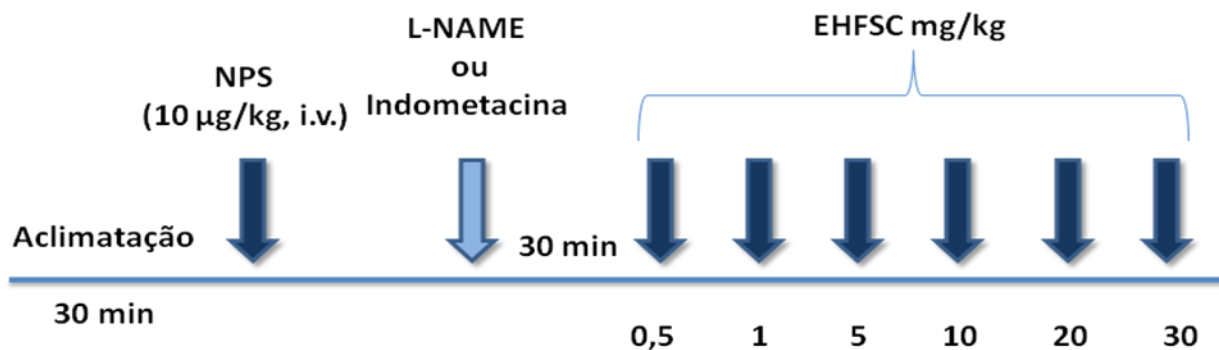
ou

$$2) \text{ Resposta FC (\%)} = \frac{(\text{FC depois} - \text{FC antes}) \times 100}{\text{FC antes}}$$

#### 4.2.3 Avaliação da influência dos fatores relaxantes derivados do endotélio, sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pela administração de doses crescentes do EHFSC em ratos não anestesiados

Após um registro controle como descrito no item 4.2.2, os animais foram pré-tratados com um inibidor competitivo da NO-sintase (NOSe) (L-NAME 20 mg/kg, i.v.) (REES et al., 1990) ou com um inibidor da ciclo-oxigenase (COX) (INDO 3 mg/kg, i.v.) (CLARK; FUCHS, 1997) e após cerca de 30 minutos após, diferentes doses de EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20; e 30 mg/kg, i.v.) foram administradas (FIGURA 3). Mudanças na PAM e na FC induzidas por EHFSC foram comparadas antes (valores basais) e após o tratamento com os respectivos bloqueadores.

FIGURA 3 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da influência dos fatores relaxantes derivados do endotélio.

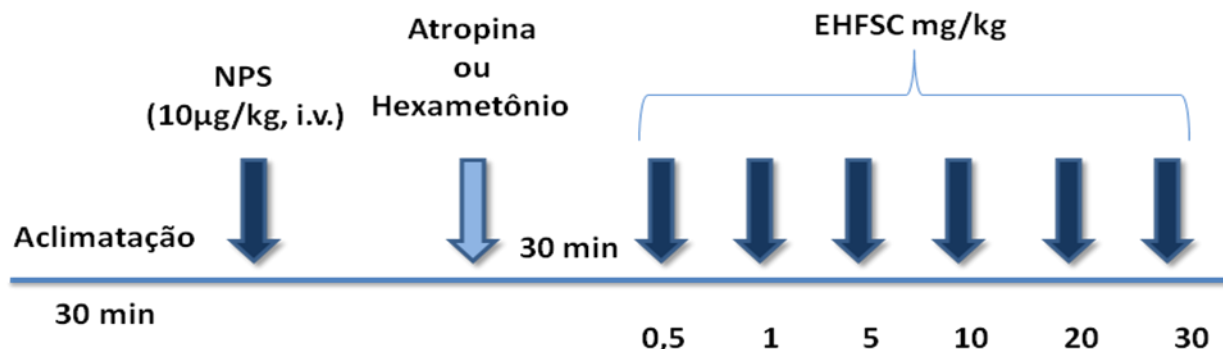


Avaliação sobre a resposta hipotensora e bradicárdica de EHFSC em ratos não anestesiados, após bloqueio com L-NAME (20 mg/kg, i.v.) ou indometacina (3 mg/kg, i.v.),

#### 4.2.4 Avaliação da participação dos receptores muscarínicos e ganglionares na resposta hipotensora e bradicárdica induzida pelo EHFSC em ratos anestesiados

Após um registro controle, os animais foram tratados com atropina (2 mg/kg, i.v.), um antagonista não-seletivo dos receptores muscarínicos (MITCHELSON, 1984) ou com um bloqueador ganglionar hexametônio (30 mg/kg, i.v.) (TAKAHASHI; OWYANG, 1997). Após 15 minutos, um novo registro foi obtido com EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) (FIGURA 4).

FIGURA 4 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação dos receptores muscarínicos e ganglionares.

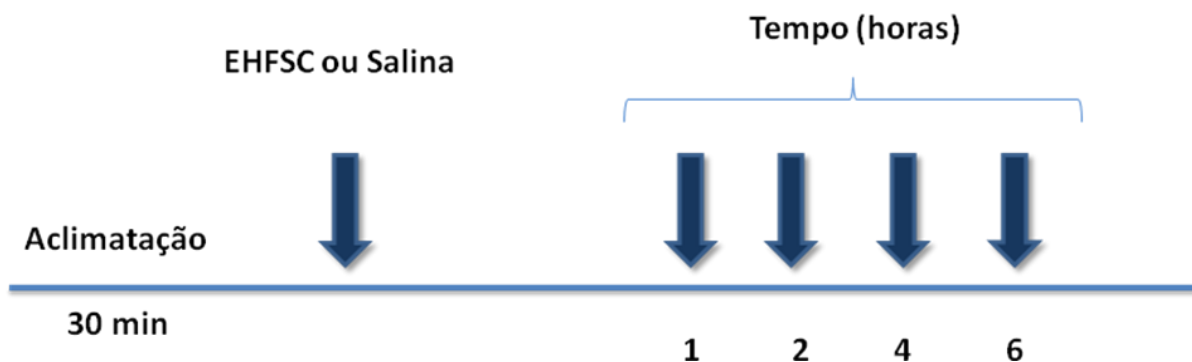


Avaliação do efeito do EHFSC sobre PAM e FC em ratos não anestesiados após bloqueio com atropina (2 mg/kg, i.v.) e com hexametônio (30 mg/kg, i.v.).

#### 4.2.5 Avaliação da atividade anti-hipertensiva

Para avaliar a atividade anti-hipertensiva os animais foram divididos em cinco grupos: a) Grupo salina – animais SHR tratados apenas salina, b) Grupo tratado 1 – SHR tratados com dose única do EHFSC de 100 mg/kg, v.o., c) Grupo tratado 2 – SHR tratados com dose única de 200 mg/kg, v.o. do EHFSC, d) Grupo tratado 3 – SHR tratados com dose única de 500 mg/kg, v.o. do EHFSC e e) Grupo normotenso – ratos um único grupo de ratos normotensos que receberam dose única de 200 mg/kg, v.o. do EHFSC. Para isto, valores da PA e FC foram registrados antes (valores de base) e durante 6 horas após o tratamento. E a porcentagem de redução de PA e FC foram calculadas. Os valores de base foram considerados como 100% da atividade. (FIGURA 5) Os efeitos da administração do EHFSC foram comparados com aqueles obtidos do Grupo salina..

FIGURA 5 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da atividade anti-hipertensiva.



Avaliação após administração de salina ou do EHFSC (100; 200 ou 500 mg/kg, v.o.) sobre PAM e FC em ratos não anestesiados.

### 4.3 Ensaios Farmacológicos e Protocolos *in vitro*

#### 4.3.1 Preparações com artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Ratos Wistar foram sacrificados por secção dos vasos cervicais, em seguida, através de uma incisão no abdômen do animal, foi retirada a artéria mesentérica superior. Anéis do primeiro segmento da artéria (1 - 2 mm) foram obtidos livres de tecido conectivo e adiposo, mantidos em cubas contendo 5 mL de solução nutritiva Tyrode (pH = 7,4) a 37° C e aeradas com uma mistura carbogênica (95 % de O<sub>2</sub> e 5 % de CO<sub>2</sub>). Os anéis foram suspensos por linhas de algodão, as quais estavam fixas a um transdutor de força (AECAD 1604, AVS Projetos, Brasil) acoplado a um sistema de aquisição de dados (DATAQ, AVS Projetos, SP, Brasil) para o registro das contrações isométricas. Cada anel foi submetido a uma tensão constante de 0,5 g por um período de no mínimo 60 min. Durante este tempo, as soluções nutritivas foram trocadas a cada 15 min. para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970).

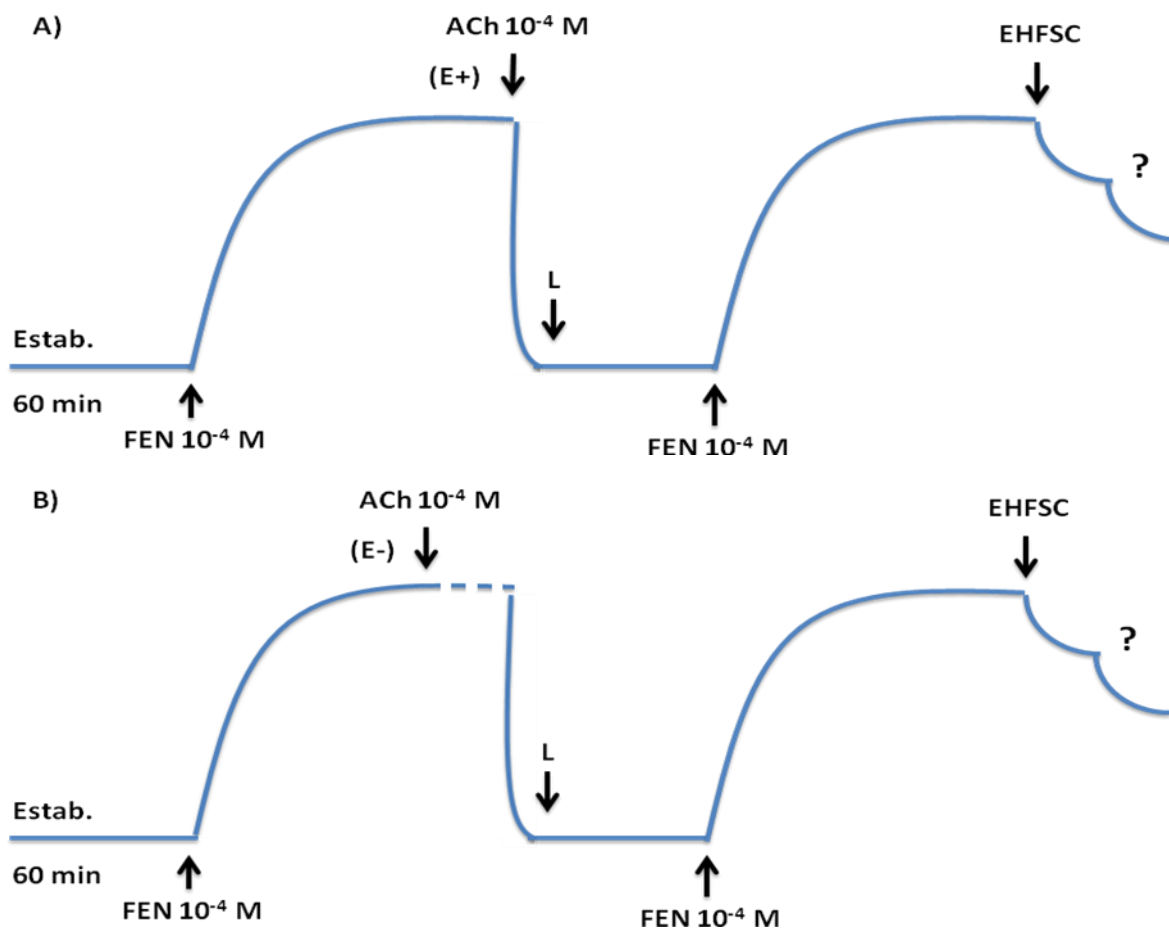
A presença ou ausência do endotélio funcional foi verificada pela habilidade, medida em porcentagem (%), da ACh (10<sup>-4</sup> M) em relaxar os anéis pré-contraídos com 10<sup>-4</sup> M de FEN. Foram considerados com endotélio funcional, os anéis que apresentaram relaxamentos superiores a 70% sobre a pré-contracção induzida com FEN. Já os anéis com relaxamentos inferiores a 10% foram considerados sem endotélio funcional (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Os anéis com relaxamentos entre 10 e 70% foram descartados. Quando necessário os anéis sem endotélio funcional foram obtidos através do atrito mecânico entre a haste e as paredes internas do vaso.

#### 4.3.2 Efeito de EHFSC sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar, pré-contraídos com FEN na presença ou ausência de endotélio

Após um período de estabilização (Estab.) de 1 hora foram induzidas duas contrações similares com FEN (10<sup>-4</sup> M) e após obtenção da estabilização da terceira contração tônica (40 minutos), o EHFSC (1; 10; 50; 100; 500 e 1000 µg/mL) foi adicionado ao meio de maneira cumulativa (FIGURA 6). Para os experimentos realizados sob pré-contracção com FEN, o relaxamento foi expresso como a porcentagem reversa da contração produzida pela FEN na presença ou na ausência do endotélio vascular. Os valores de CE<sub>50</sub> foram obtidos como descrito

no item 4.4. Os valores de  $pD_2$  ( $-\log CE_{50}$ ) foram obtidos dos valores de  $CE_{50}$  de cada experimento.

FIGURA 6 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito relaxante induzido por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato Wistar.



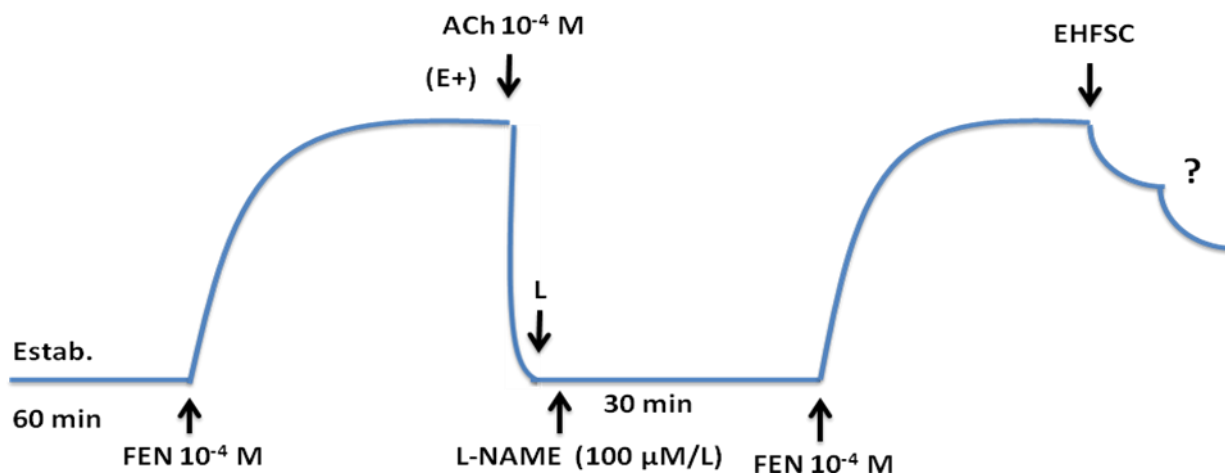
Adição de EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) após contração com FEN ( $10^{-4}$  M) na presença (A) e ausência (B) do endotélio funcional (Estab = estabilização; L=lavagem, E<sup>+</sup>= endotélio intacto e E<sup>-</sup>= endotélio desnudo).

#### 4.3.3 Efeito de L-NAME sobre a resposta relaxante induzida pelo EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Após a verificação da integridade do endotélio vascular, através da metodologia anteriormente descrita no item 4.3.1, as preparações de anéis de artéria mesentérica foram incubadas com L-NAME (100  $\mu\text{M}/\text{L}$ ). Após 30 minutos uma nova contração tônica com FEN

( $10^{-4}$  M) foi obtida e concentrações do EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) foram adicionadas ao meio de maneira cumulativa (FIGURA 7). As curvas concentração-resposta para estas condições experimentais foram comparadas com aquelas obtidas na ausência do bloqueador. Os valores de  $CE_{50}$  foram obtidos como descrito no item 4.4. Os valores de  $pD_2$  ( $-\log CE_{50}$ ) foram obtidos dos valores de  $CE_{50}$  de cada experimento.

FIGURA 7 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação da síntese de NO no efeito relaxante do EHFSC.



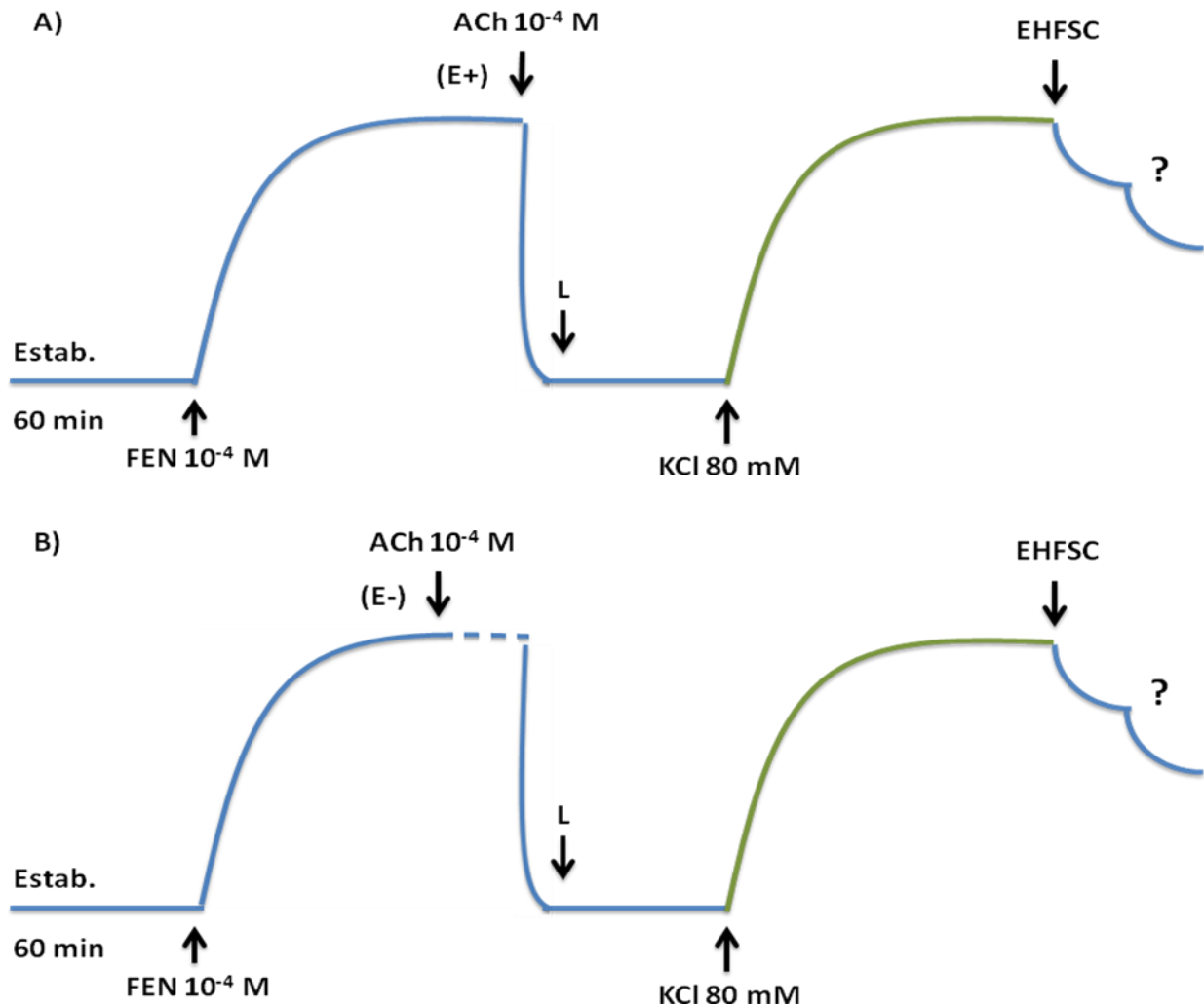
Anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato pré-incubados com L-NAME (100  $\mu\text{M}$ ) antes da contração induzidas por FEN e adição do EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ), na presença do endotélio funcional (Estab = estabilização; L=lavagem e  $E^+$  = endotélio intacto).

#### 4.3.4 Efeito do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Após a verificação da ausência ou presença do endotélio funcional, o meio nutritivo de cada preparação foi trocado por uma solução com elevada concentração de  $K^+$  (KCl 80 mM). O processo foi repetido com o objetivo de se obter duas concentrações com magnitude similar para o KCl 80 mM. No componente tônico e sustentado da segunda contração, em média 40 minutos para a estabilização foram adicionadas a cuba concentrações crescentes do EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) de maneira cumulativa (FIGURA 8). O relaxamento foi expresso como porcentagem reversa da contração produzida por KCl 80 mM na presença ou ausência do endotélio vascular.

Os valores de  $CE_{50}$  foram obtidos como descrito no item 4.4. Os valores de  $pD_2$  ( $-\log CE_{50}$ ) foram obtidos dos valores de  $CE_{50}$  de cada experimento.

FIGURA 8 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito relaxante do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM.

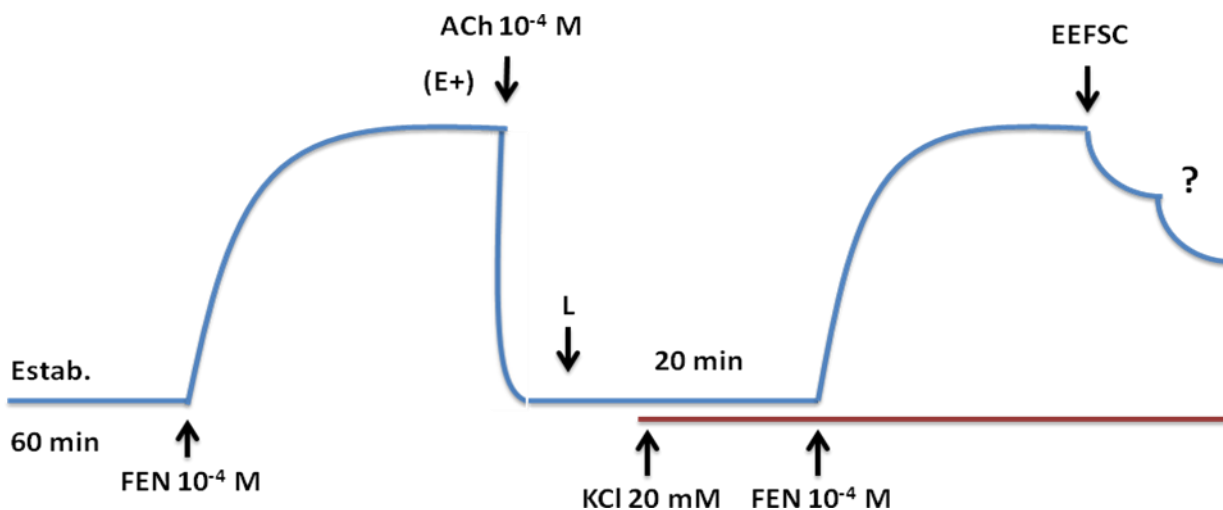


EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) foi adicionado à preparações de anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato após contração com KCl 80 mM, na presença (A) e ausência (B) do endotélio funcional (Estab = estabilização; L=lavagem, E<sup>+</sup>= endotélio intacto e E<sup>-</sup>= endotélio desnudo).

#### 4.3.5 Verificação da participação dos canais para $K^+$ na resposta relaxante induzida por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Após a verificação da presença do endotélio funcional, a solução de Tyrode presente nas cubas foi substituída pela solução de Tyrode com 20 mM de KCl e as preparações permaneceram nesta solução até o final do experimento. Após 30 minutos era induzida uma nova contração tônica com FEN ( $10^{-4}$  M) e, em seguida, uma curva concentração-resposta cumulativa para EHFSC era obtida. O relaxamento obtido na presença de KCl 20 mM foi comparado com o relaxamento obtido na ausência do mesmo. O relaxamento foi expresso como a porcentagem reversa da contração inicial produzida pela FEN. Os valores de  $CE_{50}$  foram obtidos como descrito no item 4.4. Os valores de  $pD_2$  ( $-\log CE_{50}$ ) foram obtidos dos valores de  $CE_{50}$  de cada experimento.

FIGURA 9 - Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação dos canais para  $K^+$ , no o efeito vasorelaxante do EHFSC.



Protocolo realizados com anéis de artéria mesentérica isolados de rato com endotélio funcional intacto, na presença de KCl 20 mM. O EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) foi adicionado após contração com FEN  $10^{-4}$  M (Estab = estabilização; L=lavagem e  $E^+$ = endotélio intacto).



#### 4.4 Análises Estatísticas

Os resultados obtidos neste estudo foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m). Foram realizados testes “t” de Student não-pareados, para análise de diferença entre todas as médias e ANOVA “one way” seguida do pós-teste de Bonferroni.

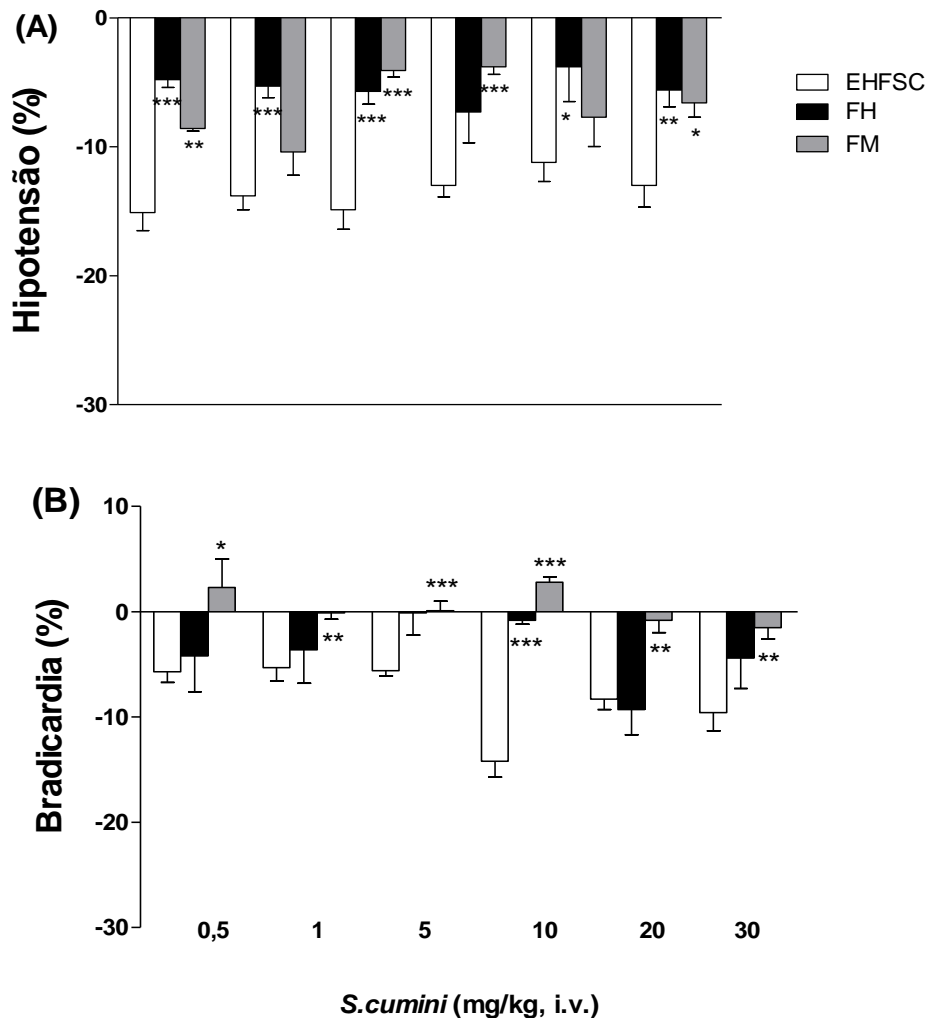
Para estudar vasorrelaxante induzido por EHFSC dois parâmetros farmacológicos foram analisados: o  $E_{m\acute{a}x}$  que corresponde à média percentual de relaxamento do EHFSC para cada condição estudada e  $CE_{50}$  concentração capaz de induzir 50% de uma resposta máxima que foi representada por seu logaritmo  $pD_2$  (-Log  $CE_{50}$ ) esta foi obtida através de regressão não-linear. Através destes parâmetros farmacológicos a eficácia e potência do efeito vasorrelaxante do EHFSC, respectivamente, foram avaliados. As diferenças entre as médias foram consideradas significantes quando valor obtido para “p” foi menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ). Toda a análise estatística e plotagem das curvas foram realizadas utilizando o programa Graph-Pad Prism 5.0<sup>®</sup>.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Efeitos do EHFSC e frações hexânica e metanólica sobre PAM e FC em ratos Wistar e SHR não anestesiados

Em ratos Wistar EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20; e 30 mg/kg, i.v.) promoveu hipotensão ( $-15,1 \pm 1,4\%$ ;  $-13,8 \pm 1,1\%$ ;  $-14,9 \pm 1,5\%$ ;  $-13 \pm 0,9\%$ ;  $-11,2 \pm 1,5$  e  $-13 \pm 1,7\%$ , respectivamente), associada a bradicardia ( $-5,7 \pm 1\%$ ;  $-5,3 \pm 1,3\%$ ;  $-5,6 \pm 0,5\%$ ;  $-14 \pm 1,5\%$ ;  $-8,3 \pm 1\%$  e  $-9,6 \pm 1,7\%$ , respectivamente) de maneira não dependente de dose .

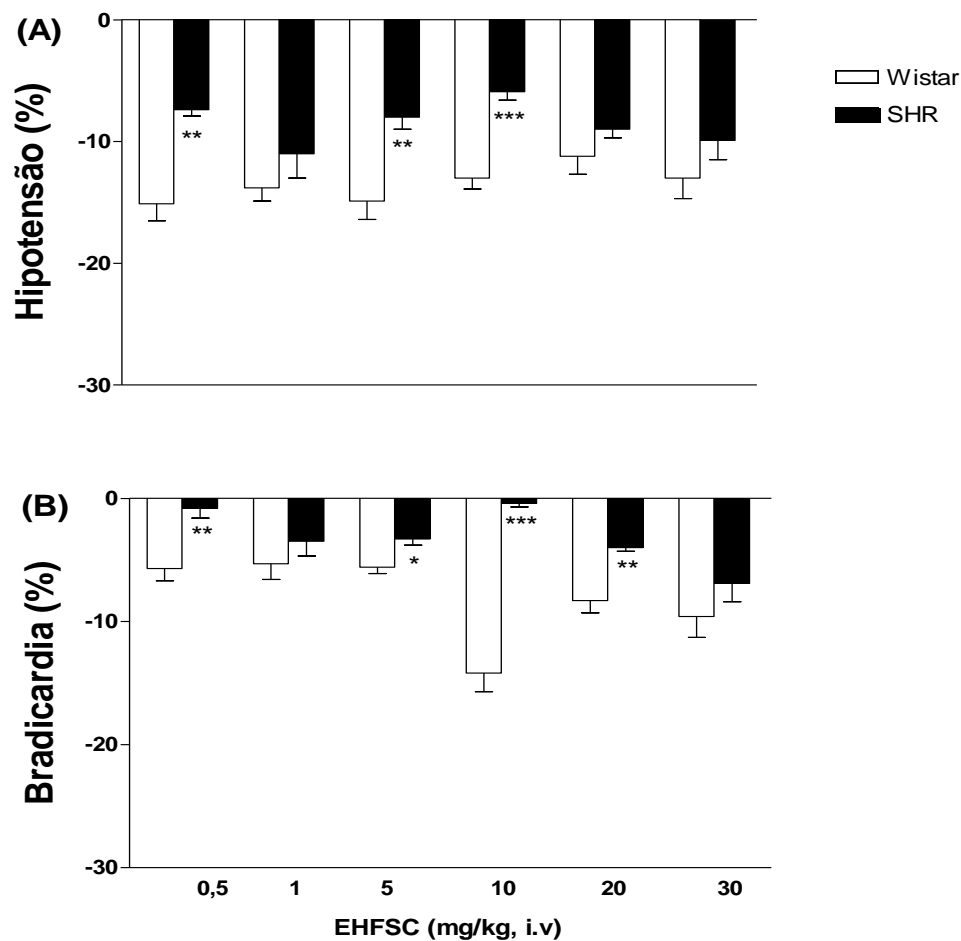
Entretanto, FM ( $-8,6 \pm 0,2\%$ ;  $-10,4 \pm 1,8\%$ ;  $-4,1 \pm 0,5\%$ ;  $-3,8 \pm 0,6\%$ ;  $-7,7 \pm 2,3\%$  e  $-6,6 \pm 1,1\%$ , respectivamente) bem como FH ( $-4,8 \pm 0,6\%$ ;  $-5,3 \pm 0,9\%$ ;  $-5,7 \pm 1\%$ ;  $-7,3 \pm 2,4\%$ ;  $-3,8 \pm 2,7\%$  e  $-5,6 \pm 1,3\%$ , respectivamente) induziram uma pequena hipotensão. Além disso, FM não induziu efeito bradicárdico ( $2,3 \pm 2,7\%$ ;  $-0,1 \pm 0,6\%$ ;  $0,1 \pm 0,9\%$ ;  $2,8 \pm -0,5\%$ ;  $0,8 \pm 1,2\%$  e  $-1,5 \pm 1,1\%$ , respectivamente), diferente de FH que também induziu bradicardia ( $-4,2 \pm 3,4\%$ ;  $-3,6 \pm 3,2\%$ ;  $0,1 \pm 2,1\%$ ;  $-0,8 \pm -0,4\%$ ;  $-9,3 \pm 2,4\%$  e  $-4,4 \pm 2,9\%$ , respectivamente) (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1– Efeito do EHFSC e frações hexânica e metanólica dos frutos de *S.cumini* sobre a PAM e FC em ratos Wistar

Efeito hipotensor (A) e bradicárdico (B) induzidos pela administração aguda de doses crescentes de EHFSC; FH e FM (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em animais não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 *versus* EHFSC.

O EHFSC também induziu hipotensão ( $-7,4 \pm 0,5\%$ ;  $-11 \pm 2\%$ ;  $-8 \pm 1\%$ ;  $-5,9 \pm 0,7\%$ ;  $-9 \pm 0,7\%$  e  $-9,9 \pm 1,6\%$ , respectivamente) e bradicardia ( $-0,8 \pm 0,8\%$ ;  $-3,5 \pm 2\%$ ;  $-3,3 \pm 0,5\%$ ;  $-0,4 \pm 0,3\%$ ;  $-4,0 \pm 0,3\%$  e  $-6,9 \pm 1,5\%$ , respectivamente) em SHR. Entretanto, estes efeitos foram mais reduzidos nesta cepa de animais (GRÁFICO 2).

GRÁFICO 2 – Efeito do EHFSC sobre a PAM e FC em ratos Wistar e SHR.

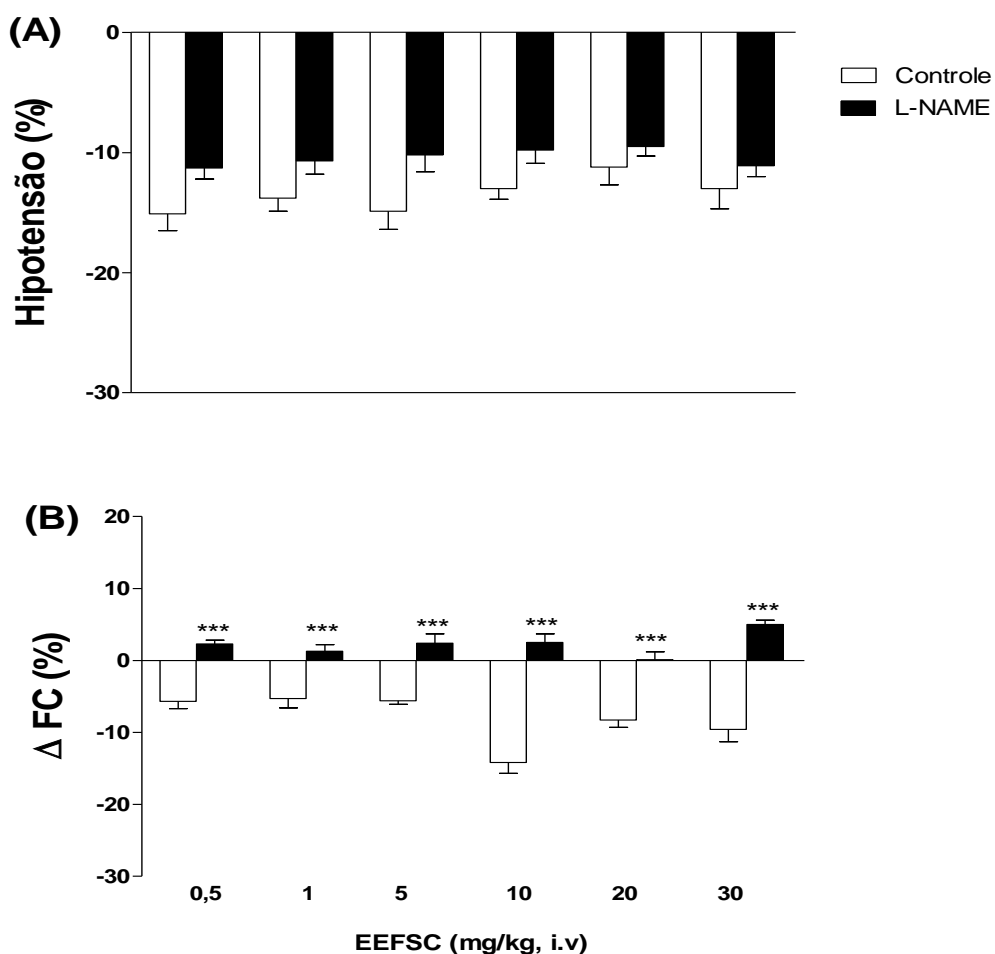


Efeito hipotensor (A) e bradicárdico (B) induzidos pela administração aguda de doses crescentes do EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em animais não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 *versus* Wistar.

## 5.2 Avaliação da participação dos fatores relaxantes derivados do endotélio sobre a resposta hipotensora e bradicárdica do EHFSC em ratos Wistar não anestesiados

Após a administração do bloqueador L-NAME (20 mg/kg, i.v.), apenas o efeito bradicárdico foi atenuado significativamente ( $2,3 \pm 0,5\%$ ;  $1,3 \pm 0,9\%$ ;  $2,4 \pm 1,3\%$ ;  $2,5 \pm 1,2\%$ ;  $0,1 \pm 1,1\%$  e  $5 \pm 0,6\%$ , respectivamente) (GRÁFICO 3).

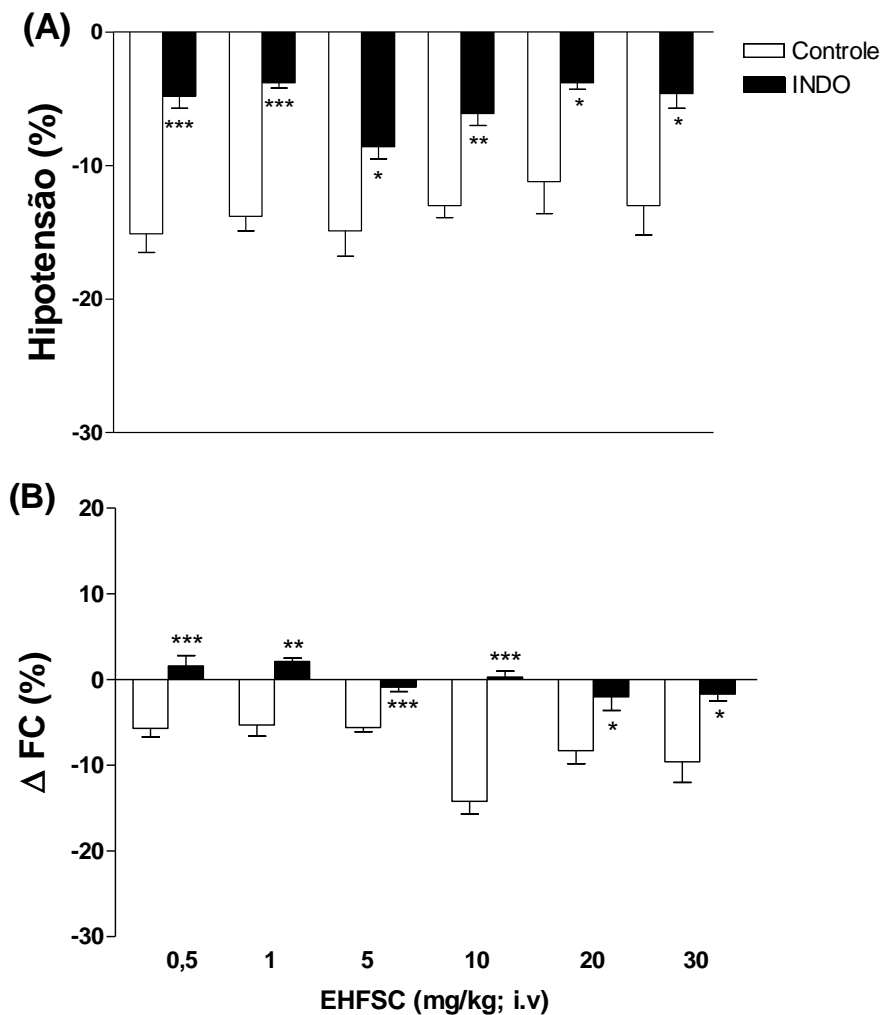
GRÁFICO 3 – Efeito do L-NAME sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC.



Efeito do L-NAME (20 mg/kg, i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \*\*\*  $p < 0,001$  versus controle.

O GRÁFICO 4 representa o efeito da administração das doses do EHFSC, após administração de INDO (3 mg/kg, i.v.). Observa-se atenuação significativa das respostas hipotensora ( $-4,8 \pm 0,9\%$ ;  $-3,8 \pm 0,4\%$ ;  $-8,6 \pm 0,9\%$ ;  $-6,1 \pm 0,9\%$ ;  $-3,8 \pm 0,5\%$  e  $-4,6 \pm 1,1\%$ , respectivamente) e bradicárdica ( $1,6 \pm 1,2\%$ ;  $2,1 \pm 0,4\%$ ;  $-0,9 \pm 0,5\%$ ;  $-2,0 \pm 1,6\%$  e  $-1,7 \pm 0,8\%$ , respectivamente).

GRÁFICO 4 – Efeito da indometacina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC.

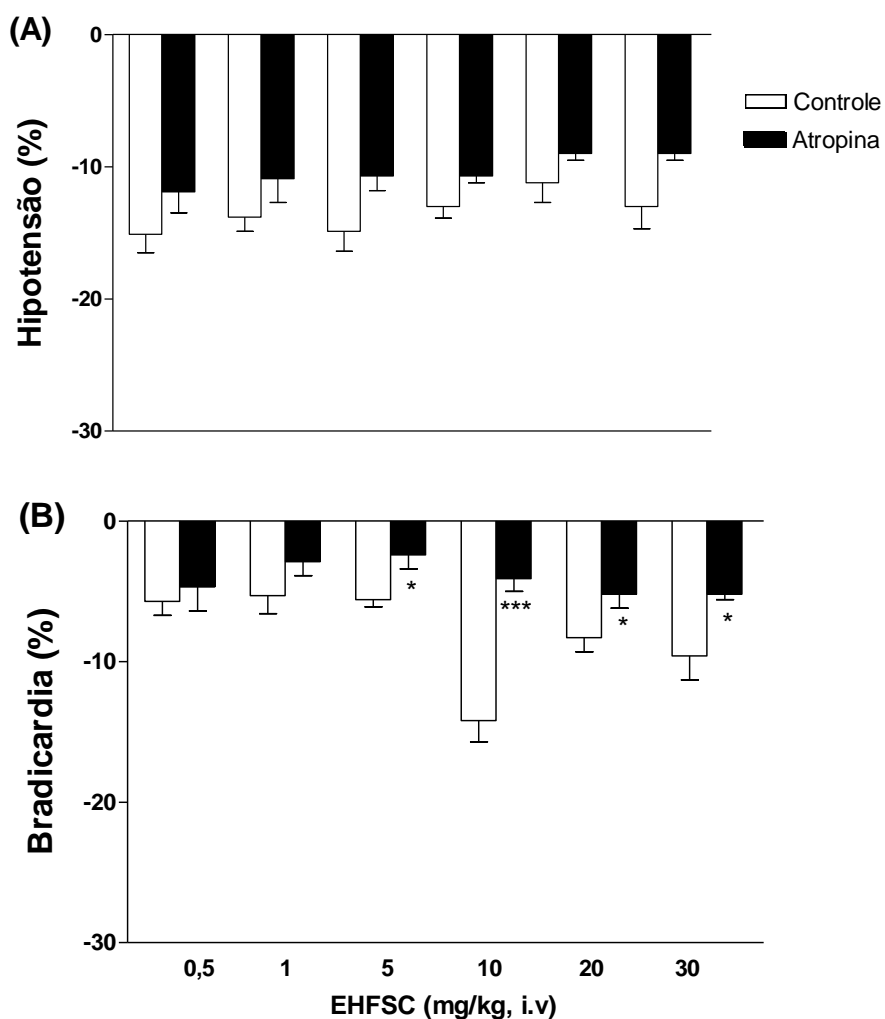


Efeito da indometacina (3 mg/kg, i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 *versus* controle.

### 5.3 Efeito do bloqueio dos receptores muscarínicos e ganglionares na hipotensão e bradicardia induzida por EHFSC em ratos Wistar não anestesiados

Na presença de atropina (2 mg/kg, i.v.) não houve alterações na resposta hipotensora, enquanto que a bradicardia foi atenuada a partir da dose de 5 mg/kg ( $-2,4 \pm 1\%$ ;  $-4,1 \pm 0,9\%$ ;  $-5,2 \pm 1\%$  e  $-5,2 \pm 0,4\%$ , respectivamente) (GRÁFICO 5).

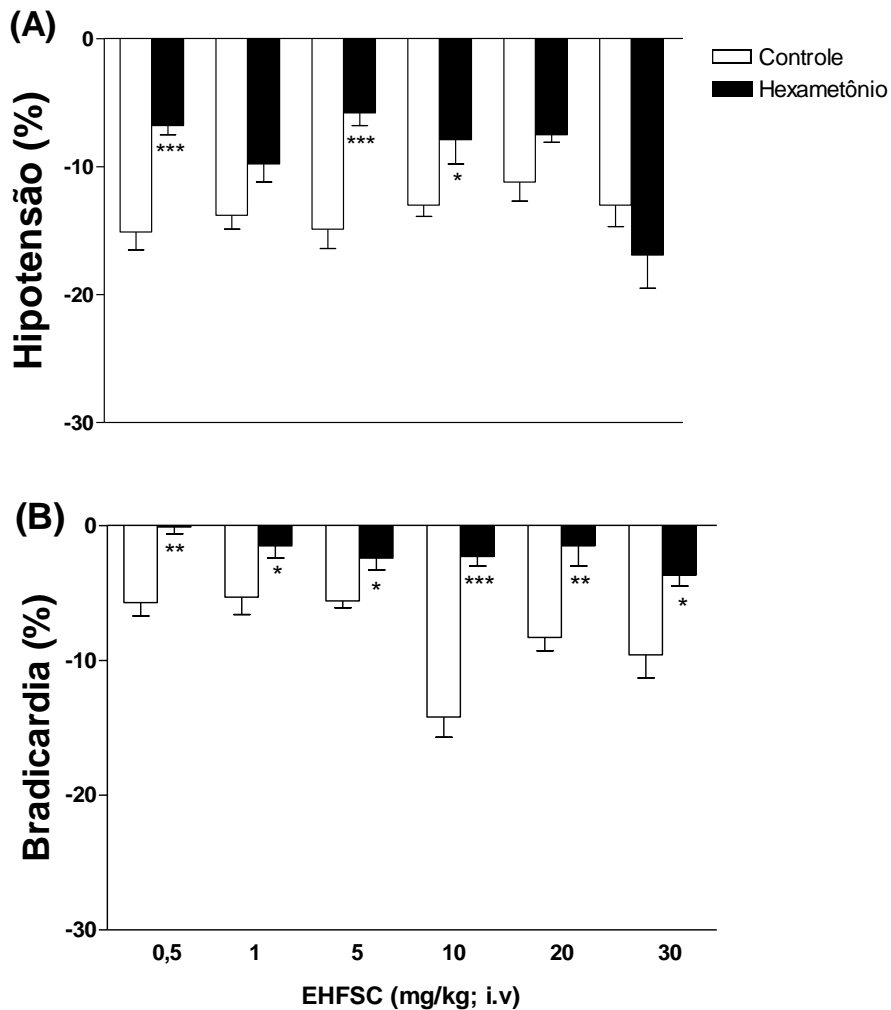
GRÁFICO 5 – Efeito da atropina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC.



Efeito da atropina (2 mg/kg, i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \*  $p < 0,05$  e \*\*\*  $p < 0,001$  versus controle.

Após administração hexametônio (30 mg/kg, i.v.), nas doses de 0,5; 5 e 10 mg/kg houve redução significativa do efeito hipotensor ( $-6,8 \pm 0,7$ ;  $-5,8 \pm 1$  % e  $-7,9 \pm 1,9$ %, respectivamente) e redução da bradicardia em todas as doses ( $-0,1 \pm 0,5$ %;  $-1,5 \pm 0,9$ %;  $-2,3 \pm 0,7$ %;  $1,5 \pm 1,5$ % e  $3,7 \pm 0,8$ %, respectivamente) (GRÁFICO 6).

GRÁFICO 6 – Efeito do hexametônio sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHFSC.



Efeito do hexametônio (30 mg/kg, i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHFSC (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \* p < 0,05, \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 *versus* controle.



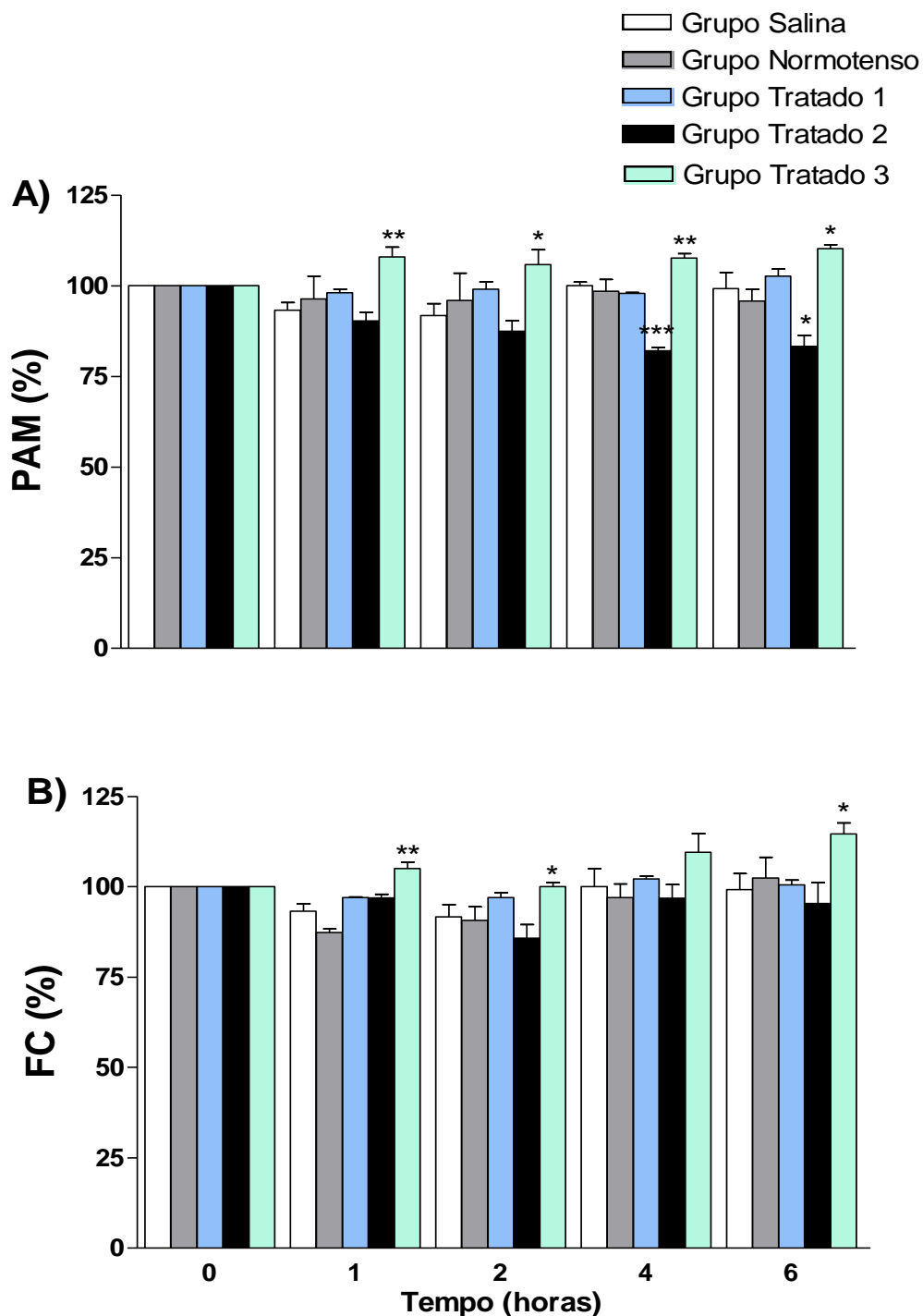
#### 5.4 Avaliação da atividade anti-hipertensiva do EHFSC

Nesta série de experimentos observamos que o EHFSC apresentou efeito anti-hipertensivo dependente de dose.

No Grupo Tratado 1, quando comparados ao Grupo Salina, a PAM ( $98 \pm 1\%$ ;  $99 \pm 2,1\%$ ;  $97,9 \pm 0,3\%$  e  $102,6 \pm 2\%$ , respectivamente) e FC ( $97 \pm 0,1\%$ ;  $97 \pm 1,4\%$ ;  $102,1 \pm 0,8\%$  e  $100,5 \pm 1,3\%$ , respectivamente) não foram alteradas. Enquanto que no Grupo Tratado 2, após 4h de administração do EHFSC observamos redução na PAM ( $90,3 \pm 2,3\%$ ;  $87,4 \pm 3\%$ ;  $82 \pm 1\%$  e  $83,3 \pm 3\%$ , respectivamente), sem alterar a FC ( $96,9 \pm 1\%$ ;  $85,8 \pm 3,8\%$ ;  $96,8 \pm 3,8\%$  e  $95,4 \pm 5,8\%$ , respectivamente).

No entanto, após administração do EHFSC o Grupo Tratado 3 foi observado efeito hipertensivo ( $108 \pm 2,6\%$ ;  $105,8 \pm 4,1\%$ ;  $107,6 \pm 1,3$  e  $110,2 \pm 1,1\%$ , respectivamente) seguido de taquicardia na primeira, segunda e sexta hora ( $105 \pm 1,8\%$ ;  $100 \pm 1,2\%$ ;  $109,5 \pm 5,2\%$  e  $114,6 \pm 3\%$ , respectivamente). O EHFSC não apresentou efeito na PAM no Grupo Normotenso. Após o tempo do experimento os valores de PAM e FC retornaram aos valores de base (FIGURA 7).

GRÁFICO 7 – Efeito anti-hipertensivo do EHFSC.

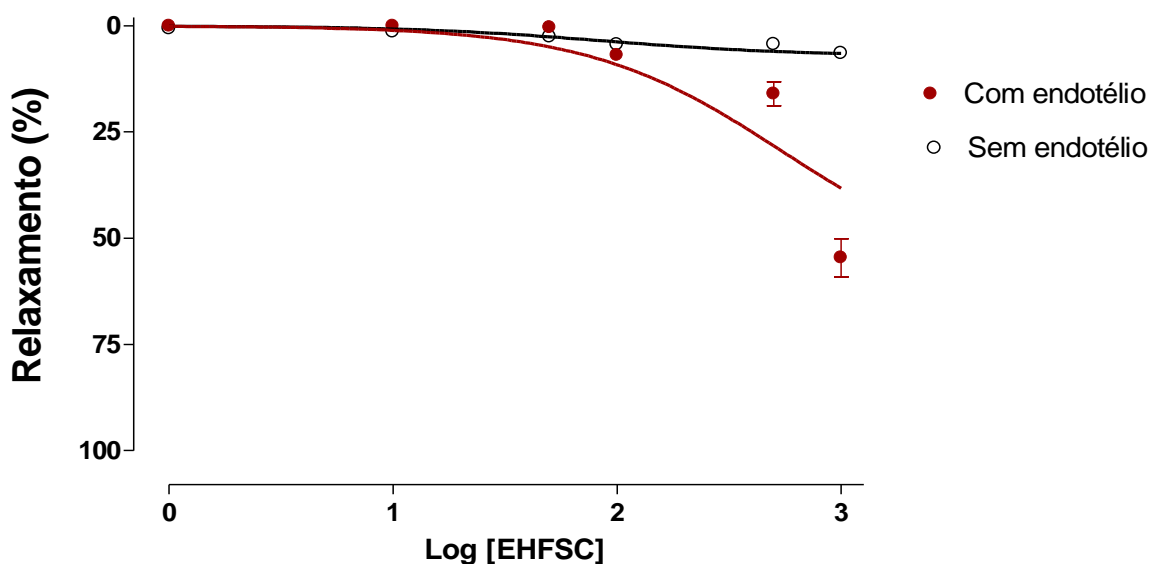


Efeito na PAM e FC após administração de salina (Grupo salina) e após a administração de EHFSC (100; 200 ou 500 mg/kg, v.o.) Grupo tratado 1, Grupo tratado 2 e Grupo tratado 3, respectivamente. E em ratos wistar (Grupo normotensos). Valores estão expressos como média ± e.p.m. \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 vs Grupo salina.

### 5.5 Efeito do EHFSC sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com fenilefrina na presença e ausência de endotélio funcional

O EHFSC (1; 10; 50; 100; 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) antagonizou de maneira dependente de concentração as contrações induzidas por FEN ( $10^{-4}$  M) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com endotélio funcional ( $E_{\text{máx}} = 54,61 \pm 4,48$  % e  $\text{pD}_2 = 2,74 \pm 0,1$   $\mu\text{g/mL}$ ). O mesmo efeito relaxante não foi observado nas preparações em que o endotélio foi removido mecanicamente ( $E_{\text{máx}} = 6,41 \pm 0,66$  %) (GRÁFICO 8 e TABELA 4). Após o experimento controle as preparações foram lavadas por 40 minutos e uma nova contração com FEN ( $10^{-4}$  M) foi induzida para verificação da reversão do relaxamento induzido por EHFSC. Em todas as preparações houve reversão da resposta (Dados não mostrados).

GRÁFICO 8 – Efeito do extrato em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraído com FEN.

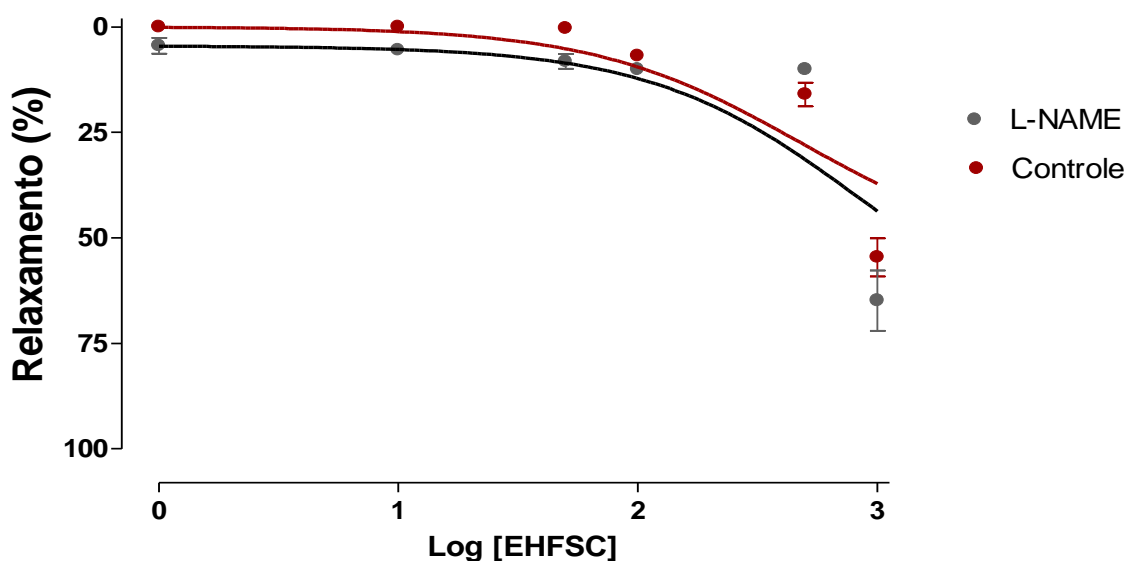


Efeito do EHFSC (1; 10; 50; 100; 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolado de rato Wistar, com endotélio intacto (●) e sem endotélio (○) pré-contraídos com  $10^{-4}$  M de FEN (n = 5).

### 5.6 Avaliação da participação da via do NO na resposta relaxante induzida pelo EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Em anéis com endotélio funcional intacto pré-incubados com L-NAME (100  $\mu$ M) a resposta relaxante após adição cumulativa do EHFSC (1 – 1000  $\mu$ g/mL)  $E_{\text{máx}} = 64,85 \pm 7,17 \%$ , e  $pD_2 = 2,92 \pm 0,12$   $\mu$ g/mL não diferiu daquelas obtidas na ausência do bloqueador (GRÁFICO 9 e TABELA 4).

GRÁFICO 9 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior na presença de L-NAME.



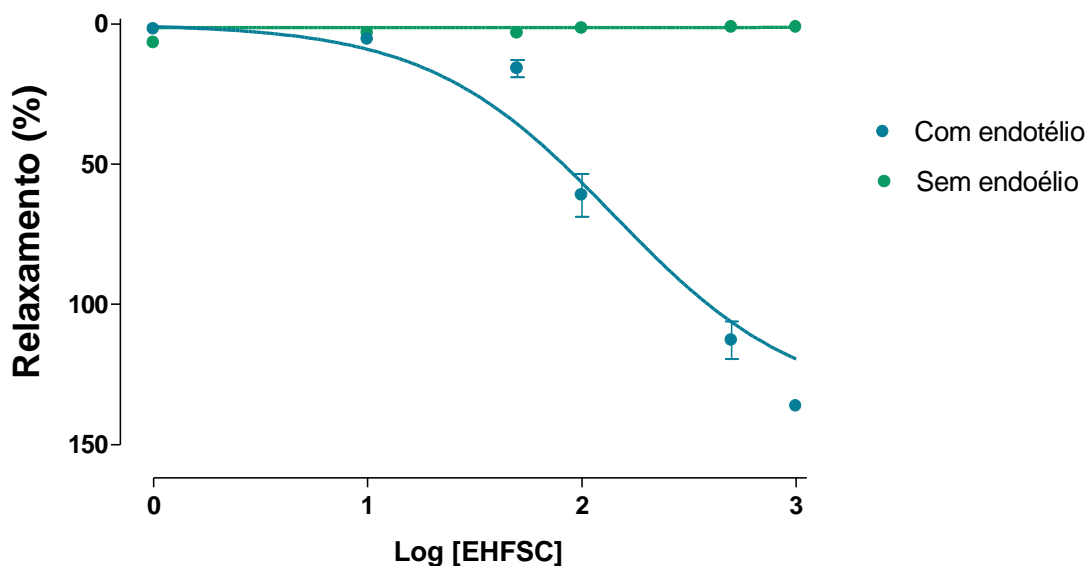
Efeito do EHFSC (1 – 1000,0  $\mu$ g/mL) em anéis de artéria mesentérica superior isolado de rato Wistar, com endotélio intacto pré-contraídos com FEN ( $10^{-4}$  M), na ausência control (●) e na presença de 100  $\mu$ M de L-NAME (●) (n = 5). Os valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m.

### 5.7 Efeito do EHFSC sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

A adição cumulativa do EHFSC (1 – 1000  $\mu$ g/mL) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato sem endotélio vascular, pré-contraídos com o agente despolarizante KCl 80 mM, não promoveu resposta relaxante significativa. Entretanto, nas preparações com endotélio funcional intacto, EHFSC promoveu um potente efeito vasorrelaxante dependente de

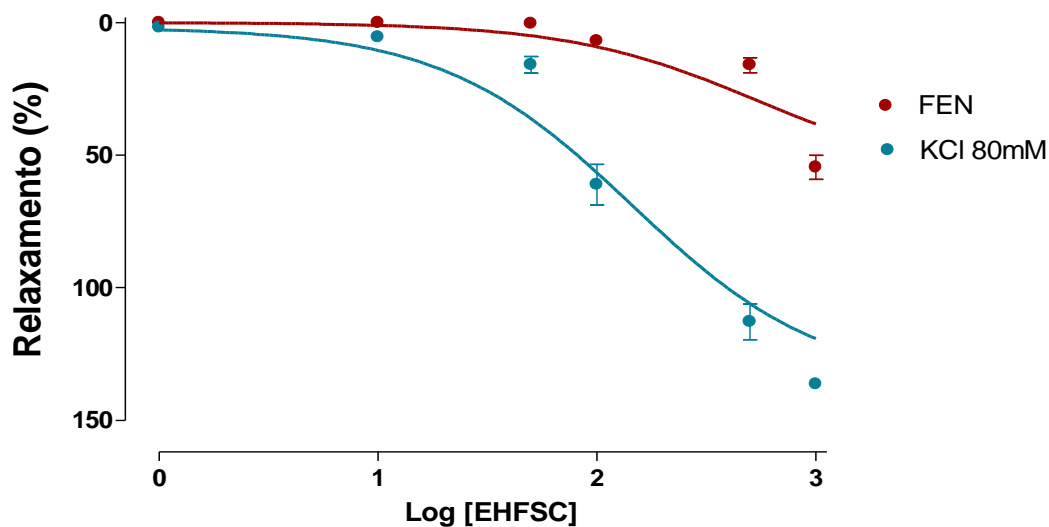
concentração com  $pD_2 = 2,16 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$  e  $E_{m\acute{a}x} = 136,04 \pm 0,24 \%$ , respectivamente (GRÁFICO 10 e TABELA 4). Quando comparados os efeitos vasorrelaxantes de anéis pré-contraídos com FEN ( $10^{-4}$  M) e KCl (80 mM), observou-se um efeito mais potente e mais eficaz em anéis contraído com a solução despolarizante (GRÁFICO 11) (TABELA 4).

GRÁFICO 10 – Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraído com KCl 80 mM.



Efeito do EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolado de rato Wistar, com endotélio intacto (●) e sem endotélio (●) pré-contraídos com solução despolarizante de KCl 80 mM (n = 5).

GRÁFICO 11 – Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior pré-contráido com FEN e KCl 80 Mm.

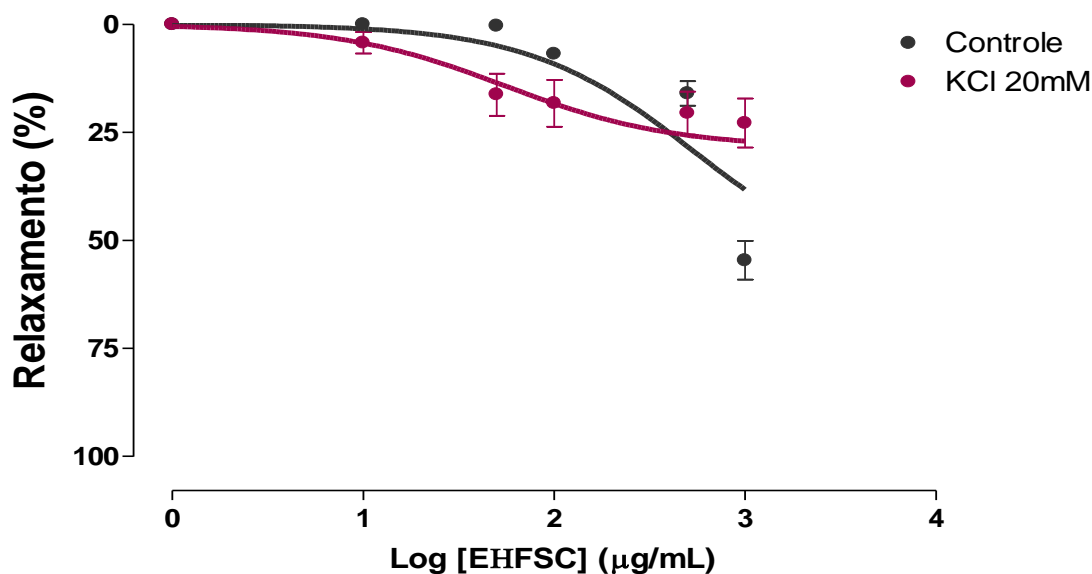


Efeito do EHFSC (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolado de rato Wistar, com endotélio intacto, pré-contráidos com FEN  $10^{-4}$  M (●) e pré-contráidos com solução despolarizante de KCl 80 mM (●) (n = 5).

### 5.8 Avaliação da participação dos canais para $\text{K}^+$ no efeito vasorelaxante induzido por EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar

Nesta condição, a curva apresentou redução do  $E_{\text{máx}} = 22,86 \pm 5,67$  %, e  $\text{pD}_2 = 1,73 \pm 0,1$   $\mu\text{g/mL}$ , deslocando a curva controle para esquerda nas primeiras concentrações (GRÁFICO 12, e TABELA 4).

GRÁFICO 12 - Efeito do EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior na presença de KCl 20 mM.



Efeito do EHFSC (1 – 1000 µg/mL) em anéis de artéria mesentérica superior isolado de rato Wistar, com endotélio intacto pré-contraídos com 100 µM de FEN, antes (Controle) (●) e após a incubação da preparação com solução despolarizante de Tyrode com KCl a 20 mM (●) (n = 5). Os valores estão expressos como média ± e.p.m.

TABELA 4 - Comparação dos valores de  $E_{max}$  e  $PD_2$  de EHFSC em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato. Os resultados são expressos como média ± e.p.m. (n= 5)

| Condições                          | $E_{max}$        | $PD_2$         |
|------------------------------------|------------------|----------------|
| Experimentais                      | (%) relaxamento  |                |
| Controle (com endotélio)           | 54,61 ± 4,48     | 2,74 ± 0,1     |
| Sem endotélio                      | 6,41 ± 0,66***   | -              |
| Pré-contraídos KCl 80 mM ( $E^+$ ) | 136,04 ± 0,24*** | 2,16 ± 0,06 ** |
| Pré-contraídos KCl 80 mM ( $E^-$ ) | 1,15 ± 0,21###   | -              |
| Após L-NAME                        | 64,85 ± 7,17     | 2,92 ± 0,12    |
| Após KCl 20 mM                     | 22,86 ± 5,67***  | 1,73 ± 0,1***  |

Os valores estão expressos com média ± e.p.m. de 5 experimentos. \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$  vs controle; ###  $p < 0,001$  vs Pré-contraído KCl 80 mM  $E^+$ .  $E^+$  = com endotélio e  $E^-$  = sem endotélio

## 6 DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as ações cardiovasculares induzidas pelo extrato hidroalcoólico dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (EHFSC), além de investigar as possíveis vias envolvidas nos efeitos observados. Para isso, foram utilizados dois tipos de abordagens metodológicas, *in vivo*, para avaliação da pressão arterial média e frequência cardíaca em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos não anestesiados e *in vitro*, para avaliar a ação relaxante do extrato em artéria mesentérica superior isolada de ratos normotensos.

O estudo demonstrou que a administração aguda de doses crescentes de EHFSC promove hipotensão associada à bradicardia em ratos normotensos e hipertensos. Este efeito hipotensor provavelmente ocorre em consequência de uma diminuição da resistência vascular periférica, em função da liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio. Enquanto a bradicardia é devido possivelmente a uma ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos. Também foi observado que EHFSC promove efeito anti-hipertensivo em animais SHR.

Para evitar alterações no funcionamento dos principais sistemas de regulação da pressão, tais como o sistema renina-angiotensina, o sistema nervoso simpático e o barorreflexo (FLUCKIGER et al, 1985; DORWARD et al, 1985). Realizamos os protocolos de medida direta da pressão arterial em animais não anestesiados, pois a anestesia altera as respostas autonômicas através da inibição de algumas sinapses do sistema nervoso central (KORNER et al, 1968; WHITE e MCRITCHIE, 1973; ZIMPFER et al, 1982), além de outros efeitos sobre os sistemas de controle da pressão arterial (SMITH e HUTCHINS, 1980; FLUCKIGER et al, 1985).

A fim de avaliar se o extrato hidroalcoólico e frações hexânica e metanólica dos frutos de *S.cumini* promoviam efeitos sobre PAM e FC de ratos Wistar, doses randômicas do EHFSC, FM e FH foram administradas por via endovenosa nestes animais. Observamos que o extrato hidroalcoólico apresentou efeito hipotensor seguido de bradicardia de modo mais significativo que as frações. Provavelmente devido ao fato de que solventes polares, como mistura hidroalcoólica, são capazes de extrair compostos de estruturas químicas mais polares que solventes como metanol e hexano (LAPORNIK; PROSEK; WONDRA, 2005). O EHFSC poderia extrair em maiores concentrações metabólitos como as antocianinas, encontradas em altas concentrações nos frutos de *S. cumini* (BRITO et al, 2007; NAZIF, 2007; LI et al, 2009). Pois as antocianinas são mais solúveis em solventes polares (LOPES et al, 2007; MARÇO, POPPI, SCARMINIO, 2008;



XAVIER et al, 2008), e são responsáveis por diversos efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular (SALUK-JUSZCAK, 2010). Como a redução dos biomarcadores de doenças cardiovasculares NO, inflamação e disfunção endotelial (WALLACE, 2011). Além de atuarem como protetores do sistema, contribuindo *para* manutenção da integridade dos vasos e fluxo sanguíneo (SALUK-JUSZCAK, 2010).

Todos os vasos sanguíneos, com exceção dos capilares, são constituídos por três camadas de células. A camada adventícia (tecido conjuntivo externo), média (tecido muscular liso) e a íntima (endotélio) (MELLO et al, 2007). As células endoteliais atuam de maneira mais complexa e não apenas como uma barreira passiva entre o plasma e o líquido extracelular. Por meio da liberação de mediadores químicos desempenham um papel importante no controle da homeostase vascular, através da síntese e secreção de diversos fatores vasoconstritores e vasodilatadores (FURIAN, 2009). Estes mediadores são liberados quando há estimulação do endotélio por receptores acoplados a proteína G e geram um aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular (VIARO; NOBRE e EVORA, 2000). Entre os fatores vasodilatadores sintetizados e liberados pelas células endoteliais, encontram-se o óxido nítrico (NO), os produtos derivados da COX e FHDE (STANKEVICIUS et al, 2003). Diante do exposto, resolvemos avaliar a participação dos fatores relaxantes derivados do endotélio nos efeitos induzidos pelo EHFSC. Para isto efetuamos o bloqueio agudo da enzima responsável pela síntese de NO, a NOSe e de prostanóides, a COX, através da administração de L-NAME (20 mg/kg, i.v.) e INDO (3 mg/kg, i.v.), respectivamente.

Constatamos que na presença de L-NAME, a hipotensão não foi alterada, entretanto, houve reversão da bradicardia. Estes resultados mostram que os efeitos cardiovasculares observados são independentes, uma vez que uma forte alteração na bradicardia não alterou o efeito hipotensor (CORTES et al, 2001). Como o L-NAME é um bloqueador inespecífico e promove bloqueio dos receptores muscarínicos (BUXTON et al, 1993) talvez o bloqueio da bradicardia ocorra devido ao EHFSC atuar sobre estes receptores muscarínicos cardíacos  $M_2$ .

Como mencionado anteriormente, nos vasos os prostanóides são formados em células endoteliais a partir de um aumento na  $[Ca^{2+}]_i$ . Este aumento ativa uma seqüência de reações enzimáticas iniciada pela COX do tipo 1 (COX-1) que sintetiza os prostanóides (SMITH, 1992), estes difundem-se às células musculares promovendo vasorrelaxamento. O mecanismo de ação das prostaciclina ( $PGI_2$ ), prostanóides, envolve a ativação de receptor de prostaciclina (IP) acoplado a proteína Gs (COLEMAM et al, 1994), ativação da ciclase da adenilil e aumento dos

níveis intracelulares de AMPc, promovendo ativação da PKA. Esta enzima, por sua vez, promove aceleração da SERCA (recaptação de  $\text{Ca}^{2+}$  para os estoques intracelulares); abertura dos canais de  $\text{K}^+$ ; fechamento dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  sensíveis à voltagem e fosforilação da cinase da cadeia leve da miosina (MLCK), inativando-a. Todos estes eventos levam a uma redução da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  e consequentemente vasorrelaxamento (SIEGEL et al, 1989; FROLICH, 1990). Após o pré-tratamento com INDO observamos que houve redução da hipotensão e bradicardia induzidas por EHFSC, estes resultados sugerem uma participação dos prostanóides nos efeitos cardiovasculares causado pelo extrato. O que nos leva mais uma vez a sugerir o provável envolvimento das antocianinas nos efeitos do EHFSC, uma vez que as mesmas promovem aumento da síntese de  $\text{PGI}_2$  no endotélio (SALUK-JUSZCAK, 2010) e que este efeito deve-se a uma atuação vascular, visto que a  $\text{PGI}_2$  participa ativamente no controle local do tônus vascular por ser um potente vasodilatador (COLEMAM et al, 1994).

A regulação autonômica primária da função do nodo sinoatrial ocorre pela ação vagal cardíaca através da estimulação de receptores muscarínicos cardíacos (PETERSON et al, 1984). Em mamíferos são expressos os seguintes subtipos destes receptores:  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$  e  $M_4$ . Entretanto, apenas os subtipos  $M_2$  e  $M_3$  estão associados há ações cardiovasculares (STENGEL et al, 2000). Os receptores  $M_2$  exercem efeitos inibitórios no coração por meio de aumento da condutância ao  $\text{K}^+$  e inibição dos canais para cálcio, consequentemente induz bradicardia intensa seguida de hipotensão decorrente da queda do débito cardíaco (BARBOSA et al, 2004). Enquanto que os receptores  $M_3$  exercem suas ações através de um efeito indireto na musculatura lisa vascular. A ativação destes receptores ocorre nas células endoteliais adjacentes e resulta em ativação da enzima fosfolipase C que por elevar a  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , ativa a enzima NOSe havendo síntese de NO que se difunde às células vasculares promovendo relaxamento (VIARO; NOBRE; EVORA, 2000).

Como mencionado anteriormente, os efeitos na PAM e FC induzidos pelo EHFSC ocorreram de maneira independente. Para confirmar os resultados obtidos após bloqueio com L-NAME que o EHFSC estaria promovendo bradicardia por atuar em receptores  $M_2$  e excluir a participação de  $M_3$  na hipotensão. Realizamos experimentos na presença de atropina, um antagonista não-seletivo dos receptores muscarínicos (MITCHELSON, 1984). Nessas condições, apenas a bradicardia foi antagonizada, o que propõe mais uma vez a exclusão da participação muscarínica no efeito hipotensor e demonstra novamente independência entre os efeitos

cardiovasculares de *S. cumini*. Sugerindo, como anteriormente, que a ação cardíaca do extrato ocorrer através de uma ativação parassimpática.

Neste contexto, o efeito bradicárdico poderia ocorrer de maneira direta, através da ativação dos receptores muscarínicos  $M_2$  cardíacos ou de forma indireta a partir da ativação neuronal colinérgica com liberação de acetilcolina no nodo sinoatrial e consequente ativação muscarínica (MEDEIROS et al, 2006). A ativação destes receptores resulta em bradicardia devido à ativação da proteína  $G_i$ , que inibe a adenilato ciclase e consequentemente reduz os níveis do segundo mensageiro AMPc (monofosfato de adenosina cíclico), além de altera a condutância ao íon potássio através da fosforilação dos canais para  $K^+$  sensíveis à acetilcolina (CODINA et al, 1987; BARBOSA et al, 2004). Para investigarmos a natureza deste efeito, utilizamos o bloqueador ganglionar hexametônio (30 mg/kg, i.v.), que foi capaz de atenuar o efeito bradicárdico. Sugerindo-nos que a bradicardia induzida pelo EHFSC parece ser devido a uma ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos.

O extrato também foi capaz de promover redução da PAM 4 horas após a administração de uma única dose de 200 mg/kg, v.o., sem promover qualquer alteração na FC em SHR (Grupo Tratado 2), enquanto que os valores de PAM e FC não sofreram alterações após tratamento com dose de 100 mg/kg, v.o. (Grupo Tratado 1). Já após administração de 500 mg/kg, v.o. observou-se um efeito hipertensivo e taicárdico. Além do mais, o efeito não foi observado em animais normotensos (Grupo Normotenso). Estes dados indicam que o EHFSC possui atividade anti-hipertensiva dependente de dose e como o resultado foi observado apenas em SHR podemos propor que a ação do extrato depende de alterações observadas em animais SHR e não em normotensos, como por exemplo, aumento do tônus vascular (MULVANY e HALPERN, 1977), corroborando mais uma vez com a hipótese de que EHFSC poderia atuar por meio de uma redução da RVP. Além dos dados estarem de acordo com a provável participação de antocianinas no efeito, pois estudos mostram que o pico plasmático destes compostos está em torno de 1-3h e que os mesmos podem ser encontrados na circulação sanguínea em média de 0-5h (WALLACE, 2011).

Para confirmar a possível ação periférica vascular do EHFSC realizamos protocolos *in vitro* com anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato Wistar. Escolhemos este modelo devido, aos vasos de pequeno calibre, como a artéria utilizada, apresentarem uma maior

participação na regulação da pressão arterial e perfusão de órgãos, pois constituem o principal local de geração de resistência vascular (KWANA et al, 2004).

Para isto, efetuamos experimentos frente à pré-contrações induzidas por FEN. Deste modo, pudemos avaliar se EHFSC era capaz de promover um efeito vasorrelaxante. Como sugerido pelos dados experimentais *in vivo*, o EHFSC promoveu vasorrelaxamento dependente de concentração. Para verificarmos se o efeito dependia da presença de endotélio uma nova curva concentração-resposta do EHFSC foi obtida em anéis de artéria mesentérica com endotélio desnudo. Notamos que o efeito relaxante foi atenuado. Através destes resultados pudemos constatar que assim como foi sugerido, previamente, o extrato não apenas exerce efeito vasorrelaxante, como esta ação depende da integridade do endotélio para ser observada. Pois o EHFSC promoveu relaxamento apenas em anéis de preparações com endotélio funcional intacto.

A liberação de NO através do endotélio resulta em fosforilação direta de uma guanilil ciclase solúvel (GCs) (REMBOLD, 1996) ou por ativação direta de uma guanilil ou adenilil ciclase, resultando no aumento dos segundos mensageiros monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) e monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), respectivamente. Este aumento nas concentrações de GMPc ativa a proteína cinase dependente de GMPc (PKG), enquanto que o aumento nas concentrações de AMPc leva a fosforilação tanto de uma proteína cinase dependente de AMPc (PKA) como a PKG, estes eventos resultam na ativação de canais de  $K^+$  (REMBOLD, 1996). Como o extrato foi capaz de antagonizar anéis pré-contraídos com FEN de maneira dependente de endotélio, resolvemos investigar se havia a participação do NO nesta resposta. Para isso, realizamos uma curva concentração-resposta na presença de L-NAME não houve diferença entre as curvas na presença e ausência do bloqueador o que nos sugere que o vasorrelaxamento causado pelo extrato não deve ser devido à estimulação de síntese de NO, como sugerido pelos resultados obtidos *in vivo*.

As contrações diferem quanto ao tipo de estímulos celulares e mecanismos envolvidos para gerar a contração, podendo ser denominado de acoplamento farmacomecânico ou eletromecânico (REMBOLD, 1996). No primeiro, farmacomecânico, primeiramente ocorre ligação do agonista com o receptor ativando a proteína fosfolipase C do tipo  $G_{q/11}$ . Esta ativação leva ao aumento dos segundos mensageiros,  $IP_3$  e DAG. O  $IP_3$  liga-se a um receptor específico localizado no retículo sarcoplasmático (RS) permitindo a liberação do  $Ca^{2+}$  dos estoques intracelulares que, por sua vez, ligam-se a uma proteína denominada calmodulina (CaM) para

formação de um complexo ( $\text{Ca}^{2+}$ -CaM) iniciando com isto o mecanismo contrátil. Complementando este processo, por meio de um mecanismo que não envolve mudança no potencial de membrana ( $V_m$ ), há um aumento do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  através da abertura de canais para  $\text{Ca}^{2+}$  do tipo L, além de liberação do  $\text{Ca}^{2+}$  induzida pelo próprio íon através de receptores de rianodina (RYR) presentes na membrana do RS e por ativação do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  reverso (MCCARRON et al, 2003; THORNELOE; NELSON, 2005; SALAMANCA; KHALIL, 2005). Este tipo de acoplamento é observado nas contrações induzidas por fenilefrina.

No acoplamento eletromecânico o aumento na  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  ocorre através do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  gerado pela despolarização de membrana. Este influxo pode ocorrer de forma direta como na presença da solução despolarizante, onde há aumento da concentração externa de  $\text{K}^+$  ( $[\text{K}^+]_e$ ) ou indiretamente através da ligação de agonistas aos seus receptores gerando abertura de canais para cálcio dependentes de voltagem (VOCC'S) ocasionando conseqüentemente a contração (REMBOLD, 1996).

Para caracterizar a especificidade da resposta vasorrelaxante do EHFSC, realizamos uma curva concentração-resposta frente a contrações induzidas por um acoplamento eletromecânico através da adição de solução despolarizante de KCl 80 mM (KCl 80) ao meio. Observamos que o extrato promoveu vasorrelaxamento, mostrando que EHFSC induz relaxamento tanto sobre contrações induzidas por um acoplamento farmacomecânico (FEN) como por um eletromecânico (KCl 80 mM), caracterizando assim um efeito vasorrelaxante inespecífico dos compostos. Com fins de avaliar o papel do endotélio no efeito observado, o mesmo protocolo experimental foi realizado em preparações de anéis com endotélio desnudo. O efeito relaxante foi abolido demonstrando mais uma vez a dependência do endotélio. Ao compararmos os resultados obtidos em anéis de artéria mesentérica em que o endotélio funcional estava presente, o extrato foi capaz de antagonizar as contrações induzidas por KCl 80 de maneira mais eficaz bem como mais potente. Isto nos sugere que, apesar de inespecífica, a ação do extrato é mais significativa após contrações por acoplamento eletromecânico, por isso talvez o efeito esteja mais relacionado a canais iônicos.

A resposta poderia estar relacionada a uma inibição direta dos VOCC'S ou indiretamente por meio da ativação de canais para  $\text{K}^+$ . A inativação indireta ocasionaria hiperpolarização da membrana e conseqüente aumento do efluxo de  $\text{K}^+$  da célula, reduzindo o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  através VOCC'S, a  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , a fosforilação da miosina e a contração (TANAKA et al, 2000; WELLMAN,

et al, 2006). Com objetivo de confirmarmos a hipótese da participação de canais iônicos e verificarmos a participação de canais para  $K^+$  no efeito vasorrelaxante induzido por EHFSC, realizamos o bloqueio parcial do efluxo do íon através do aumento da concentração externa de KCl para 20 mM ( KCl 20) (MENEZES et al, 2007) e obtivemos uma curva concentração-resposta. De acordo com a literatura drogas que promovem o vasorrelaxamento por abertura de canais para  $K^+$  são menos eficientes com a elevação da concentração externa deste íon, este efeito é proporcionado pela diminuição do efluxo de  $K^+$  na membrana da célula muscular lisa. Desta forma o relaxamento de drogas que promovam a abertura de canais para  $K^+$  é atenuado (CLARK; FUCHS, 1997). Nestas condições, o relaxamento induzido pelo extrato foi significativamente menor quando comparado ao controle, sugerindo uma participação dos canais para  $K^+$  na indução deste efeito. E como o endotélio é essencial para que a resposta relaxante seja observada, podemos sugerir que há participação de canais iônicos no efeito, provavelmente canais para  $K^+$ , e que o extrato não atua diretamente nestes canais. Através dos dados obtidos dos experimentos *in vivo* poderíamos supor como via de relaxamento a partir da ativação indireta de canais para  $K^+$  dependente de endotélio, a via das prostaciclina uma vez que esta envolve ativação de PKA e consequente alteração da permeabilidade da membrana aos íons potássio.

Após os resultados observados podemos sugerir que provavelmente o maior efeito do EHFSC em animais normotensos após administração endovenosa do extrato, deve-se ao fato de animais SHR possuírem disfunção endotelial (TADDEI et al, 1993), uma vez que o efeito hipotensor deve-se provavelmente aos FRDE e a resposta vasorelaxante só é observada em anéis com endotélio intacto.

Podemos concluir que através das abordagens *in vivo* e *in vitro* observamos que:

1. O extrato hidroalcoólico dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels promove efeito anti-hipertensivo após a quarta hora da administração do extrato;
2. Além de ser capaz de promover efeito hipotensor devido à redução da resistência periférica com envolvimento dos fatores relaxantes derivados do endotélio e efeito bradicárdico atribuído à estimulação indireta dos receptores muscarínicos cardíacos;
3. E promove efeito relaxante em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato Wistar dependente de endotélio e provavelmente ocorre devido à participação de canais iônicos na resposta.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ADARAMOYE, O.Q; MEDEIROS, I. A. Involvement of Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> in the endothelium-independent vasorelaxation induced by *Curcuma longa*L. In isolated rat superior mesenteric arteries. **J Smooth Muscle Res**, v. 5, n. 44, p. 151-158, 2008.

AGOSTINI-COSTA, T.S; DA SILVA, D.B. Jambolão a cor da saúde. **Net**. 2008. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_1/Jambolao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/Jambolao/index.htm)>. Acesso em: 16/08/2011.

ALBERNETHY, D.R, SOLDATOV, N.M. Structure-functional diversity of human L-type Ca<sup>2+</sup> channel: perspectives for new pharmacological targets. **J Pharmacol Exp Ther** , v. 300, p. 724-728, 2002.

ALTURA, B.M; ALTURA, B.T. Differential effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta. **Am. J. Physiol**, v. 298, p. 1698-1705, 1970.

AQUINO, P.G. **Levantamento de Plantas Medicinais e Fitoterápicos Utilizados no Tratamento da Hipertensão**. Maceió: AL, 2009. Originalmente apresentado como trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal de Alagoas, 2009.

ARAÚJO, G.B.S; GARCIA, T.R. Adesão ao tratamento antihipertensivo: uma análise conceitual. **Rev Eletrônica Enf**, v. 8, n. 2, p. 259 - 272, 2006.

ATLAS, S. A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. **Supp J Managed Care Pharm**, v. 13, n. 8, p. s9-s20, 2007.

AYELE, Y; URGAS, K; EPHREM, E. Evaluation of *in vivo* antihypertensive and *in vitro* vasodepressor activities of the leaf extract of *Syzygium guineense* (Willd) D.C. **Phytother. Res**, v. 24, p. 1457-62, 2010.

BARBOSA, C.E et al. Repolarização precoce no eletrocardiograma do atleta: bases iônicas e modelo vetorial. **Arq Bras Cardiol**, v. 82, n. 1, 2004.

BARBOSA, J, B et al. Prevalência da hipertensão arterial em adultos e fatores associados em São Luís – MA. **Arq Bras Cardiol**, v. 91, n. 4, p. 260-266, 2008.

BARREIRO, E. J. Produtos naturais bioativos de origem vegetal e o desenvolvimento de fármacos. **Química Nova**, v. 13, n. 1, p. 29- 39, 1990.

BASTOS, J.F.A et al. Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**, v. 106, p. 331-337, 2009.

BATLOUNI, M. Antagonistas de canais de cálcio. In: BATLOUNI, M; RAMIRES, J.A.F. **Farmacologia e terapêutica cardiovascular**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2004, cap. 12.

BERRIDGE, M.J. Inositol triphosphate and calcium signaling. **Nature**, v. 361, p. 315-325, 1993.

BHATI, I.S; BAJAJ, K.L; GHANGAS, G.S. Tannins in Black plum seeds. **Phytochemistry**, v. 10, p. 219-220, 1971.

BERNE ; LEVY. **Fundamentos de fisiologia**. Editores Matthew N. Levy, Bruce A. Station, Bruce M. Koeppen. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

BORGES, S.E. **Manual: hipertensão arterial sistêmica**. 2006

BRITO E.S. et al. Anthocyanins present in select tropical fruits: acerola, jambolão, jussara and guajiru. **J Agric Food Chem**.v. 55, p. 9389-9394.

BRITO, F.A. et al. Pharmacological study of anti-allergic activity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Braz J Med Biol Res**. v. 40, n. 1, 2007.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, 2003.

CAMPBELL, W. B. et al. Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. **Circ Res**, v. 78, n. 3, p. 415-423, 1996.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J; HAIBARA, A. S. Reflexos caridovasculares e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n. 1, p. 30-40, 2001.

CARVALHO, A. P; COSTA, A. F. **Circulação e respiração: fundamentos de Biofísica e Fisiologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1979

CAIN, A. E.; KHALIL, R. A. Pathophysiology of essential hypertension: role of the pump, the vessel, and the kidney. **Semin Nephrology**, v. 22, n.1, p. 3-16, 2002.

CHAKRABORTY, D, MAHAPATRA, P.K, CHAUDHURI, A.K. A neuropsychopharmacological study of *Syzygium cuminii*. **Planta Med**, p. 139-43, 1986

CHAUDHURI, A. K. N; GOMES, S.P.A, BHATTACHARYA, S. Anti-inflammatory and related actions of *Syzygium cumini* seeds extract. **Phytother Res**, v. 4, n. 1, p. 5-10, 1990.

CRAVEIRO, A.A; ANDRADE, C.H.S; MATOS, F.J.A. Essencial oil of *Eugenia jambolana*. **J Natur Prod**, v. 46, n. 4, p. 591-592, 1983.

CIRQUEIRA, R.T; ALVES, M.J.Q.F. Efeitos hipotensivo e diurético dos extratos aquosos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e jambolão (*Eugenia jambolana* Lam.) em ratos normotensos anestesiados. **Ver Bras Pl Med**, v. 7, n. 2, p. 86-91, 2005.

CLARK, S.J; FUCHS, L.C. Role of nitric oxid and  $Ca^{2+}$  - dependent  $K^{+}$  channels in mediating heterogenous microvascuvscular responses to acetilcholyne in different vasculas beds. **J Pharmacol Exper Ther**, v. 282, n. 3, p. 1473-1479, 1997.



- CODINA, J et al. The subunit of the GTP binding proteina Gk opens atrial potassium channels. **Science**, v. 230, p. 442-446, 1987.
- COLEMAN, T. G.; MANNING, R. D. Jr.; NORMAN, R. A. Jr.; DECHEE, J. The role of the kidney in spontaneous hypertension. **Am Heart J**, v. 89, p. 94-98, 1975.
- COLEMAM, R. A.; SMITH, W. L.; NARUMIYA, S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution and structure of the receptors and their subtypes, **Pharmacol Rev**, v. 46, p. 205-229, 1994.
- COSTA, G.R.C.C. **Estudos de *Syzygium jambolanum* D.C.** São Luís: MA, 1999. Originalmente apresentado como trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal do Maranhão, 1999.
- DI STASI, L. C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência.** um guia de estudo interdisciplinar. Univ. Estadual Paulista: São Paulo, p. 230, 1996.
- DONADIO, L.C. Study of some Brazilian Myrtaceae in Jaboticabal-SP. **Acta Horticultura**, n. 452, p. 181-183, 1997.
- DORWARD P. K, et al. The renal sympathetic baroreflex in the rabbit. Arterial and cardiac baroreceptor influences, resetting, and effects of anesthesia. **Circ Res**, v. 57, p. 618-633, 1985.
- ELIZABETSKY, E. New directions in ethnopharmacology. **J. Etnobiol**, v. 6, p. 121, 1986.
- EVORA, P. R. B, et al. Endotélio e óxido nítrico: História, fisiologia e as primeiras observações relacionadas com a hipertensão arterial. **Hiper Ativo**, v. 2, n. 2, p. 1-20, 1995.
- FARNSWORTH, N. R. **The role of ethnopharmacology in drug development.** In: Bioactive compounds from plants. Ciba Foundation: New York, 1990. p. 2-10.
- FAZAN, V.PS et al. Ratos espontaneamente hipertensos e neuropatia periféricas e neuropatias periféricas. **Medicina**, v. 39, n.1, p. 39-50, 2006.
- FERREIRA, I. C. P, et al. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, 2004, v. 99p. 325.
- FERREIRA, M.E; BRUNINI, T. **Farmacologia cardiovascular.** Rubio: Rio de Janeiro, 2007.
- FLORES, R.L et al. Valoración de medicamentos homeopáticas y alopáticas em El tratamiento de ratos com diabetes mellitus inducida por aloxana. **Homeop Mex**, n. 521, p. 10-20, 1998.
- FLUCKIGER J. P, et al. Attenuation of the baroreceptor reflex by general anesthetic agent in the normotensive rat. **Eur J Pharmacol**, n. 109, p. 105-109, 1985.
- FROLICH, J. C. Prostacyclin in hypertension. **J Hypertens Suppl**, v. 8, p. S73-S78, 1990.
- FURCHGOOT, R.T; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

FURIAN, A. F. **Papel do óxido nítrico e de canais para potássio na vasodilatação induzida pelo glicosídeo GM1**. RS: Porto Alegre, 2009. Originalmente apresentado como tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

GRESSLER, E; PIZO, M. A; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Rev Bras Bot**, v. 29, n. 4, p.509-530, 2006.

GRISK,O; RETTING, R. Interactions between the sympathetic nervous system and the kidneys in arterial hypertension. **Cardiov Res**, v. 61, p. 238-246, 2004.

GUIMARÃES, M.V; RIBAS, L.F.O. Avaliação da compreensão dos pacientes hipertensos a respeito da hipertensão arterial e seu tratamento versus controle pressórico. **Rev Bras Med Fam e Com**, v. 1, n. 4, p. 105-173, 2006.

GUEDES, N.G et al. Crises hipertensivas em portadores de hipertensão artérias em tratamento. **Rev Esc Enferm USP**, v. 39, n. 2, p. 181-188, 2005.

GUPTA, M.P. **270 Plantas medicinales iberoamericanas** .. CYTED- SECAB: Santa Fé de Bogot, 1995.

GURNEY, A.M. Mechanisms of drug-induced vasodilation. **J Pharm Pharmacol**, v. 46, p. 242-251, 1994.

GUS, I et al. Prevalência, reconhecimento e controle da hipertensão arterial sistêmica no estado do rio grande do sul. **Arq Bras Cardiol**, v. 83, n. 5, 2004.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of pressure. **Nature**, v. 7, p. 335-346, 2006.

GUYTON, A.C; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HIPÓLITO, U. V et al. Mechanism underlying the vasorelaxant action of the pimarane *ent*-8(14),15-pimaradien-3 $\beta$ -ol in the isolated rat aorta. **Eur J Pharmacol**, v. 616, p. 183-191, 2009.

HÖFLING, J.F et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. **Braz. J. Biol**, v. 70, n. 4, p. 1065– 8, 2010.

HOROWITZ, A et al. Mechanism of smooth muscle contraction. **Physiol Rev**, v. 76, p. 967-1003, 1996.

JIMÉNEZ, M.R. Accion cardiovascular de extracts acuosos de hojas *Syzygium jambos* (L.) Alston. **Ver Costarrie Ciene Med** , v. 16, n. 3, p. 17-25, 1995.

JIMÉNEZ, M.R. .Mecanismo de accion del efecto hipotensor y bradicardizante de un extracto acuoso de hojas de *Syzygium jambos* (L.) Alston. **Ver Costarrie Ciene Med**, v. 17, n. 3, p. 17-23, 1996.

KAREMAKER, J. M.; WESSELING, K. H. Variability in cardiovascular control: the baroreflex reconsidered. **Cardiovascular Eng**, v. 8, p. 23-29, 2008.

KWANA, C.; CHENA, C.; DEYAMA, T.; NISHIBE, S. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the aqueous extracts of the *Eucommia ulmoides* Oliv. leaf and bark: implications on their antihypertensive action. **Vascul Pharmacol**, v. 40, p. 229-235, 2004.

KEARNEY, P. M. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **Lancet**, v. 365, n. 9455, p.217-223, 2005.

KIM, H.M et al. Effect of *Syzygium cumini* extract on immediate hypersensitivity in rats, **J Ethnopharmacol**, v. 60, p. 125-131, 1998.

KORNER, P. I et al. The effects of chloralose-urethane and sodium pentobarbitone anesthesia on the local and autonomic components of the circulatory response to arterial hypoxia. **J Physiol**, v. 199, p. 283-302, 1968.

KOROLKOVAS, A.; BURKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. 2 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 2008.

KUMAR, A et al. Phytochemicals investigation on a tropical plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. **Pakistan J Nut**, v. 8, n. 1, p. 83-85, 2009.

LAHLOU, S. et al. Mechanisms underlying the cardiovascular effects of a labdenic diterpene isolated from *Moldenhawera nutans* in normotensive rats. **Vasc Pharmacol**, v. 46, n. 1, p. 60-66, 2007.

LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A.G. Comparison of extracts prepared from plant by products using different solvents and extraction time. **J Food Eng**. v. 71, p. 214-222, 2005.

LI, L. et al. *Eugenia jambolana* Lam. berry extract inhibits growth and induces apoptosis of human breast cancer but non-tumorigenic breast cells. **J Agric Food Chem**. v.57, p. 826-831, 2009

LINCOLN, T.M; CORNEWELL, A.E. Towards an understanding of the mechanism of action on cyclic GMP in smooth muscle relaxation. **Blood Vessel**, v. 28, p. 129-137.

LIMA, L. A et al. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae). **Quim Nova**, v. 30, n. 4, p. 860-864, 2007.

LOPES, T.J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrociência**. v.13, n.3, p. 291-297, 2007.

LYRA, D.P,J et al. A farmacoterapia no idoso: revisão sobre a abordagem multiprofissional no controle da hipertensão arterial sistêmica. **Rev Latino-am Enfermagem**, v. 14, n. 3, p. 435-441, 2006.

- MACIEL, S.S; DIAS, K.L.G; MEDEIROS, I.A. Calcium mobilization as the endothelium-independent mechanism of action involved in the vasorelaxant response induced by the aqueous fraction of the ethanol extract of *Albizia inopinata* G.P. Lewis (AFL) in the rat aorta. **Phytomedicine**, v.11, n. 2-3, p.130-1434, 2004.
- MARÇO, P.H; POPPI, R.J; SCARMINIO, I.S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quim. Nova**. v. 31, n. 5, p.1218-1223, 2008.
- MARK, D. B et al. Cardiovascular disease on a global scale: defining the path forward for research and practice. **Eur Heart J**, v .28, p. 2678-2684, 2007.
- MCCARRON, J. G et al. Sarcolemma agonist induced interactions between InsP3 and ryanodine receptors in  $Ca^{2+}$  oscillations and waves in smooth muscle. **Biochem Soc Transactions**, v. 31, p. 920– 924, 2003.
- MEDEIROS, I.A et al. Cardiovascular effects of *Sida cordifolia* leaves extract in rats. **Fitoterapia**, v. 77, p. 19-27, 2006.
- MELLO, J.M et al. Características ultraestruturais do segmento abdominal da aorta de rato albino. **Maringá**, v. 29, n. 4, p. 343-348, 2007.
- MENEZES, I. A.C. et al. Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: involvement of ATP-sensitive potassium channels. **Vasc Pharmacol**,v. 47, n.1, p.41-47, 2007.
- MICHELSON, F. Heterogeneity in muscarinic receptors: evidence from pharmacological studies with antagonist. **Trends Pharmacol. Sci**, v. 5, p. 12-19, 1984.
- MORTON, J.F. The chayote, a peculiar, climbing subtopical, vegetable. **Proc Fla State Mart Soc**, v. 94, 1987.
- MULVANY, M.J; HALPERN, W. Contractile properties os small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. **Circ Res**, v. 41, n. 1, p. 19-26, 1976.
- MURUGANANDAN, S et al. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. **Fitoterapia**, v. 72, p. 369-375, 2001.
- MUTHU, C et al. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. **J Ethnobiol and Ethnomed**, v. 43, n. 2, p. 1-10, 2006.
- NAZIF, M.N. The Anthocyanins component and cytotoxic activity of *Syzygium cumini* (L.) fruits growing in Egypt. **Natur Products Sci**. v.13, p. 135-139,2007.
- NELSON, M.T et al. Calcium channels, potassium channels and vologem dependence of arterial muscle cells of rabbit portal vein. **Am J Physiol**, v. 259, p. C3-C18, 1990.
- NILSSON, H; JENSEN, P. E; MUVANY, M.J. Minor role for direct adrenoceptor-mediated calcium entry in rat mesenteric small arteries. **J Vasc Res**, v. 31, p.314-321, 1994.

- OATES, J. A; BROWN, N. J. **Anti-hipertensivos e terapia farmacológica da hipertensão**. In: Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. 11. ed. Rio de Janeiro: Editora McGraw-Hill. 2010, cap. 32.
- OLIVEIRA, M.J.R.; SIMÕES, M.J.S.; SASSI, C.R.R. Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Bras Plant Med**, v.8, n.2, p. 39-41, 2006.
- OKAMOTO, K; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jpn Cir J**, n. 27, p. 282-293, 1963.
- OPARIL, S et al. Pathogenesis of hypertension. **Ann Intern Med**, v. 139, p. 761-776, 2003.
- PACHU, C.O. **Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos**. PB: Campina Grande, 2007. Originalmente apresentado como tese de doutorado, Universidade Federal de Campina Grande, 2007.
- PÉRES, D.S; MAGNA, J.M; VIANA, L.A. Portador de hipertensão arterial: atitudes, crenças, percepções, pensamentos e práticas. **Rev Saúde Pública**, v. 37, n. 5, p.635-642, 2003.
- PETERSON, G. L et al. Purification of the muscarinic acetylcholine receptor from porcine atria. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 81, p. 4993-4997, 1984.
- POZZETI, G.L. Controle de qualidade em homeopatia. **Instituto Homeopático François Lamasson**: Ribeirão Preto, 1989.
- RANG, H.P et al. **Farmacologia**.6 ed.Londres: Elsevier, 2007.
- REES, D.D et al, Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase *in vitro* and *in vivo*. **Brit. J. Pharm.** v. 101, n. 9, 746-752, 1990.
- REMBOLD, C. M. **Eletromechanical and pharmacomechanical coupling**. In: Bárány, M. Biochemistry of smooth contraction. Academic Press: San Diego, p. 227-239, 1996.
- RIBEIRO, Raquel Melo. **Estudo da atividade hipotensora das folhas de *Syzygium cumini* D.C. (jambolão)**. MA: São Luís. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Maranhão, 2007.
- RUMMERY, N,M; HILL, C,E. Vascular gap junctions and implications for hypertension. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 31, p. 659-667, 2004.
- SALAMANCA, D. A; KHALIL, R. A. Protein kinase C as specific targets for modulation of vascular smooth muscle function in hypertension. **Biochemic Pharmacol**, v. 70, p. 1537-1547, 2005.
- SALGADO, C.M; CARVALHAES, J.T.A. Hipertensão arterial na infância. **J Pediatr**, v. 79, n. 1, 2003.

- SALUK-JUSZCAK, J. Anthocyanins as components of functional food for cardiovascular risk prevention. **Postepy Hig Med Dosw.** v. 64, p. 451-458, 2010.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. et al. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **J Ethnopharmacol**, v. 21, n.2, p.183-186, 1987.
- SCHULZ, V; HANSEL, R; TYLER, V. **Fitoterapia racional.** 1 Ed. Barueri: Manole, 2002.
- SHEPHERD, J. T; VANHOUTTE, P. M. The human cardiovascular system facts and concepts. **Raven Press**, p. 351, 1979.
- SIEGEL, G. et al. Prostacyclin, endothelium-derived relaxing factor and vasodilatation. **Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res**, v. 19, p. 267-270, 1989.
- SLOWING, K et al. Flavonoids glycosids from *Eugenia jamos* **Phytochem**, v. 37, n. 1, p. 255-258, 1994.
- SMITH, W. L. Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. **Am. J. Physiol**, n. 268, p. F181 - F191, 1992.
- SMITH, T L; HUTCHINS P. M. Anesthetic effects on hemodynamics of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **Am J Physiol**, v. 238, p. H539-H544, 1980.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VI Diretrizes brasileiras de hipertensão. **Rev. Bras. Hipertensão**, v. 17, n. 1, p. 1-69, 2010.
- STANKEVICIUS, E, et al. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. **Medicina**, v. 39, n. 4, p. 333-339, 2003.
- STENGEL, W. P et al. M<sub>2</sub> and M<sub>4</sub> Receptor Knockout Mice: Muscarinic Receptor Function in Cardiac and Smooth Muscle In Vitro. **J. Pharmacol. Exper Ther**, v. 292, n. 3, p. 877-885, 2000.
- STRELEC, M.A.A.M; PIERIN, A.M.G; A influência do conhecimento sobre a doença e a atitude frente à tomada dos remédios no controle da hipertensão arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 81, n. 4, p. 343-348, 2003.
- SVENDSEN, A. B; SCHEFFER, J. J. C. Natural products in therapy: prospects, goals and means in modern research. **Pharm Weeklad**, v. 4, p. 96-103, 1992.
- TADDEI, S. et al. Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. **Hypertension** v. 21, p. 929-933, 1993.
- TANAKA, Y, et al. NO-mediated Maxi K (Ca) channel activation produces relaxation of guinea pig aorta independently of voltage-dependent L-type Ca<sup>2+</sup> channels. **General Pharmacol**, v. 34, p. 159-165, 2000.

- TAKAHASHI, T; OWYANG, C. Characterization of vagal pathways mediating gastric accommodation reflex in rats. **J.Physiol**, v. 504, n. 2, p. 479-488, 1997.
- TEXEIRA, C.C et al. Absence of antihyperglycemic effect of jambolan in experimental and clinical models. **J Ethnopharmacol**, n. 71 p. 341-347, 2000.
- THORNELOE, K. S.; NELSON, M. T. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. **Canad J Physiol Pharmacol**, v. 83, p. 215–242, 2005.
- VIARO, F; NOBRE, F; EVORA; P.R.B. Expressão das óxidos nítrico sintetases na fisiopatologia das doenças cardiovasculares. **Arq Bras Cardiol**, v.74, n. 4, 2000.
- VIEGAS, C.J; BOLZANI, V.S; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- VORA, C. K.; MANSOOR, G. A. Herbs and alternative therapies: relevance to hypertension and cardiovascular diseases. **Cur Hypertens Reports**, v. 7, n.4, p.275-280, 2005.
- XAVIER, F.M. et al. extraction of red cabbage anthocyanins: optimization of the operation conditions of the column process. **Braz Arch Biol Technol** .v.51, n.1, p.143-152, 2008.
- WALLACE, T.C. Anthocyanins in cardiovascular disease. **American Soc Nut.** v. 2, p. 1-7 2011.
- WELLMAN, G. C. Ion channels and calcium signaling in cerebral arteries following subarachnoid hemorrhage. **Neurol Res**, v. 28, p. 690–702, 2006.
- WHITE S. W; MCRITCHIE R. J. Nasopharyngeal reflexes : Integrative analysis of evoked respiratory and cardiovascular effects. **Aust J Exp Biol Med Sci**, v. 51, p. 17-31,1973.
- ZIMPFER, M et al. Pentobarbital alters compensatory neural and humoral mechanisms in response to hemorrhage. **Am J Physiol**, v. 243, p. H713-H721, 1982.