

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

Ana Paula Gai Fuão

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA MURTA (*Blepharocalyx salicifolius*) E POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS SOBRE OS PARÂMETROS HEMODINÂMICOS DE RATOS.

Dissertação de Mestrado em Bioquímica

URUGUAIANA

2014

ANA PAULA GAI FUÃO

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA MURTA (*Blepharocalyx salicifolius*)
E POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS SOBRE OS
PARÂMETROS HEMODINÂMICOS DE RATOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cleci Menezes
Moreira

**Uruguaiiana
2014**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais)

F553e Fuão, Ana Paula Gai
EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA MURTA
(Blepharocalyx salicifolius) E POSSÍVEIS
MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS SOBRE OS
PARÂMETROS HEMODINÂMICOS DE RATOS. / Ana
Paula Gai Fuão. 53 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade
Federal do Pampa,
MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2014.
"Orientação: Cleci Menezes Moreira".

1. hipertensão. 2. Blepharocalyx
salicifolius. 3. L-NAME. 4. Losartan. 5.
Hexametônio. I. Título.

ANA PAULA GAI FUÃO

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA MURTA (*Blepharocalyx salicifolius*)
E POSSÍVEIS MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS SOBRE OS
PARÂMETROS HEMODINÂMICOS DE RATOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica.

Área de Concentração: Bioprospecção Molecular

Dissertação defendida e aprovada em: 12 de agosto de 2014.
Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Cleci Menezes Moreira – Orientadora.
Unipampa.

Prof^a. Dr^a. Liliane de Freitas Bauermann
UFSM

Prof^o Pos-Dr^o Paulo Cavalheiro Schenkel
UFPel

Este trabalho dedico à minha família,
que foi meu porto seguro durante
todo este processo.
Obrigada por estarem ao meu lado.

Meu pai Abilio (*in memoriam*),
minha mãe Elvira
e meu irmão Augusto

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve ao meu lado, mesmo quando pensava que estava sozinha nesta jornada, por ter me dado forças para superar e aprender com as dificuldades.

A meu pai, Abilio, que foi até seu último dia de vida, meu grande incentivador. Foi muito duro e difícil perdê-lo no meio desta caminhada do Mestrado, mas seus ensinamentos e confiança em mim fizeram com que eu permanecesse nela.

A minha mãe Elvira, meu maior exemplo de garra, agradeço por tudo. Por me levantar quando estava caída, por aguentar minhas difíceis crises, por não me deixar desistir, ser esta mulher dedicada e forte. Minha admiração é imensurável. Te amo muito.

A vocês, pai e mãe, que muitas vezes renunciaram aos seus sonhos para que eu pudesse realizar o meu, partilho a alegria deste momento.

Ao meu irmão Augusto, que mesmo estando longe, não deixou de estar do meu lado, torcendo e me incentivando a sempre crescer. Meu muito obrigada!

Aos meus demais familiares, tios, tias, primos e primas que sempre estiveram presente estimulando cada passo.

A minha orientadora Cleci, que me recebeu sem saber quem eu era e sem imaginar tudo o que ia acontecer durante esse tempo, muito obrigada. Obrigada pela dedicação, cuidado, paciência e constante incentivo demonstrado ao longo destes dois anos. Obrigada também pelos ensinamentos, orientações sempre úteis e precisas e pelas sábias palavras nos momentos de incerteza.

A mais que colega, amiga, Liane Santariano Sant'Anna. Muito obrigada por todos os ensinamentos, orientações e por não deixar de acreditar em mim quando dizia que jamais conseguiria canular os animais! Sem você nada disso seria possível. Muito muito muito obrigada!

A minha querida IC Catrine Ehle, que sempre esteve disposta a ajudar e me apoiar. Obrigada pelo companheirismo e pelo chimarrão de cada manhã durante o trabalho no laboratório.

A minha futura colega de profissão Maquelen, que me ajudou muito no laboratório, agradeço muito por estar sempre disponível a ajudar e escutar.

A amiga Caroline Martinez, que sempre foi super solícita, me aconselhando nos momentos em que não estava bem. Além das várias dicas e orientações de como fazer algumas coisas. Meu muito obrigada!

A amiga que tive a sorte de conhecer no dia da seleção do Mestrado, Michelle Antunes pela amizade e companheirismo durante as aulas teóricas do curso, pelos inúmeros convites de ir a sua casa para não ficar sozinha durante os finais de semana em Uruguaiana e tantas outras coisas que fazem com que ela fique para sempre no meu coração e na minha vida.

Aos meus amigos de Passo Fundo, Nicole T. de Mello, Elisa B. Martins, Graziela P. de Carvalho, Gilmar Felário, Natália Scandolara, Daiane Grando, Luiz Henrique L. Lodi, Lisiane Comin e tantos outros, pela amizade e apoio desde que resolvi me aventurar para as bandas da Fronteira e sempre estiveram do meu lado, contribuindo em todas as decisões que tomava e em todos os momentos fáceis e mais complicados.

A Psic. Maríndia Brandtner e a MD. Mari' Stela T. Menegaz Corral por sempre acreditarem e confiarem em minha competência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa pela oportunidade de realização deste trabalho e pela compreensão em vários momentos desta jornada.

“[...] talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. [...] não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”
(Martin Luther King)

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica é fundamentada como uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. A progressão da doença está intimamente ligada com alterações estruturais e funcionais cardíacas e vasculares além de promover danos em alguns órgãos alvo, como os rins, cérebro, além das alterações metabólicas, que produzem um aumento sensível nos riscos de doenças cardiovasculares. De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia a hipertensão arterial sistêmica apresenta uma alta prevalência e baixas taxas de controle, tornando-a um dos mais importantes problemas de saúde pública no Brasil. O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos é bastante antigo e muitas vezes seu uso é absolutamente empírico, sem nenhum estudo científico que embase essa prática. A *Blepharocalyx salicifolius*, conhecida como Murta, apresenta várias utilidades terapêuticas baseadas no conhecimento popular, entre elas o uso como digestivo, antibacteriano, antiespasmódico e anti-hipertensivo, entre outros. No presente trabalho foi avaliado o efeito hipotensor do extrato aquoso da *B. salicifolius* em ratos normotensos, e analisado, através do uso do L-NAME, da losartan e do hexametônio, qual seria seu possível mecanismo de ação. A avaliação dos efeitos hemodinâmicos foi realizada em ratos wistar normotensos, anestesiados com uretana (1,4 mg/Kg *i.p.*) e via canulação da artéria carótida (para a verificação da PAS, PAD e FC) e da veia jugular (para administração do extrato e drogas). O primeiro protocolo foi realizado para verificação do efeito do extrato sobre os parâmetros hemodinâmicos, utilizando uma curva dose-crescente do extrato (10, 25, 50, 75 e 100 mg/Kg) via intravenosa individualmente (cada grupo contendo 6 animais). O extrato aquoso foi administrado após 30 minutos de estabilização no equipamento, e permaneceram por 60 min. O segundo protocolo foi para avaliar alguns dos possíveis mecanismos envolvidos na resposta hipotensora. Foram utilizados: um inibidor da óxido nítrico sintase - L-NAME (L-N^G-nitroarginina metil ester) (30 mg/kg); um antagonista do receptor AT1 - Losartan, (10 mg/Kg), e um bloqueador ganglionar, Hexametônio (20mg/Kg). As drogas foram administradas após a estabilização, sendo feita uma nova estabilização para a administração do extrato (concentração 7,5 mg/Kg; volume de 200 µL) e registros realizados por 60 min. O extrato aquoso da *B. salicifolius* mostrou-se um potente hipotensor, reduzindo a pressão arterial de forma dose-independente, já que as quedas foram semelhantes indiferentemente da dose usada, sem provocar alterações na frequência cardíaca. Na avaliação dos possíveis mecanismos de ação foi observado que o bloqueio do receptor AT1 e administrado o extrato aquoso não houve modificação na hipotensão provocada pelo Losartan bem como após o bloqueio ganglionar com o hexametônio. Já quando induzida a hipertensão por L-NAME, o extrato aquoso causou queda de pressão arterial, sugerindo que a via do óxido nítrico não estaria envolvida. Estes resultados evidenciam pela primeira vez que o efeito hipotensor da administração aguda do extrato aquoso de *Blepharocalyx salicifolius*, possa ser via bloqueio dos receptores de angiotensina II tipo I e pela possível diminuição da resposta autonômica simpática.

Palavras-chaves: hipertensão, *Blepharocalyx salicifolius*, mecanismo de ação, L-NAME, Losartan, Hexametônio.

ABSTRACT

Hypertension is found as a multifactorial clinical condition characterized by high and sustained levels of blood pressure. Disease progression are intimately linked with structural and functional cardiac and vascular changes, promoting some damage in target organs such as the kidneys, brain, in addition to metabolic changes that produce a significant increase in the risk of cardiovascular diseases. According to the Brazilian Society of Cardiology, hypertension has a high prevalence and low control rates, making it one of the most important public health problems in Brazil. The use of medicinal plants for therapeutic purposes is quite old and often its use is completely empirical, no scientific study that basements this practice. *Blepharocalyx salicifolius*, known as Murta, has several therapeutic utilities based on popular knowledge, including use as digestive, antibacterial, antispasmodic and antihypertensive, among others. The present study evaluated the hypotensive effect of aqueous extract of *B. salicifolius* in normotensive rats and analyzed with L-NAME, the losartan and hexamethonium, which would be its possible mechanism of action. The evaluation of the hemodynamic effects was performed in normotensive Wistar rats, anesthetized with urethane (1.4 mg / kg *i.p.*) and cannulated in the carotid artery (for verification of SBP, DBP and HR) and the jugular vein (for administration of the extract and drugs). The first protocol was performed to verify the effect of the extract on the hemodynamic parameters using a dose increasing curve of the extract (10, 25, 50, 75 and 100 mg/kg) intravenously individually (each group containing six animals). The administration of the aqueous extract was after 30 minutes of stabilization in the equipment, and they remained for 60 min. The second protocol was to evaluate some of the possible mechanisms involved in the hypotensive response. Were used: an inhibitor of nitric oxide synthase - L-NAME (L-N^G-L-nitroarginine methyl ester) (30 mg / kg); AT1 receptor antagonist - losartan (10 mg / kg), and a ganglionic blocker - hexamethonium (20mg/kg). Drug administration was performed after stabilization, performing a new stabilization for the administration of the extract and records kept for 60 min. The aqueous extract of *B. salicifolius* proved a potent hypotensive effect, reducing blood pressure in a dose-independent way since the declines were similar regardless of the dose used, and without effect on heart rate. In evaluation of the possible mechanism of action it was observed, when the AT1 receptor were blockade and the extract was administered, that there was no change in blood pressure caused by losartan as after ganglionic blockage. When hypertension was induced by L-NAME, the extract caused arterial pressure low, suggesting that the nitric oxide pathway could not be involved. These results show for the first time that the hypotensive effect of acute administration of *Blepharocalyx salicifolius* aqueous extract may be by blockade of angiotensin II type 1 receptors and the possible reduction in sympathetic autonomic response.

Keywords: hypertension, *Blepharocalyx salicifolius*, mechanism of action, L-NAME, Losartan, Hexamethonium.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1	Sistema Renina-angiotensina-aldosterona	22
Figura 2	Disfunção endotelial na pressão arterial alta.....	23
Figura 3	<i>Blepharocalyx salicifolius</i>	26

ARTIGO

Figura 1	Schematics of the preparation of the aqueous extract and for the acquisition of hemodynamic data in protocol dose curve	30
Figura 2	Schematics for the acquisition of hemodynamic data in the protocol of evaluation of the mechanisms of hypotensive action	31
Figura 3	Effect of different doses of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on systolic blood pressure.....	32
Figura 4	Effect of different doses of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on diastolic blood pressure.....	32
Figura 5	Effect of different doses of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on heart rate.....	32
Figura 6	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on systolic blood pressure, and diastolic blood pressure after L-NAME.....	33
Figura 7	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on heart rate after L-NAME.....	34
Figura 8	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on systolic blood pressure, and diastolic blood pressure losartan	35
Figura 9	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract after losartan on heart rate	35
Figura 10	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on systolic blood pressure, and diastolic blood pressure, after of hexamethonium.....	36
Figura 11	Effect of <i>Blepharocalyx salicifolius</i> aqueous extract on heart rate after of hexamethonium.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE - angiotensin converting enzyme

AH - Arterial hypertension

AT1 – Receptor de angiotensina tipo 1

DBP – Diastolic Blood Pressure

ECA – Enzima conversora de angiotensina

FC – Frequência cardíaca

HA – Hipertensão arterial

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

HR – Heart Rate

JNC - Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure

Kg - Quilograma

L-NAME – L-N^G-nitroarginina metil ester

MBP – Mean blood pressure

mg – Miligramas

mL - Mililitros

mmHg – Milímetros de mercúrio

NO – Nitric oxide (Óxido Nítrico)

NOS – Óxido nítrico syntase

OMS – Organização Mundial da Saúde

PA – Pressão arterial

PAD – Pressão arterial diastólica

PAM – Pressão arterial média

PAS – Pressão arterial sistólica

SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia

SBP – Systolic Blood Pressure

SNS – Sistema Nervoso Simpático

SHR – Spontaneously hypertensive rats (ratos espontaneamente hipertensos)

SRAA – Sistema Renina-angiotensina-aldosterona

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos Gerais	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1. Hipertensão Arterial.....	18
3.2. Plantas Medicinais	24
3.3. <i>Blepharocalyx salicifolius</i>	26
ARTIGO	28
INTRODUCTION	28
MATERIALS AND METHODS.....	29
Animals	29
Botanical Material	29
Hemodynamic Parameters.....	30
Statistical Analysis	31
RESULTS	31
DISCUSSION.....	37
CONCLUSION.....	39
REFERENCES	39
DISCUSSÃO	43
CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

Hipertensão é o termo médico para designar a elevação sistêmica crônica da pressão arterial (PA), onde de acordo com as VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão da Sociedade Brasileira de Cardiologia, a HAS é um conjunto de alterações clínicas caracterizadas por níveis elevados e sustentados de PA, acima de 140 mmHg de pressão arterial sistólica (PAS) e de 90 mmHg de pressão arterial diastólica (PAD) (SBC, 2010).

A hipertensão ocorre devido à uma interrupção da regulação vascular resultante de um mau funcionamento dos mecanismos de controle da pressão arterial, que entre estes mecanismos intimamente ligados na regulação da pressão sanguínea estão o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), o Sistema Nervoso Central e Periférico, a frequência cardíaca (FC), o óxido nítrico (NO) e a regulação do volume sistólico (KAUR et al., 2012. MAYET et al., 2003).

A presença da natureza para fins terapêuticos é tão antigas quanto a civilização humana e, assim, produtos de plantas, minerais e animais se tornaram fundamentais para a saúde e o tratamento de doenças. Assim, as plantas medicinais foram se tornando importantes na utilização popular e na descoberta de novos fármacos (BRASIL, 2012).

Segundo Alvim et al. (2006) por muitos anos o conhecimento popular e suas credences fez do uso de plantas e outras fontes naturais como a principal origem de matéria prima para o tratamento de doenças que acometiam a população e para, assim, aumentar suas chances de sobrevivência através da melhoria de sua saúde.

Tabassum et al. (2011) dizem que, entre 75 e 80% da população mundial utiliza plantas medicinais para o tratamento de suas enfermidades, e essa característica é encontrada principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. Conforme a Organização Mundial da Saúde, cerca de 82% da população brasileira faz uso de produtos de origem vegetal para o tratamento de suas enfermidades, principalmente devido ao conhecimento adquirido popularmente através dos anos e esse campo é riquíssimo, visto que há uma grande miscigenação de culturas, fazendo com que o conhecimento popular seja difundido de geração em geração, sem comprovação científica dos seus supostos efeitos terapêuticos (BARCELOS et al., 2010).

O Brasil é o país com a maior diversidade de espécies de plantas no mundo (RODRIGUEZ et al., 2013). Entre as espécies vegetais com potencial medicinal encontradas no Brasil, a *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg é uma planta arbórea com aproximadamente 20 metros de altura, pertencente à família Myrtaceae, e endêmica da América do Sul, principalmente nos países da Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil (SIQUEIRA et al., 2011) e comumente utilizada pela população no Rio Grande do Sul para diversos fins terapêuticos, entre eles o uso como hipotensor (RITTER, et al., 2002, PIRIZ et al., 2011).

Assim, procuramos nesse estudo avaliar os efeitos do extrato aquoso de *Blepharocalyx salicifolius* sobre parâmetros hemodinâmicos em ratos normotensos e investigar os possíveis mecanismos de ação do extrato aquoso desta planta.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Determinar os efeitos do extrato aquoso de *Blepharocalyx salicifolius* sobre a hemodinâmica através da medida da pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca em ratos Wistar, bem como investigar os possíveis mecanismos de ação nestes parâmetros em ratos normotensos.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a resposta de diferentes doses do extrato aquoso de *Blepharocalyx salicifolius* na pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca;
- Determinar o efeito do extrato de *Blepharocalyx salicifolius* na pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca em ratos pré-tratados com L-NAME;
- Determinar a ação do extrato de *Blepharocalyx salicifolius* na pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca por meio do bloqueio dos receptores AT1, com losartan;
- Verificar o efeito do extrato de *Blepharocalyx salicifolius* na pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca com o bloqueio ganglionar, com o hexametônio.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Hipertensão Arterial

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia, juntamente com a Sociedade Brasileira de Hipertensão e a Sociedade Brasileira de Nefrologia, presente na VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2010), a hipertensão arterial sistêmica é “uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA)”. Outro conceito aceito é que a hipertensão é uma síndrome cardiovascular que aparece de etiologias complexas e inter-relacionadas (GILES et al., 2009).

A PA é o produto do débito cardíaco e resistência vascular periférica (TALGAHAGODA et al., 2013), onde o débito cardíaco é caracterizado pelo volume de sangue bombeado para fora do coração através da artéria aorta por minuto e é controlado pelo ventrículo esquerdo (MAYET et al., 2003). A resistência periférica total é caracterizada pelas pequenas artérias e arteríolas com diâmetro entre 30 e 300 μm , onde qualquer alteração mínima neste diâmetro pode provocar alterações significativas sobre o fluxo ou resistência desses vasos promovendo uma remodelação ou hipertrofia vascular, que seria uma tentativa de compensação, para preservar o débito cardíaco (MAYET et al., 2003) e é influenciada por vários mecanismos vasoativos, controlados por fatores locais, humorais, do sistema nervoso central e renais (SINGH et al., 2010).

Resumidamente, o aumento da pressão sanguínea se caracteriza pelo resultado do aumento do débito cardíaco, do aumento da resistência vascular periférica ou da combinação desses dois fatores (MAYET et al., 2003). A progressão da doença está intimamente ligada com alterações estruturais e funcionais cardíacas e vasculares além de promover danos em alguns órgãos alvo, como os rins, cérebro, além das alterações metabólicas, que produzem um aumento sensível nos riscos de doenças cardiovasculares (SBC, 2010; GILES et al., 2009).

A Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010) diz que a hipertensão arterial sistêmica (HAS) apresenta uma alta prevalência e baixas taxas de controle, tornando-a um dos mais importantes problemas de saúde pública no Brasil. Essas informações são mais impactantes quando sabemos que no país são cerca de 17 milhões de portadores de HA, isso correspondendo a 35% da população de 40 anos ou mais (BRASIL, 2006). E ainda, segundo a Organização Mundial da Saúde, o aumento da pressão sanguínea é responsável por

aproximadamente 51% das mortes provocadas por ataque cardíaco e 45% das doenças coronarianas, além de ser responsável direto por 7.5 milhões de mortes no ano de 2004 (WHO, 2012).

O *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure* (JNC 7) teve como finalidade uma abordagem baseada em evidências para a prevenção e o tratamento da hipertensão. Este relatório aponta que a prevalência da HA aumenta com o avanço da idade, para o ponto em que mais da metade das pessoas com idade entre 60 e 69 anos de idade e cerca de três quartos daqueles com 70 anos ou mais são afetados. Esse trabalho apresentou uma reclassificação da hipertensão, onde foi incluído o termo pré-hipertensão para aqueles pacientes com PAS entre 120 e 139 mmHg e PAD entre 80 e 89 mmHg, mas que não são hipertensos. Essa nova abordagem tem por objetivo a identificação prematura desses indivíduos para que possa ser introduzido um novo estilo de vida e com isso reduzir a probabilidade de desenvolvimento da doença (CHOBANIAN et al., 2003).

A hipertensão é classificada pela JNC 7 como hipertensão estágio 1, caracterizada por níveis pressóricos sistólicos entre 140 e 159 mmHg e diastólicos entre 90 e 99 mmHg, sem apresentar danos aos órgãos-alvos. Já o estágio 2 da doença é o mais grave, onde a PAS está acima de 160 mmHg e a PAD acima de 99 mmHg. Estes indivíduos normalmente já apresentam lesões mais significativas e se não tratados e controlados, os riscos de danos mais graves são bastante evidentes (CHOBANIAN et al., 2003).

O desenvolvimento da HAS resulta de um complexo de interações genéticas, ambientais e demográficas (OPARIL et al., 2003). Sendo assim, vários fatores de risco estão associados ao desenvolvimento da elevação da PA e conseqüentemente a hipertensão. Giles et al. (2009) e as Diretrizes Brasileiras da Hipertensão da SBC (2010) citam como fatores importantes nesse contexto além da idade, o excesso de peso e obesidade, que está associada com a elevação arterial principalmente na juventude, a hipercolesterolemia está presente em aproximadamente 40% dos pacientes com hipertensão primária, elevados níveis de glicose no sangue, resistência à insulina ou o diabetes. Segundo Singh et al. (2010) estes últimos fatores estão relacionados geneticamente e são explicados por três mecanismos básicos causados pela hiperinsulinemia: aumento da reabsorção renal de sódio; estimulação do sistema nervoso simpático e a própria insulina agindo como um fator de crescimento. Além desses, doença renal crônica, histórico familiar, sedentarismo, hábitos de fumar são outros elementos significativos para o desenvolvimento dessa doença

Vários mecanismos fisiopatológicos estão envolvidos no desencadeamento da hipertensão, entre eles, fatores como o aumento da atividade do sistema nervoso simpático, que pode estar relacionado aos elevados índices de estresse da sociedade, além de uma aumentada produção hormonal, que acarretaria um aumento na retenção de sódio, a própria ingesta de sódio em longo prazo, um aumento inadequado na secreção da renina, elevando conseqüentemente a produção de angiotensina II e aldosterona, níveis deficitários de vasodilatadores como o NO, alterações nos mecanismo de transporte de íons nas células são alguns dos multifatores determinantes para a elevação e manutenção da PA (OPARIL et al., 2003).

Além disso, existe um complexo mecanismo de resposta ao aumento da PA a curto, médio e longo prazo. A curto prazo, segundos após o aumento da PA envolve a associação do sistema de barorreceptores, o nervo vago e o centro vasomotor do tronco cerebral. A médio prazo, após alguns minutos ou horas, estão envolvidos mecanismos com o SRAA, o hormônio antidiurético e o aparelho justaglomerular renal. Já a longo prazo, estão envolvidos os mecanismos da natriurese e na diurese controlados pelo rim. Assim, a pressão de perfusão renal exerce uma profunda influência sobre a excreção de sódio e água, quando a PA se eleva, a excreção renal de água e sódio aumenta, reduzindo o volume sanguíneo, e em conseqüência o débito cardíaco e a PA (SINGH et al., 2010).

O sistema nervoso autônomo, como já foi dito, está intimamente ligado ao controle da PA. Desequilíbrio autonômico de origem do sistema nervoso central explica a elevação da FC na hipertensão, assim um aumento na atividade simpática eleva a pressão sanguínea e contribui para o desenvolvimento e a manutenção da hipertensão através de mecanismos de estimulação cardíaca, renal e da vasculatura periférica, provocando assim um aumento do débito cardíaco, da retenção de líquidos e da resistência vascular (OPARIL et al., 2003; BROOK et al., 2000). O reflexo barorreceptor arterial de alta pressão é composto de uma via nervosa que inclui os barorreceptores arteriais, as fibras nervosas aferentes, o centro cardiovascular medular e as fibras simpáticas e parassimpáticas. A outra via efetora corresponde ao coração e as veias periféricas. Assim, a estimulação SNS promove vasoconstrição periférica, aumento da frequência cardíaca, liberação de noradrenalina das glândulas supra-renais, e um conseqüente aumento da pressão arterial sistêmica. Já foi demonstrado que os barorreceptores posicionados no arco aórtico e o seio carotídeo respondem ao aumento da pressão causando um reflexo de bradicardia vagal e inibição da via simpática do sistema nervoso central (SINGH et al., 2010).

A ativação do SRAA é conhecida há mais de um século e é um importante mecanismo regulatório da PA (SANTOS et al., 2012). Quando é ativado, inicia sua ação através da liberação da renina, esta quando chega ao fígado age sobre o angiotensinogênio, que é um precursor da angiotensina, formando angiotensina I. Esta vai até os pulmões e é transformada em angiotensina II, através a ação da ECA. A angiotensina II tem dois mecanismos básicos de ação na pressão arterial, um através da vasoconstrição potente e outro pela estimulação da produção de aldosterona, um hormônio responsável pelo balanço de sódio e de potássio, aumentando a PA pelos dois mecanismos, além de promover outros efeitos no sistema cardiovascular (SANTOS et al., 2012, ATLAS, 2007).

Sendo assim, o SRAA essencialmente é uma cascata hormonal que se inicia através da biossíntese de renina pelas células justaglomerulares renais, e é regulada por basicamente quatro mecanismos interdependentes. O mecanismo barorreceptor encontrados nas arteríolas aferentes que são sensíveis a alteração na pressão de perfusão, alterações na concentração de cloreto de sódio nas células da mácula densa nos túbulos distais, estimulação do nervo simpático via receptores beta adrenérgicos e o feedback negativo produzido pela angiotensina II nas células justaglomerulares. A renina cliva o angiotensinogênio produzido nos fígado e outros órgãos em angiotensina I, que é um peptídeo inativo que necessita da conversão a angiotensina II para ter efeitos biológicos, conforme a figura 1. Estes efeitos vão ser dependentes do tipo de receptor a qual a angiotensina é ligada. A angiotensina II age diretamente em pelo menos quatro subtipos de receptores de angiotensina II (AT1, AT2, AT3 e AT4), porém apenas os receptores AT1 (figura 1), que possui suas atribuições fisiológicas e fisiopatológicas mais bem definidas, como seus efeitos sobre o sistema cardiovascular, promovendo vasoconstrição, aumento da pressão sanguínea, da contratilidade miocárdica e aumento na reabsorção de sódio no rim, ativação do sistema nervoso simpático e estimulação da síntese de aldosterona (ATLAS, 2007) e o receptor AT2, que aparentemente estaria envolvido em uma vasodilatação, que pode envolver a bradicinina e óxido nítrico (SINGH et al., 2010).

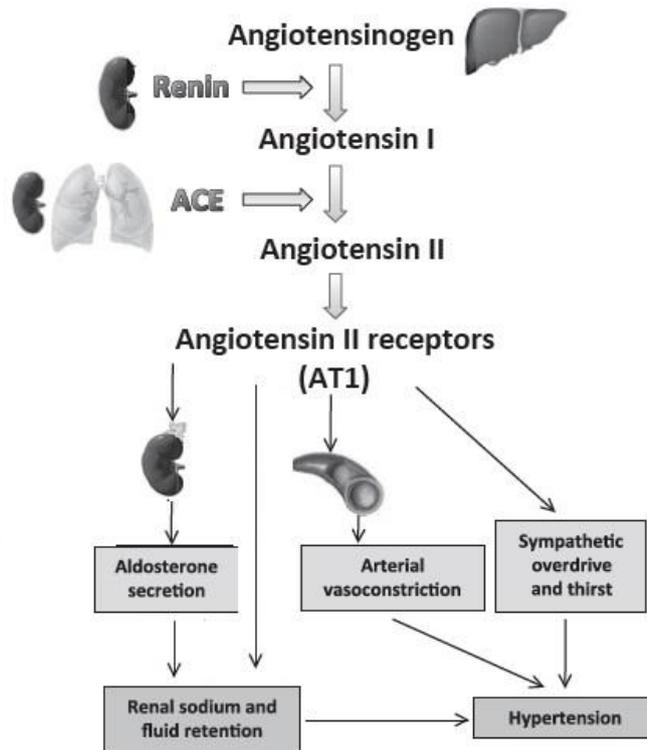


FIGURA 1 - Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

Adaptado de SANTOS P. C. J. L., KRIEGER, J. E., PEREIRA, A. C., 2012.

O revestimento endotelial dos vasos sanguíneos é crítico para a saúde vascular e constitui uma das principais defesas contra a hipertensão. A disfunção endotelial, mostrada na figura 2, se caracteriza pela liberação alterada de fatores relaxadores derivados do endotélio (por exemplo, NO e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio) e pelo aumento da liberação de fatores constritores, pró-inflamatórios, pró-trombóticos e de crescimento derivados do endotélio. Estes últimos incluem a endotelina, o tromboxano e o fator de crescimento transformador beta. O endotélio de todos os vasos sanguíneos possui a enzima óxido nítrico sintase (NOS), que pode ser ativada por bradicinina ou acetilcolina, ou pela força de cisalhamento que acompanha a hipertensão decorrente do aumento da pressão de pulso. Uma vez ativada, a NOS converte L-arginina em citrulina, uma substância inerte, e óxido nítrico (NO), um gás volátil que se difunde para a musculatura vascular lisa adjacente e ativa uma série de quinase G que culminam em vasodilatação e na proteção do endotélio (LIBBY et al., 2010).

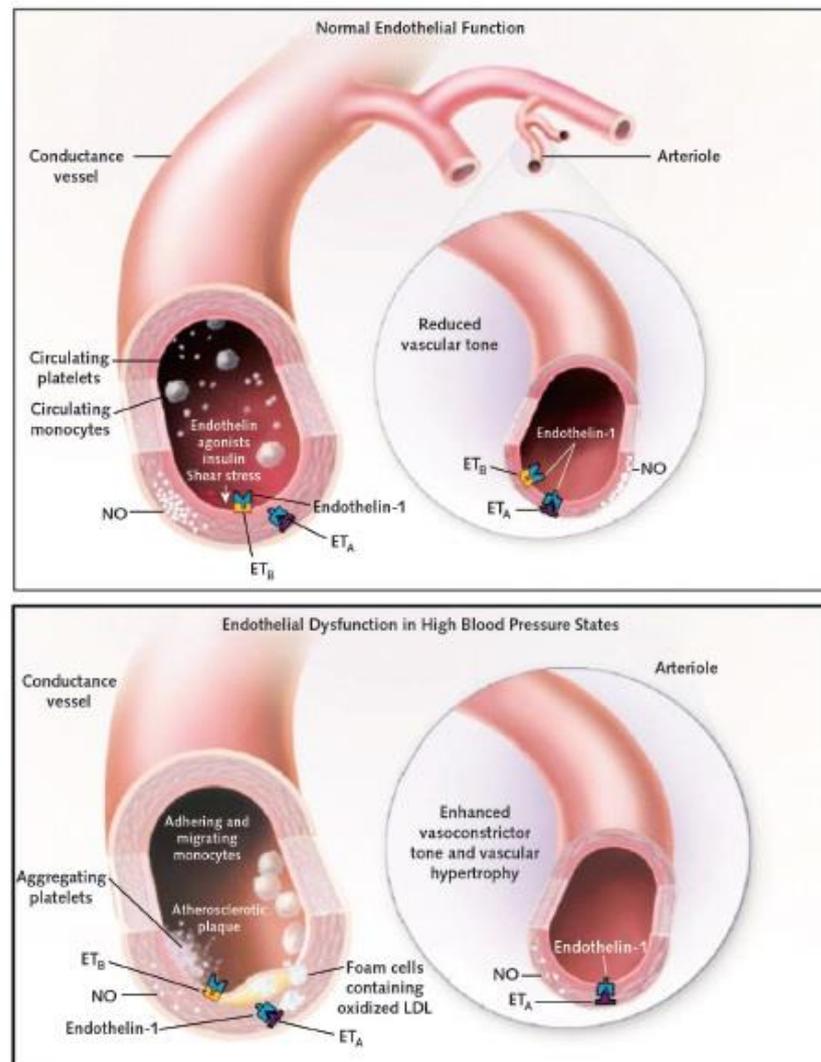


FIGURA 2 - Disfunção endotelial na hipertensão arterial.
Adaptado de OPARIL et al., 2003.

Em artérias normais e arteríolas de resistência, plaquetas e monócitos circulam normalmente e a oxidação das lipoproteínas é prevenida pela presença de NO e pela síntese constante do NO. Nas arteríolas menores, o tônus vascular reduzido é mantido pela constante liberação de NO. A endotelina-1 não induz vasoconstrição ou induz uma leve vasoconstrição quando se liga aos receptores de endotelina tipo A. Já na microvasculatura do paciente hipertenso, há uma diminuição da atividade do NO e um aumento da atividade vasoconstritora mediada por receptor de endotelina-1 que resultam em aumento do tônus vascular, aumentando a resistência vascular sistêmica (OPARIL et al., 2003).

3.2. Plantas Medicinais

Plantas medicinais são utilizadas pela humanidade desde o começo das civilizações (FRISHMAN et al., 2004) e talvez a constante busca da cura de doenças pela ingestão de ervas tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (VEIGA JR et al., 2006). Alguns registros históricos mostram que há mais de 5000 anos os chineses já colecionavam listagens de substâncias de origem vegetal para cura de suas enfermidades (SOUZA et al., 2010). Por muitos anos, o conhecimento popular fez do uso de plantas a principal fonte de recursos para o tratamento de enfermidades que acometiam a população e para, assim, aumentar suas chances de sobrevivência através da melhoria de sua saúde (ALVIM et al., 2006). As observações da população sobre a utilização destas plantas como medicamentos fez com que muitas destas fossem sintetizadas industrialmente, reduzindo assim seu consumo fitoterápico, mesmo assim, há ainda muitos usuários de plantas medicinais ao redor do mundo (MACIEL et al., 2002).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), planta medicinal é “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”. Tem-se conhecimento que 80% da população mundial depende das fontes naturais no que se refere à atenção primária à saúde, e destes, 85% usa plantas ou preparações com base em vegetais (BRASIL, 2006). No Brasil, há estimativas que o uso de plantas medicinais seja oriundo da miscigenação do povo brasileiro, principalmente pela influência dos índios, negros e europeus (BARCELOS et al., 2010).

No entanto, as plantas medicinais são consumidas pela população com pouca ou nenhuma comprovação das suas propriedades farmacológicas, sendo muitas vezes indicadas por comerciantes ou usuários para fins diferentes e sem levar em consideração uma possível toxicidade ou presença de substâncias não identificadas, adulterantes, diluentes, ou simplesmente misturas com outros extratos vegetais, comprometendo a qualidade do produto natural - fitoterápico, o que vem sendo abordado recentemente em publicações científicas (VEIGA JR et al., 2006, MACIEL et al., 2002).

Uma das atitudes desenvolvidas pelo governo Brasileiro foi a criação, em 2006, através do Ministério da Saúde, da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), direcionada aos pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde, que tem como um dos seus objetivos o incentivo ao uso de plantas medicinais como tratamento, já que “O Brasil

possui grande potencial para o desenvolvimento dessa terapêutica, como a maior diversidade vegetal do mundo, o uso de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e tecnologia para validar cientificamente este conhecimento” (BRASIL, 2006).

Nas últimas décadas, de acordo com Tabassum et al. (2011), uma série de esforços tem sido concentrados para a pesquisa em plantas locais para comprovar seus efeitos e usos tradicionais. Nesse contexto, várias plantas já foram estudadas para avaliar seus possíveis efeitos hipotensores e seus valores terapêuticos como anti-hipertensivos. Algumas dessas plantas medicinais tiveram seus efeitos validados e outros resultados.

3.3. *Blepharocalyx salicifolius*

A *Blepharocalyx salicifolius* foi descrita pelo botânico alemão Otto Karl Berg (1815-1866) em 1857 e pertence ao gênero *Blepharocalyx* (CARVALHO, 2013). É uma árvore que pode alcançar até 30 metros de altura, como é mostrada na figura 3, pertencente à família Myrtaceae, e ocorre tanto no cerrado quanto na floresta tropical brasileira, no Equador, Paraguai, Argentina, Uruguai e até o sul do Chile (SIQUEIRA et al., 2011, CARVALHO, 2013). Outras duas espécies desse gênero são bastante frequentes, porém apresentam distribuição mais restrita. A *B. cruckshanksii* está localizada mais nas áreas centrais e do sul do Chile e a *B. eggersii* está presente principalmente nas Antilhas, Venezuela e no norte do Brasil (LIMBERGER et al., 2001). A *B. salicifolius* está amplamente distribuída pelo Brasil, ocorrendo desde o estado de Goiás até o Rio Grande do Sul (RIBAS, 2011). É conhecida na Argentina principalmente como Arrayán e no Brasil, dependendo da localidade, é chamada de Murta, Guamirim, Cambui, Cambuim ou Maria-preta (CARVALHO, 2013).



FIGURA 3- *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg.

Fonte: Ana Paula Gai Fuão, 2013.

A murta apresenta várias utilizações na medicina popular, dentre elas o uso como digestivo, em casos de náuseas, como hipotensor, adstringente, antibacteriano,

antiespasmódico, em casos de tosse, bronquite, reumatismo, artrite, sinusite e entorses (CERON et al., 2007). Algumas atividades biológicas da infusão de folhas desta planta já foram estudadas e demonstraram que ela apresenta ações antibacterianas contra *Stapylococcus aureus* e *Echerichia coli*, ações anti-inflamatórias, antiespasmódicas, antinociceptivas, além de atividades contra leishmaniose, paracoccidioidomicoses e também contra alguns tipos de células tumorais *in vitro* (LIMBERGER et al., 2001; SIQUEIRA et al., 2011).

Em estudos fitoquímicos com extratos da *B. salicifolius*, foram detectados além de óleos voláteis, flavonóides, triterpenóides e taninos. Um estudo de Limberger e colaboradores (2001) identificou, através da utilização de cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massas do óleo essencial das folhas frescas da *B. salicifolius* um total de 42 compostos, e dentre estes compostos foi observado que os componentes existentes em maior percentual pertencem a classe dos monoterpenos oxigenados (49,4%), sendo o majoritário o 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptol, com 25.2%, seguido do β -cariofileno (22,9%) e o linalol (20,4%). Um estudo de Lalhó et al. (2002), utilizando modelos animais *in vivo* demonstrou que o 1,8-cineol, em administração intravenosa, diminuiu significativamente a pressão sanguínea de ratos. Além disso, no mesmo estudo, mas utilizando a aorta isolada dos ratos *in vitro* mostrou uma atividade vaso relaxante, que os autores sugerem estar relacionada com a redução da resistência vascular periférica do músculo liso.

4. ARTIGO

BLEPHAROCALIX SALICIFOLIUS AQUEOUS EXTRACT PROMOVE HYPOTENSIVE EFFECT BY AT1 RECEPTOR BLOCKAGE IN NORMOTENSIVE RATS.

INTRODUCTION

Arterial hypertension (AH) is the most common chronic clinical disorder in the world. According to WHO (2013), in 2008, worldwide, approximately 40% of adults aged 25 and above had been diagnosed. In Brazil, according to the Brazilian Society of Cardiology (2010), about 17 million people are carriers of AH, corresponding to 35% of the population 40 years and over. Therefore, hypertension should not be considered only as a disease but as one of the most significant and important modifiable risk factors for premature death due to cardiovascular and cerebrovascular diseases and it is defined as a systolic blood pressure equal to or above 140 mm Hg and/or diastolic blood pressure equal to or above 90 mm Hg.

According to the World Health Organization (WHO), medicinal plant is: “any plant that has, in one or more organs, substances that can be used for therapeutic purposes or which are precursors for semi-synthetic drugs”. It has been know that 80% of the world population depends on natural resources in relation to primary health care, and from these, 85% use plants or plant-based preparations (BRASIL, 2006). In Brazil, however, medicinal plants are consumed by people with little or no knowledge of their pharmacological properties. And the plants are often indicated by sellers or users, for different purposes and without regard to a possible toxicity or presence of unidentified substances, adulterants, diluents, or simply mixed with other plant extracts, compromising the quality of the natural product - herbal medicine, which has been recently discussed in scientific publications (VEIGAS JR et al., 2006., MACIEL et al., 2002).

The *Blepharocalyx salicifolius*, known as "Murta" in Brazilian Portuguese, is widely distributed in South America, growing from the Equator to the south of Argentina and Chile, and Brazil in the mid-west to the south. (RIBAS, 2011). In folk medicine, Murta is used

as a digestive medicine, antispasmodic, bronchitis, sinusitis, rheumatism, arthritis and hypotensive (CERON et al., 2007). Some studies have shown biological activities in the infusing leaves of this plant as antibacterial, anti-inflammatory, antispasmodic, antinociceptive, and activities against leishmania, and some types of tumor cells (LIMBERGER et al., 2001; SIQUEIRA et al., 2011).

Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of *Blepharocalyx salicifolius* on hemodynamic parameters in rats and elucidate the mechanism of action of this response.

MATERIALS AND METHODS

Animals

The rats used were 90 days old Wistar rats of 320g purchased from Federal University of Santa Maria, which were maintained in appropriate cages, in a controlled environment with a temperature between 20 and 22 °C and a cycle light of 12 hours a day, with water and food *ad libitum*.

For each protocol a N = 06 animals / group was used, in agreement with the International Principles for Research Involving Animals (Geneva), with Brazilian legislation prepared by Law No. 11.794/2008 (Procedures for scientific use of animals), Decree 24.645/34 (animal rights) and approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA), Federal University of Pampa (protocol number 020/2013).

Botanical Material

The leaves of *Blepharocalyx salicifolius* were collected in the urban area of Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil, in September 2013 and botanically identified and cataloged in UNIPAMPA, campus São Gabriel, RS, Brazil, where a voucher specimen was deposited in the Herbarium under its identification HBEI 722 .

After collection, the fresh leaves were submit to a wash in 10% hypochlorite solution for one hour, rinsed in tap water for approximately 15 minutes, dried at 40 °C for 05 days and then ground. The extract was prepare by an infusion of 10% for 10 minutes, filtered and dried at 40 °C in a greenhouse, based on the method proposed by Vinagre et al. (2010). For administration via *i.v in bolus*, the extract was resuspend in saline.

Hemodynamic Parameters

Rats were anesthetize with urethane (1.4 mg / kg, *i.p.*) underwent surgery for carotid artery catheterization (to verification of hemodynamic parameters) and the jugular vein (to administration of the extract and drugs). For this procedure, we used polyethylene catheters (PE 10 - Clay-Adams), filled with heparinized saline (100 IU/mL), and connected to a pressure transducer coupled to an analogic to digital converter (Biopac Systems MP150, Inc., CA).

To check the effect of the extract on the hemodynamic parameters increasing a dose curve was performed, it was administered 10, 25, 50, 75 and 100 mg/kg of the extract with volume of 200µL saline solution, where each group of six animals corresponded to a dose. The animals remained 30 minutes in the equipment for stabilization, than the extract was administered. The records of SBP, DBP and HR were make for a period of 60 minutes.

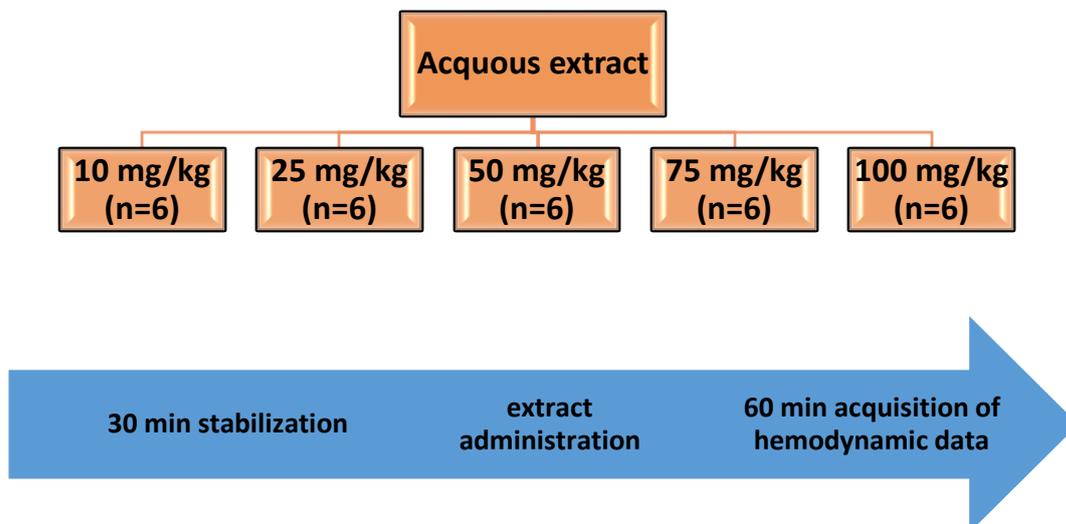


Figure 1: Schematics of the preparation of the aqueous extract and for the acquisition of hemodynamic data in protocol dose curve

To investigate some of the possible mechanisms involved in the hypotensive response, we used: L-NAME, 30 mg/kg, an inhibition of NO synthesis; Losartan, 10 mg/kg, an

antagonists of angiotensin II AT1 receptors and Hexamethonium, 20mg/kg, a ganglionic blockade (CHASWAL et al., 2011, COLLISTER et al, 1996, BIANCARDI et al., 2007). The drugs were injected after 30 minutes of stabilization, after a new stabilization for the administration of the extract was made (concentration 7.5 mg/kg, volume 200 μ L) and registrations performed for 60 min.

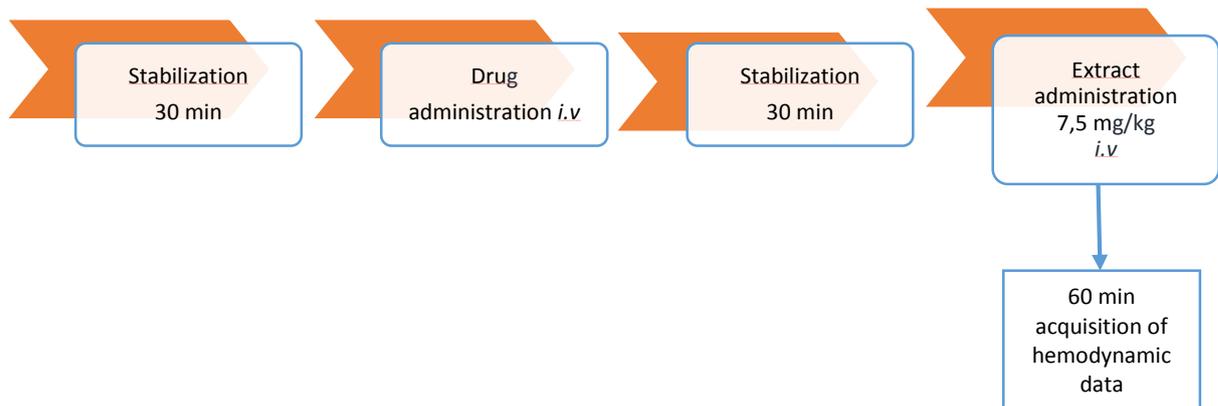


Figure 2: Schematics for the acquisition of hemodynamic data in the protocol of evaluation of the mechanisms of hypotensive action

Statistical Analysis

Data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). All analyzes were performed using Student's t-Test, $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

The extract demonstrated to be an effective hypotensive lowering BP in a dose-independent manner, since the declines were similar regardless of the dose used. Figure 3 and 4 shows SBP and DBP, respectively, where no matter how low the dose there is already a significant drop, independently of how high was the dose maintenance time. After 30 minutes of the administration of the extract, BP began to return to the normal values, while at a dose of 100 mg / kg animals died after this time.

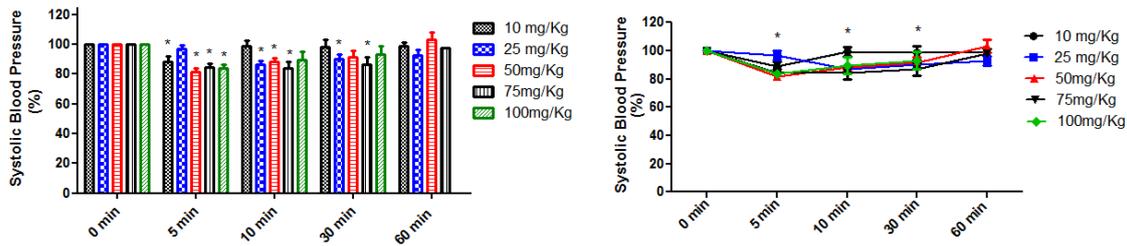


Figure 3 - Effect of different doses of aqueous extract of *Blepharocalyx salicifolius* on systolic blood pressure. * $p < 0,05$ vs 0 min (N=6).



Figure 4 - Effect of different doses of aqueous extract of *B. salicifolius* on diastolic blood pressure. * $p < 0,05$ vs 0 min (N=6).

The HR (Figure 5) did not change, except for the dose of 100 mg/kg where there were deaths, and the animals already had weaker vitals.

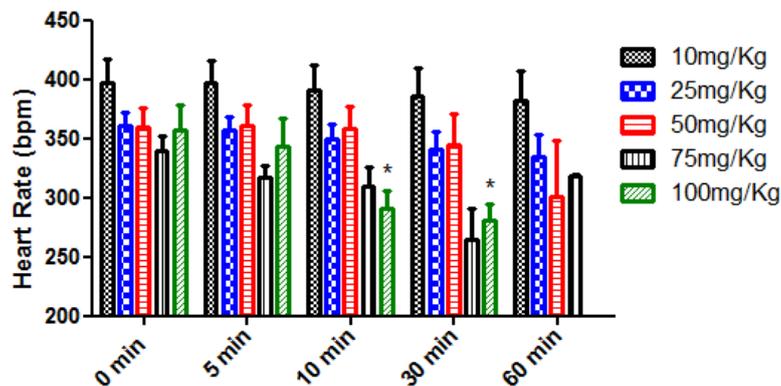


Figure 5 - Effect of different doses of aqueous extract of *Blepharocalyx salicifolius* on heart rate. * $p < 0,05$ vs 0 min (N=6).

Specific drugs were administered to evaluate the possible mechanism of the hypotensive action caused by the extract. Tests started with a dose of 10mg/kg as this has been proven effective, but the decreased was very sudden (data not shown). When we decrease the dose to 7.5 mg/kg the result was satisfactory..

As expected, L-NAME caused a significant increase of BP due to inhibition of NO synthase, from acute administration of analogues of L-arginine, L-NAME, it causes severe renal

vasoconstriction and hypertension, possibly because of an abrupt inhibition of the synthesis of NO. Thus, these observations indicate that the local release of NO in the microcirculation may occur on a continuous basis, thereby modulating the effects of local and circulating vasoconstrictors and helping finely regulate blood pressure and blood flow to the organ. Hence, the sudden increase in BP measurements after administration of intravenous L-NAME (BRYANT et al., 1995).

When administering the extract in L-NAME hypertensive animals, there was a decrease in BP from 5 min and held until 60 min (Figure 6), demonstrating hypotensive action of this extract and indicating that the hypotensive action demonstrated in normotensive animals would not be through NO. The administration of the extract after L-NAME did not cause alterations in heart rate (Figure 7).

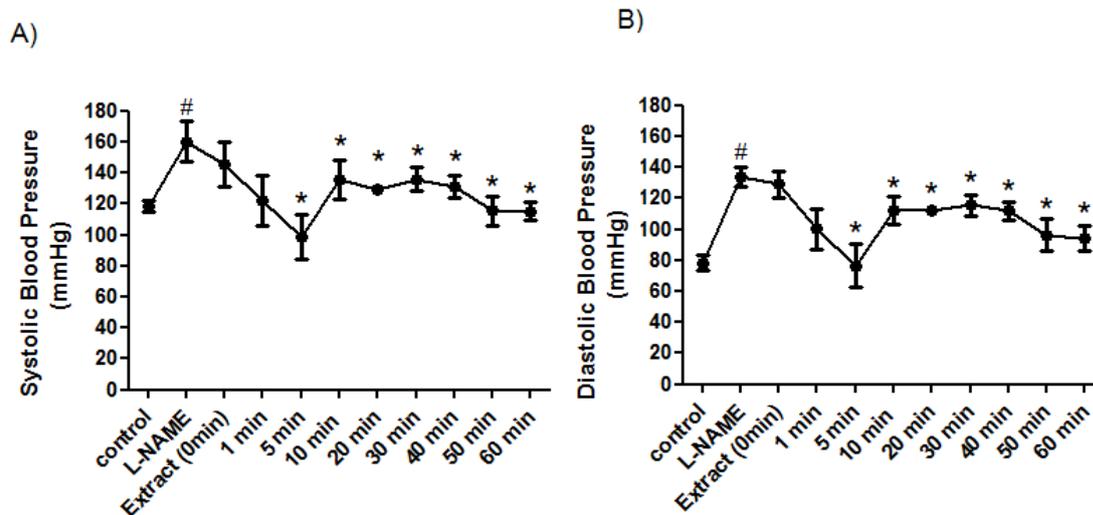


Figure 6 - A) Systolic blood pressure and B) diastolic blood pressure in rats treated with 7.5 mg / kg of extract in the presence of L-NAME. # $p < 0,05$ vs control and * $p < 0,05$ vs L-NAME (N=6).

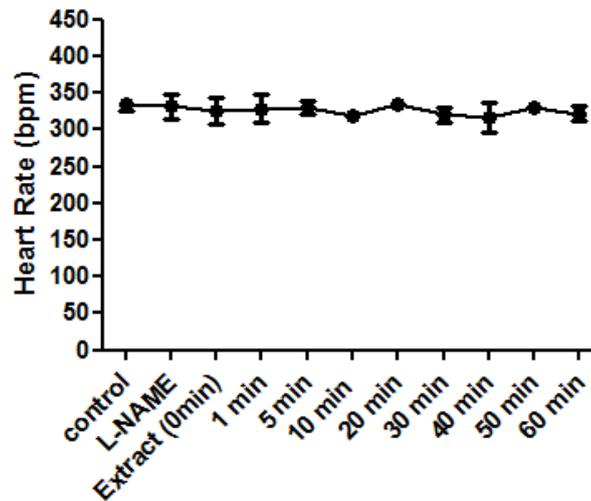


Figure 7 - Effect of extract on heart rate after L-NAME administration. (N=6).

Losartan has caused a decrease in BP because it is a blocker of angiotensin II AT1 receptor. The losartan is the first potent and not peptide angiotensin II antagonist selective, inhibiting any responses to angiotensin II were studied and lowers BP in various animal models of renin-dependent hypertension. In animals, the antihypertensive effect of losartan is similar to inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, but, unlike these, losartan is a more selective inhibitor of the renin-angiotensin system, since only acts on the AT1 receptor (COLLISTER et al., 1996).

The administration of the extract after AT1 receptor blockade did not alter the hypotension caused by losartan, remained low and was significantly different from the control, which may suggest that the mechanism of hypotensive action demonstrated by the extract may be by AT1 receptor (figure 8). The administration of the extract after losartan injection did not cause alterations in HR (figure 9).

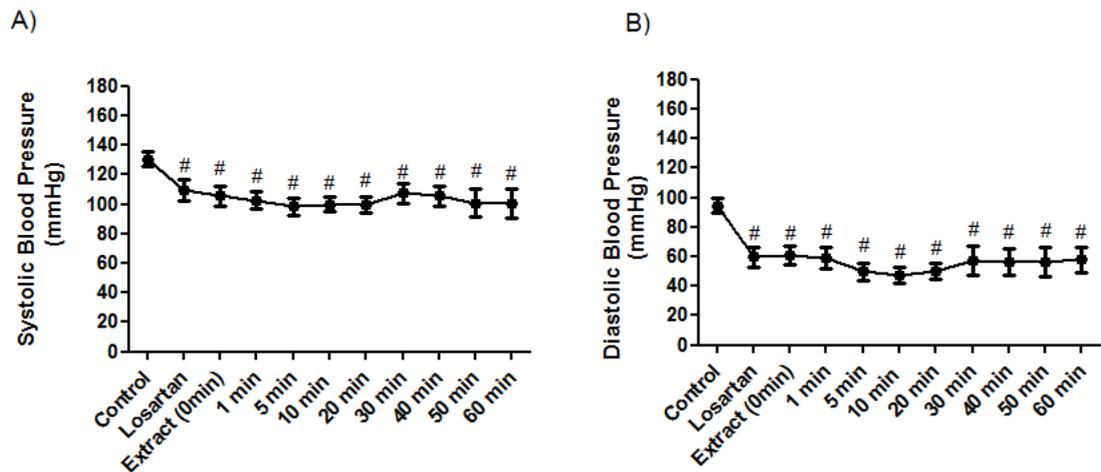


Figure 8 - A) Systolic blood pressure, and B) diastolic blood pressure, with addition of losartan and extract at a dose of 7.5 mg / kg. #p<0,05 vs control (N=6).

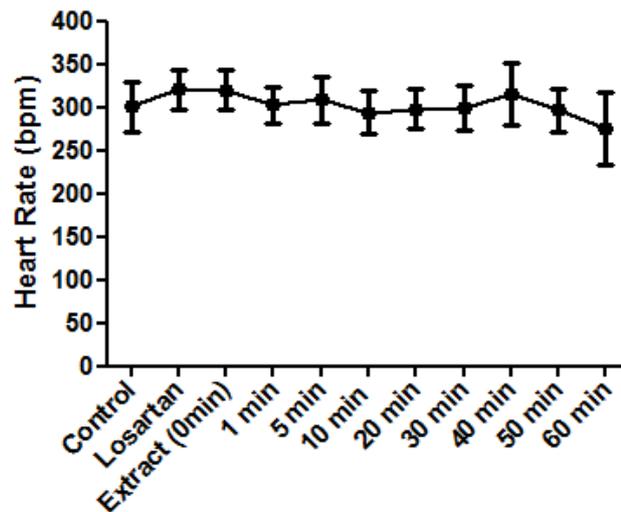


Figure 9 – Effect of aqueous extract at a dose of 7.5 mg/kg after losartan on heart rate (N=6)

The hexamethonium causes pressure drop because it is a ganglionic blocker, which is a powerful anticholinergic agent that blocks the action of acetylcholine in autonomic ganglionic (KRISHNAIYAN et al., 2013). The administration of the extract did not modify this fall, and the fall in BP was maintained until 60 min except for DBP on 5 and 10 min after administration of the extract that had a drop, significantly different from control and hexamethonium. After this time, the BP remained low, similar after administration of

hexamethonium (Figure 10). The administration of the extract after hexamethonium injection did not cause alterations in HR (figure 11).

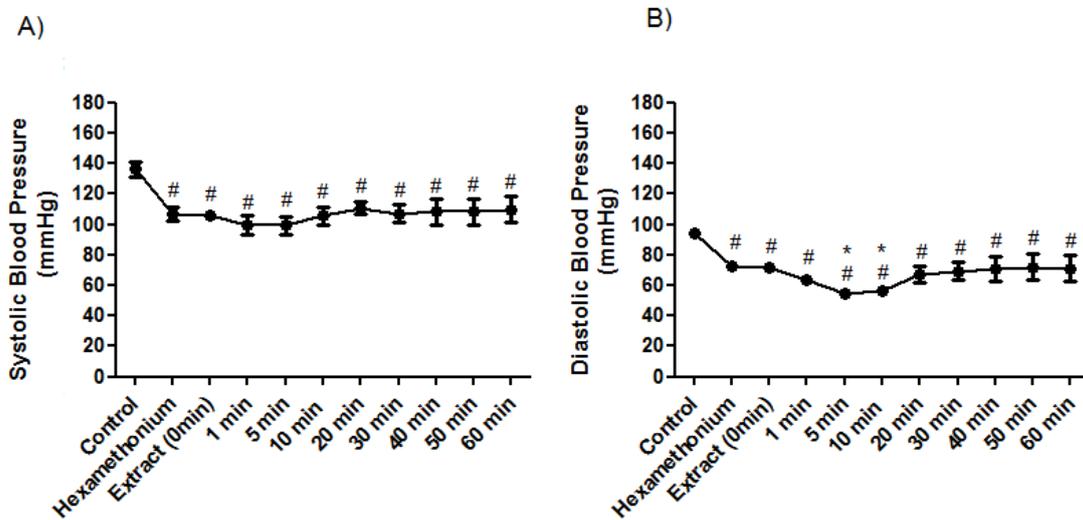


Figure 10 - A) Systolic blood pressure, and B) diastolic blood pressure, with addition of hexamethonium and treatment with extract at a dose of 7.5 mg / kg. #p<0,05 vs control; *p<0,05 vs hexamethonium (N=6).

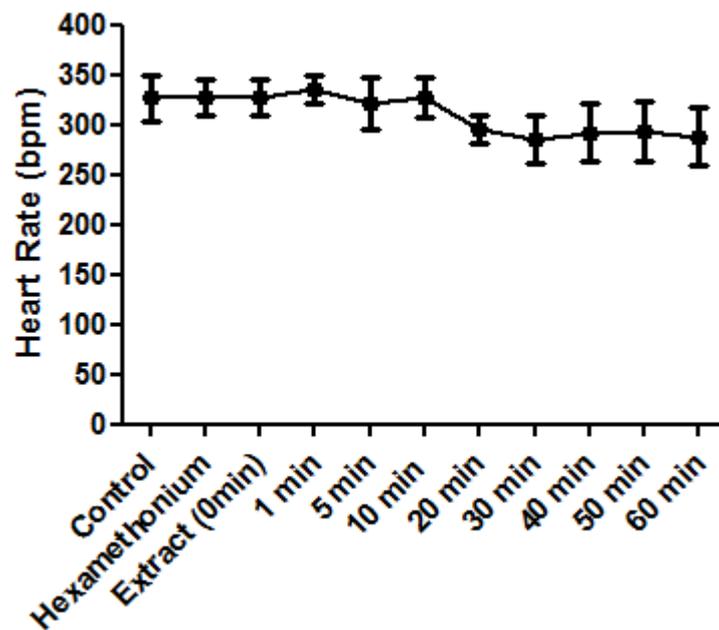


Figure 11- Effect of aqueous extract at a dose of 7.5 mg / kg after hexamethonium on heart rate. (N=6).

DISCUSSION

The aqueous extract of *Blepharocalyx salicifolius* used intravenously showed a large hypotensive activity in normotensive rats, lowering both SBP and DBP, dose-independent, without significantly altering HR. This is the first time that this effect was observed in rats.

B. salicifolius belongs to the Myrtaceae family, several species of this family have been studied and has proved hypotensive effect in different experimental models. Suarez et al. (2000) evaluated the intravenous administration of *Pimenta dioica* aqueous extract in SHR, that showed a dose-dependent decrease in BP, and, as in our result, there was no change in HR. Ojewole (2005) demonstrated the hypotensive effect of the plant *Psidium guajava* aqueous extract administered intravenously, according to the author, the results show a presence of tannins, polyphenolic compounds, triterpenoids, which would be responsible for the response.

Limberger et al. (2001) and Castelo et al. (2012) found that the major component in the essential oil of *B. salicifolius* is 1,8-cineole, a monoterpene, also known as eucalyptol. Intravenous injections of 1,8-cineole alone led to an immediate dose-dependent decrease in the MBP on anesthetized rats, and this response may be related to reduced peripheral vascular resistance caused by the vasodilator effects of vascular smooth muscle (LAHLOU et al. 2002).

It is known that 1-8-cineole is a major compound of various plant essential oils, and has some known properties such as antioxidant and anti-hypertensive activity. The 1-8-cineol was able to decrease the SBP in a rat model with induced hypertension by chronic administration of nicotine (MOON et al., 2013).

Plants of the Myrtaceae family, *Eugenia* genus, also popularly well known for its hypotensive effects and has several similar compounds, including 1-8-cineole. The crude aqueous extract of *E. uniflora* and the essential oil of *E. sulcata*, showed a very significant drop in BP values, corroborating the results obtained in our work (CONSOLINI et al., 1999; SANTOS et al., 2013).

Some epidemiological studies (CERON et al., 2007, LIMBERGER et al., 2001) reported that *B. salicifolius* is popularly used for hypertension, and our study aimed to investigate this effect in normotensive rats. To elucidate the possible mechanisms of the hypotensive action, some synthetic drugs with well-established mechanisms of action were used.

According to Ribeiro. et al (1992) L-NAME is a drug widely used for rats hypertension models because it is a non-metabolizable analog of arginine (substrate) by the enzyme nitric oxide synthase responsible for the synthesis of NO, which is a key factor in controlling BP by being a potent vasodilator (LÓPEZ et al., 2011). When the aqueous extract of *B. salicifolius* was used after acute intravenous administration of L-NAME, the decrease in SBP and DBP was almost immediate and persistent, showing the hypotensive effect of this extract, however, it may suggest the exclusion of the NO as a possible mechanism of action of the extract, since there was a decrease in BP.

Our result is similar to that obtained by Lima-Landman et al. (2007) and Nyadjeu et al. (2013), where they observed significantly reduced BP values after administration of aqueous extract of *Cecropia glaziovii*, and methanol extract of *Cinnamomum zeylanicum*, respectively, in L-NAME-induced rats.

Losartan is an AT1 angiotensin receptor blocker widely used in the treatment of hypertension and was the first non-peptide antagonist AT1 angiotensin receptor oral drug (TRIGGLE, 1995). The action of angiotensin II in the AT1 receptors can cause effects on vasoconstriction, aldosterone, vasopressin secretion, and retention of sodium and water and sympathetic activation, altering the BP (ATLAS, 2007).

In our study the administration of the *B.salicifolius* aqueous extract after blockade of AT1, receptors did not modify the blood pressure caused by losartan. Which leads us to suggest that the hypotensive effect of the extract can happen by this pathway. This is an unusual mechanism to elucidate because most studies that verify hypotensive mechanism of plant extracts use only angiotensin-converting enzyme inhibitors, such as captopril (NINAHUAMAN et al., 2007)

Jiménez-Ferrer et al. (2010) analyzed the mechanism of hypotensive action of *Salvia elegans*, widely used for the empirical treatment of hypertension. They administered angiotensin II to increase the BP, then the extract was administered in one group, and in another losartan was administered. The extract proved to be more potent than losartan, suggesting that this would be the mechanism of the hypotensive effect of *Salvia elegans*.

The hexamethonium is a non-specific hypotensive agent, because it blocks the activity of acetylcholine in autonomic ganglia, but this effect acts in various organs, such as the eyes, intestines and bladder (RYTAND, 1954).

Our study showed that, after the administration of hexamethonium, SBP was maintained with extract (Figure 10), although the DBP declined in 5 and 10 minutes after administration of *B. salicifolius* extract. This result suggests that the route of ganglionic blockade would be involved in part, with the mechanism of hypotensive action of the aqueous extract of *B. salicifolius*.

Differently from our study, Lahlou et al. (2004) studied the essential oil of alfavaca (Brazilian name) (*Ocimum gratissimum*) that was able to reduce MBP in rats, even when the central sympathetic nerve was eliminated by ganglionic blockade with hexamethonium. According to the authors, this result indicates that the hypotensive effect is not dependent on the autonomic nervous system. The authors have proposed in another work reported by them, that hypotension induced by intravenous injection of hexamethonium can be due to a relaxation of vascular and not by sympathetic autonomic response.

CONCLUSION

Our results support the empirical use of Murta, demonstrating for the first time that the aqueous extract of *Blepharocalyx salicifolius* presents a hypotensive dose-independent effect, without significant changes on the heart rate of the animals studied. Still we suggest that this hypotensive effect, in part, would be mediated by renin-angiotensin-system, through the blockade of type 1 (AT1) receptor inhibitors and sympathetic autonomic response.

REFERENCES

- ATLAS, S. A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. **Journal of Managed Care Pharmacy**, v. 13, n. 8, 2007.
- BIANCARDI, V.C., BERGAMASCHI, C.T., LOPES, O.U., CAMPOS, R.R. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 40, p. 400–408, 2007.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à Saúde. **Hipertensão arterial sistêmica para o Sistema Único de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BRYANT, C.E., ALLCOCK, G. H., WARNER, T. D. Comparison of effects of chronic and acute administration of NG-nitro-L-arginine methyl ester to the rat on inhibition of nitric oxide-mediated responses. **British Journal Pharmacology**. v. 114, n. 8, p. 1673–1679, 1995.

CASTELO, A.V.M., DEL MENEZZI, C.H.S., RESCK, I.K. Seasonal variation in the yield and the chemical composition of essential oils from two Brazilian native arbustive species. **Journal of Applied Sciences**. v. 12, n. 08, p. 730-760, 2012.

CERON C.S., ZANOTTO, C.Z., SILVEIRA, R.S., KUNZ, V.T., WALKER, C.I.B., MANFRON, M.P. Atividade antioxidante dos extratos de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá**. n. 11, n. 1, 2007.

CHASWAL M., DAS, S., PRASAD, J., KATYAL, A., FAHIM, M. Cardiac autonomic function in acutely nitric oxide deficient hypertensive rats: role of the sympathetic nervous system and oxidative stress. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 89, n. 12, p. 865-874, 2011.

COLLISTER, J.P., HORNFELDT, B.J., OSBORN, J.W. Hypotensive Response to Losartan in Normal Rats: Role of Ang II and the Area Postrema. **Hypertension**. v. 27, p. 598-606, 1996.

CONSOLINI, A.E., BALDINI, O.A.N., AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 66, p. 33 – 39, 1999.

JIMÉNEZ-FERRER, E., BADILLO, F. H., GONZÁLEZ-CORTAZAR, M., TORTORIELLO, J., HERRERA-RUIZ, M. Antihypertensive activity of *Salvia elegans* Vahl. (Lamiaceae): ACE inhibition and angiotensin II antagonism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 340–346, 2010.

KRISHNAIYAN, R., THOMPSON, J. P. Drugs affecting the autonomic nervous system. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**. v. 14, n. 12, p. 548–553, 2013.

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

LAHLOU, S., INTERAMINENSE, L. F., LEAL-CARDOSO, J. H., MORAIS, S.M., DUARTE, G.P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves in rats: role of the autonomic nervous system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 31, n. 4, p. 219–225, 2004.

LIMA-LANDMAN, M.T.R., BORGES, A.C.R., CYSNEIROS, R. M., DE LIMA, T.C.M., SOUCCAR, C., LAPA, A.J. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: An in vivo approach to the hypotensive mechanism. **Phytomedicine**, v. 14, p. 314–320, 2007.

LIMBERGER, R.P. SOBRAL, M.E.G., ZUANAZZI, J.A.S., MORENO, P.R.H., SCHAPOVAL, E.E.S., HENRIQUES, A.T. Biological Activities and Essential Oil Composition of Leaves of *Blepharocalyx salicifolius*. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 4, p. 308 – 311, 2001.

LÓPEZ, R.M., PÉREZ, T., CASTILLO, C., CASTILLO, M. C., CASTILLO, E.F. Acute intravenous injection and short-term oral administration of NG-nitro-L-arginine methyl ester to the rat provoke increased pressor responses to agonists and hypertension, but not inhibition of acetylcholine-induced hypotensive responses. **Fundamental & Clinical Pharmacology**. v. 25, p. 333–342, 2011.

MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C., VEIGA JR, V.F., GRYNBERG, N.F., ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MOON, H.K., KANG, P., LEE, H.S., MIN, S.S., SEOL, G.H. Effects of 1,8-cineole on hypertension induced by chronic exposure to nicotine in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 66, p. 688–693, 2013.

NINAHUAMAN, M.F.M.L., SOUCCAR, C., LAPA, A.J., LIMA-LANDMAN, M.T.R. ACE activity during the hypotension produced by standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth: A comparative study to captopril effects in rats. **Phytomedicine** v. 14, p. 321–327, 2007.

NYADJEU, P., NGUELEFACK-MBUYO, E. P., ATSAMO, A. D., NGUELEFACK, T. B., DONGMO, A. B., KAMANYI, A. Acute and chronic antihypertensive effects of *Cinnamomum zeylanicum* stem bark methanol extract in L-NAME-induced hypertensive rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 27, jan. 2013.

OJEWOLE J.A.O. Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**. v. 27, n. 12, p. 689-695, 2005.

RIBAS, A. Morfoanatomia, controle físico-químico e atividade anti-inflamatória de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria, 2011.

RIBEIRO, M. O., ANTUNES, E., NUCCI, G., LOVISOLO, S. M., ZATZ, R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. **Hypertension**. n. 20, p. 298-303, 1992.

RYTAND, D. A. Use of Hexamethonium in Arterial Hypertension. **California Medicine**. v. 80, n. 05, p. 375–376. 1954.

SANTOS, K.T., LIMA, B.G., TIETBOHL, L.A.C., FERNANDES, C.P., CARESTIATO, J.C., SANT'ANNA, L.S., BRESSA, P.A.C., SANTOS, M.G., RUPPELT, B.M., MOREIRA, C.M., ROCHA, L. Effects of Essential Oil From Leaves of *Eugenia sulcata* Spring ex Mart. (Myrtaceae) on Hemodynamic Parameters of Wistar Rats. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.32, n.6, p. 944-947, 2013.

SIQUEIRA, E.P., OLIVEIRA, D.M., JOHANN, S., CISALPINO, P.S., COTA, B.B., RABELLO, A., ALVES, T.M.A., ZANI, C.L. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 4, p. 645-651, 2011.

SUÁREZ, A., ULATE, G., CICCIO J.F. Hypotensive action of an aqueous extract of *Pimenta dioica* (Myrtaceae) in rats. **Revista de Biología Tropical**. v. 48, n. 01, p. 53 – 58, 2000.

TRIGGLE, D.J., Angiotensin II Receptor Antagonism: Losartan-Sites and Mechanisms of Action. **Clinical Therapeutics**. v. 17, n. 6, p. 1005 - 1030, 1995.

VIEGA JR, C., PINTO, A., MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VINAGRE, A.S., RÖNNAU, A.D.R.O., PEREIRA, S.F., SILVEIRA, L.U., WILAND, E. F., SUYENAGA, E.S. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, p. 169-177, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **A global brief on hypertension: Silent killer, global public health crisis.** 2013. Disponível em: <http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/en/>. Acesso: 05/05/2014.

5. DISCUSSÃO

O extrato aquoso de *Blepharocalyx salicifolius* utilizado via intravenosa mostrou uma grande atividade hipotensora em ratos normotensos anestesiados com uretana, diminuindo tanto a PAS quanto a PAD, independente da dose utilizada, porém sem alterar significativamente a FC. Esta é a primeira vez que tal efeito é observado em ratos.

A *B. salicifolius* é pertencente à família Myrtaceae, da qual várias espécies já foram estudadas e apresentam efeito hipotensor em diferentes modelos experimentais. Ojewole (2005) demonstrou o efeito hipotensor do extrato aquoso da planta *Psidium guajava* administrado via intravenosa. Este efeito foi dose-dependente (50-800 mg/Kg), e segundo o autor, a presença de taninos, polifenóis, triterpenóides e outros compostos químicos seriam os responsáveis pela resposta obtida.

Outro estudo com plantas da família Myrtaceae avaliou a administração intravenosa do extrato aquoso de *Pimenta dioica* em SHR. Uma curva dose crescente foi realizada, 10, 30, 44, 62, e 100 mg/Kg, onde cada dose foi administrada em um grupo de 6 animais. Foi observada uma diminuição dose-dependente da PA, porém assim como no nosso resultado, não houve alteração na FC (SUAREZ et al., 2000), exceto na dose de 100 mg/Kg na qual no nosso estudo, houveram mortes de animais.

Assim como a *B. salicifolius*, plantas Myrtaceae do gênero *Eugenia*, também são conhecidas popularmente por seus efeitos hipotensores e possuem vários compostos semelhantes, entre eles o 1-8-cineol. O extrato aquoso bruto da *E. uniflora* e o óleo essencial da *E. sulcata*, mostraram uma queda significativa nos valores da PA, corroborando com os resultados obtidos no nosso trabalho (CONSOLINI et al., 1999; SANTOS et al., 2013).

Limberger e colaboradores (2001) e Castelo et al. (2012) encontraram como componente majoritário no óleo essencial de *B. salicifolius* o 1,8-cineol, um monoterpene, também conhecido como eucaliptol. Injeções intravenosas de 1,8-cineol isolado induziu uma imediata queda dose-dependente da PAM de ratos anestesiados e conscientes, e esta resposta poderia estar relacionada à redução da resistência vascular periférica causada pelos efeitos vasodilatadores dos músculos lisos vasculares (LAHLOU et al., 2002).

Sabe-se que o 1-8-cineol é o composto majoritário de vários óleos essenciais de plantas, foi citado que está presente na *B. salicifolius* e apresenta conhecidas propriedades como atividade antioxidante e anti-hipertensiva. O 1-8-cineol foi capaz de alterar a PAS em um

modelo de ratos com hipertensão induzida pela administração crônica de nicotina. Na dose de 0.1 mg/Kg dada no último dia do tratamento, observaram um efeito anti-hipertensivo nestes animais (MOON et al., 2013).

Em um estudo realizado por Lahlou et al. (2004) com o óleo essencial da planta *Ocimum gratissimum*, conhecida no Brasil como alfavaca, observaram que injeções intravenosas de doses crescentes deste óleo essencial induziram uma imediata e dose-dependente queda da PAM e da FC de ratos anestesiados. Essa resposta segundo os autores seria parcialmente atribuída ao eugenol, encontrado no estudo como constituinte majoritário deste óleo essencial. O segundo componente majoritário desta planta é o 1-8-cineol, também presente *B. salicifolius*, o qual também poderia explicar parcialmente este efeito hipotensor, corroborando com a queda de PA encontrada no nosso estudo.

Alguns estudos epidemiológicos (CERON et al., 2007, LIMBERGER et al., 2001) relataram que a *B. salicifolius* é usada popularmente para hipertensão, e o nosso trabalho objetivou investigar este efeito em ratos normotensos. Para elucidar os possíveis mecanismos desta ação hipotensora, foram utilizadas algumas drogas sintéticas com seus mecanismos de ação bem estabelecidos.

O L-NAME é uma droga bastante utilizada em modelos de indução de hipertensão em ratos (FAZAN JR. et al., 2001). O que faz dele um indutor de hipertensão, é que ele é um análogo não metabolizável da arginina (substrato) pela enzima NOS, responsável pela síntese do NO, que é um fator fundamental no controle da PA por ser um potente vasodilatador (LÓPEZ et al., 2011). As administrações agudas e crônicas de L-NAME *in vivo*, resultam em um aumento acentuado da PA e vasoconstrição renal, com consequente vasoconstrição generalizada, pela diminuição na biodisponibilidade do NO (RIBEIRO et al., 1992; REES et al., 1996.).

Após a administração intravenosa, aguda do L-NAME, a PA dos animais elevou-se, como esperado, devido a seu mecanismo de ação. Quando o extrato aquoso da *B. salicifolius* foi administrado, a queda da PAS e PAD foi praticamente imediata e persistente, demonstrando o efeito hipotensor deste extrato, conforme visualizado na figura 6. Esse efeito hipotensor causado pelo extrato nos animais hipertensos por administração de L-NAME pode sugerir a exclusão da via do óxido nítrico como possível mecanismo de ação do extrato, já que houve a queda da PA.

No nosso resultado é semelhante ao obtido por Lima-Landman et al. (2007) onde observaram que após o tratamento crônico de ratos com L-NAME, a administração do extrato

aquoso de *Cecropia glaziovii*, conhecida como Embaúba, diminuiu significativamente os valores da PA, sugerindo que a via do óxido nítrico não estaria envolvida no efeito hipotensor. Nyadjeu et al. (2013) também demonstrou que após a administração aguda de L-NAME, o extrato metanólico da casca do caule da *Cinnamomum zeylanicum* diminuiu significativamente a hipertensão produzida pelo L-NAME, mostrando que não seria esse mecanismo o responsável pelo efeito hipotensor da planta.

O SRAA desempenha um papel fundamental no controle homeostático da PA, através da ação da angiotensina II nos receptores AT1, que são receptores transmembranas pertencentes ao grupo de receptores acoplados a proteína G, encontrados em diversas células-alvo, provocando seus efeitos sobre vasoconstrição, aldosterona, liberação de vasopressina, retenção de sódio e água e ativação simpática (ATLAS, 2007). Os bloqueadores dos receptores AT1 de angiotensina agem seletivamente sobre estes receptores, atenuando assim os efeitos que a angiotensina II provoca, além da regulação da PA (SCHMIEDER, 2005).

A Losartan é uma das drogas bloqueadoras dos receptores de angiotensina, tipo AT1, é amplamente utilizada na terapêutica da hipertensão e foi a primeira droga oral não peptídica antagonista dos receptores AT1 da angiotensina (TRIGGLE, 1995). Utilizamos essa droga para avaliar se o efeito hipotensor da planta estudada seria promovido por esta via de ação. Observamos, conforme mostrado na figura 8, que a administração do extrato aquoso da *B. salicifolius* após o bloqueio dos receptores AT1 não modificou a hipotensão provocada pelo losartan. Isso nos leva a sugerir que a ação hipotensora do extrato da *B. salicifolius* possa ser, em parte, via este mecanismo. Assim como observado quando administrado losartan, o extrato não alterou significativamente os valores de FC.

Nosso estudo é o primeiro a mostrar que o efeito hipotensor poderia ser mediado pelo bloqueio de receptores AT1 induzido pelo extrato aquoso de *B. salicifolius* (figura 8), até porque, a maioria dos estudos que verificam mecanismo hipotensor de extratos vegetais utilizam apenas inibidores da ECA, como por exemplo, o captopril (NINAHUAMAN et al., 2007).

A *Achillea millefolium*, pertencente à família Asteraceae, é usada tradicionalmente para o tratamento de doenças cardiovasculares, e possui vários componentes encontrados no seu óleo essencial semelhantes aos da *B. salicifolius*, como por exemplo, terpenos, sesquiterpenos e flavonóides, e entre eles a artemetina. A administração de artemetina extraída da *A. millefolium* reduziu tanto a duração média de efeito e o pico da hipertensão induzida pela angiotensina I em ratos, de uma forma muito semelhante ao captopril. Esse efeito não foi

verificado quando comparado a administração da angiotensina II, diferentemente do efeito provocado pelo losartan, e neste estudo é sugerido que os receptores de AT não estão envolvidos na resposta hipotensora da planta (SOUZA et al., 2011).

Em outro estudo realizado por Jiménez-Ferrer et al. (2010), foi analisado o mecanismo da ação hipotensora da *Salvia elegans*, pertencente à família Lamiaceae, amplamente utilizada no México para o tratamento empírico da hipertensão. Para analisar se os receptores de angiotensina tipo 1 estavam envolvidos na resposta hipotensora, eles primeiramente administraram angiotensina II. A elevação da PA foi imediata e durou 250 segundos. Nesse momento foi administrado o extrato em um dos grupos e em outro foi administrado losartan. Tanto o extrato quanto suas frações testadas mostraram serem mais potentes que o losartan, sugerindo que este seria o mecanismo de ação do efeito hipotensor da *Salvia elegans*.

Bloqueadores ganglionares são drogas não seletivas que bloqueiam a transmissão pós-sináptica tanto no Sistema Nervoso Simpático quanto no Parassimpático (KRISHNAIYAN et al., 2013) e possuem afinidade com os receptores de acetilcolina nas sinapses ganglionares. O hexametônio é um agente hipotensor não seletivo, pois bloqueia a atividade da acetilcolina no gânglio autonômico, agindo também em diversos órgãos, como olhos, intestino e bexiga (RYTAND, 1954).

Nosso estudo mostrou que após a administração do hexametônio, a PAS foi mantida depois da administração do extrato, conforme é observado na figura 10. Já na PAD, foi observado que o extrato da *B. salicifolius* apresentou uma queda após 5 e 10 minutos da administração. Este resultado sugere que a via do bloqueio ganglionar pode, em parte, estar envolvida com o mecanismo de ação hipotensora do extrato aquoso da *B. salicifolius*.

No trabalho realizado com o objetivo de avaliar o efeito hipotensor da *Averrhoa carambola*, pertencente à família Oxalidaceae, foi observado que os níveis pressóricos baixos observados após o pré-tratamento de ratos Wistar com hexametônio obtiveram nova queda e permaneceram alterados após a administração do extrato aquoso, sugerindo que a modulação do sistema nervoso simpático não participaria do efeito hipotensor do extrato ao contrário do observado no nosso resultado (SONCINI et al., 2011).

Em um trabalho executado por Shih et al. (2008), quando o hexametônio foi administrado 10 minutos antes da administração do extrato de *Rhodiola sacra*, uma planta comumente utilizada na Ásia para o tratamento de problemas cardiovasculares, os autores

observaram que houve uma atenuação significativa da hipotensão, da taquicardia e dos efeitos inotrópicos positivos provocados pelo extrato aquoso da planta, concluindo que a hipotensão provocada pela *Rhodiola sacra* foi eliminada pelo pré-tratamento com bloqueador ganglionar hexametônio.

No trabalho de Lahlou et al. (2004) com o óleo essencial da alfavaca (*Ocimum gratissimum*) observaram uma diminuição da PAM em ratos, mesmo quando o nervo simpático central, que contribui para a manutenção da pressão sanguínea, foi eliminado por meio do bloqueio ganglionar com hexametônio. Segundo os autores, esse resultado indica que o efeito hipotensor não é dependente do sistema nervoso autônomo. Os autores já haviam proposto em outro trabalho citado por eles, que o 1-8-cineol induz hipotensão e que a hipotensão causada pelo hexametônio seria devido a um relaxamento vascular e não a resposta autônoma simpática.

Em resumo, nossos resultados fundamentam o uso empírico da Murta, demonstrando pela primeira vez que o extrato aquoso da *Blepharocalix salicifolius* apresenta um efeito hipotensor dose-independente, sem apresentar alterações significativas sobre a FC dos animais estudados, e que esse efeito hipotensor seria em parte mediado via sistema-renina-angiotensina, por intermédio do bloqueio dos receptores AT1 e pela resposta autonômica simpática.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que o extrato aquoso da *Blepharocalyx salicifolius* apresenta atividade hipotensora sobre os parâmetros hemodinâmicos, PAS e PAD, em todas as doses analisadas sem promover alterações significativas na FC.

Quanto aos possíveis mecanismos de ação, após a administração aguda do L-NAME, o extrato diminuiu a PAS e PAD dos animais, indicando que a via do óxido nítrico não estaria envolvida no mecanismo de ação do extrato. Quando administrado hexametônio, o extrato mostrou que a PAS foi mantida e a PAD apresentou um queda em 5 e 10 minutos, sugerindo que a via do bloqueio ganglionar pode estar envolvida na resposta hipotensora do extrato aquoso da *B. salicifolius*. Já quando administramos o extrato após a injeção da losartan, a resposta hipotensora do bloqueador do receptor AT1 da angiotensina não foi modificada, sugerindo que esta via esteja fortemente envolvida no mecanismo de ação do extrato aquoso da *B. salicifolius*.

Salientamos a importância de estudos que provém cientificamente os usos empíricos de plantas medicinais, comprovando sua eficácia e segurança para a população. Sendo assim, podemos sugerir que a *B. salicifolius* possui ação hipotensora e que este efeito seria similar a drogas sintéticas, como o losartan, amplamente prescrito por médicos para indivíduos que sofrem de HA.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIM, N.A.T., FERREIRA, M.A., CABRAL, I.E., ALMEIRA FL., AJ. The use of medicinal plants as a therapeutical resource: from the influences of the Professional formation to the ethical and legal implications of its applicability as an extension of nursing care practice. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n. 3, p. 316-323, 2006.

ATLAS, S. A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. **Journal of Managed Care Pharmacy**, v. 13, n. 8, p. S9-S20, 2007.

BARCELOS, F. F., OLIVEIRA, M. L., GIOVANINNI, N. P. B., LINS, T.P., FILOMENO, C. A., SCHNEIDER, S.Z., PINTO, V. D., ENDRIGER, D. C., ANDRADE, T. U. Estudo químico e da atividade biológica cardiovascular do óleo essencial de folas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm. em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.2, n.1, p. 48-56, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à Saúde. **Hipertensão arterial sistêmica para o Sistema Único de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília, 2006.

_____. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília, 2012.

BROOK, R.D., JULIUS, S. Autonomic imbalance, hypertension, and cardiovascular risk. **American Journal of Hypertension**. v. 13, p. 112S-122S. 2000.

CARVALHO, P. S. Ecologia e relações filogenéticas de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). **Tese de Doutorado**. Universidade de Brasília, 2013.

CASTELO, A.V.M., DEL MENEZZI, C.H.S., RESCK, I.K. Seasonal variation in the yield and the chemical composition of essential oils from two Brazilian native arbustive species. **Journal of Applied Sciences**. v. 12, n. 08, p. 730-760, 2012.

CERON C.S., ZANOTTO, C.Z., SILVEIRA, R.S., KUNZ, V.T., WALKER, C.I.B., MANFRON, M.P. Atividade antioxidante dos extratos de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá**. n. 11, n. 1, 2007.

CHOBANIAN, A.V., BAKRIS, G.L., BLACK, H.R., CUSHMAN, W.C., GREEN, L.A., IZZO, J.L. JR., JONES, D.W., MATERSON, B.J., OPARIL, S., WRIGHT, J.T. JR., ROCCELLA, E.J. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 Report. **JAMA**. v. 289, p. 2560-2571, 2003.

CONSOLINI, A.E., BALDINI, O.A.N., AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 66, p. 33 – 39, 1999.

FAZAN JR., R., SILVA, V. J. D., SALGADO, H. C. Modelos de hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v.8, p. 19-29, 2001.

FRISHMAN, W.H., SINATRA, S.T., MOIZUDDIN M. The use of herbs for treating cardiovascular disease. **Seminars in Integrative Medicine**, v. 2, n. 1, p. 23-35, 2004.

GILES, T.D., MATERSON, B.J., COHN, J.N., KOSTIS, J.B. Definition and classification of Hypertension: An update. **Journal of Clinical Hypertension**. v. 11, n. 11, 2009.

JIMÉNEZ-FERRER, E., BADILLO, F. H., GONZÁLEZ-CORTAZAR, M., TORTORIELLO, J., HERRERA-RUIZ, M.: Antihypertensive activity of *Salvia elegans* Vahl. (Lamiaceae): ACE inhibition and angiotensin II antagonism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 340–346, 2010.

KAUR, R., KHANNAB, N. Pathophysiology and risk factors related to hypertension and its cure using herbal drugs. **Spatula DD**. n. 2, v. 4, p. 245-256, 2012.

KRISHNAIYAN, R., THOMPSON, J. P. Drugs affecting the autonomic nervous system. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**. v. 14, n. 12, p. 548–553, 2013.

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

LAHLOU, S., INTERAMINENSE, L. F., LEAL-CARDOSO, J. H., MORAIS, S.M., DUARTE, G.P. Cardiovascular effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves in rats: role of the autonomic nervous system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 31, n. 4, p. 219–225, 2004.

LIBBY, P., BONOW, P.O., MANN, D.L., ZIPES, D.P. **Tratado de doenças cardiovasculares**. 8ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

LIMA-LANDMAN, M.T.R., BORGES, A.C.R., CYSNEIROS, R. M., DE LIMA, T.C.M., SOUCCAR, C., LAPA, A.J. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: An in vivo approach to the hypotensive mechanism. **Phytomedicine**, v. 14, p. 314–320, 2007.

LIMBERGER, R.P. SOBRAL, M.E.G., ZUANAZZI, J.A.S., MORENO, P.R.H., SCHAPOVAL, E.E.S., HENRIQUES, A.T. Biological Activities and Essential Oil Composition of Leaves of *Blepharocalyx salicifolius*. **Pharmaceutical Biology**, v. 39, n. 4, p. 308–311, 2001.

LÓPEZ, R.M., PÉREZ, T., CASTILLO, C., CASTILLO, M. C., CASTILLO, E.F. Acute intravenous injection and short-term oral administration of NG-nitro-L-arginine methyl ester to the rat provoke increased pressor responses to agonists and hypertension, but not inhibition of

acetylcholine-induced hypotensive responses. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 25, p. 333–342, 2011.

MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C., VEIGA JR, V.F., GRYNBERG, N.F., ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAYET, J., HUGHES, A. Cardiac and vascular pathophysiology in hypertension. **Heart**, v. 89, p. 1104–1109, 2003.

MOON, H.K., KANG, P., LEE, H.S., MIN, S.S., SEOL, G.H. Effects of 1,8-cineole on hypertension induced by chronic exposure to nicotine in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, p. 688–693, 2013.

NINAHUAMAN, M.F.M.L., SOUCCAR, C., LAPA, A.J., LIMA-LANDMAN, M.T.R. ACE activity during the hypotension produced by standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth: A comparative study to captopril effects in rats. **Phytomedicine** v. 14, p. 321–327, 2007.

NYADJEU, P., NGUELEFACK-MBUYO, E. P., ATSAMO, A. D., NGUELEFACK, T. B., DONGMO, A. B., KAMANYI, A. Acute and chronic antihypertensive effects of *Cinnamomum zeylanicum* stem bark methanol extract in L-NAME-induced hypertensive rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, 2013.

OJEWOLE J.A.O. Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**. v. 27, n. 10, p. 689-695, 2005.

OPARIL, S., ZAMAN, M.A., CALHOUN, D.A. Pathogenesis of hypertension. **American College of Physicians: Annals of Internal Medicine**. v. 139, n. 9, p. 761-774, 2003.

PIRIZ, M.A., MESQUITA, M.K., HECK, R.M., CEOLIN, T. Plantas medicinais utilizadas por agricultores no tratamento da hipertensão arterial sistêmica. **XVIII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**, 2011.

REES, D., BEN-ISHAY, D., MONCADA, S. Nitric Oxide and the Regulation of Blood Pressure in the Hypertension-Prone and Hypertension-Resistant Sabra Rat. **Hypertension**. v. 28, p. 367-371, 1996.

RIBAS, A. Morfoanatomia, controle físico-químico e atividade anti-inflamatória de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria, 2011.

RIBEIRO, M.O., ANTUNES, E., NUCCI, G., LOVISOLO, S.M., ZATZ, R. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis. A new model of arterial hypertension. **Hypertension**. v.20, p. 298-303. 1992.

RITTER, M.R., SOBIERAJSKI, G.R., SCHENKEL, E.P., MENTZ, L.A. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.12, n. 2, p. 51-62, 2002.

RODRIGUES, A.G.; DE SIMONI, C. Plantas Mediciniais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, 2010

RYTAND, D. A. Use of Hexamethonium in Arterial Hypertension. **California Medicine**. v. 80, n. 05, p. 375–376. 1954.

SANTOS P. C. J. L., KRIEGER, J. E., PEREIRA, A. C. Renin–Angiotensin System, Hypertension, and Chronic Kidney Disease: Pharmacogenetic Implications. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 120, p. 77 – 88, 2012.

SANTOS, K.T., LIMA, B.G., TIETBOHL, L.A.C., FERNANDES, C.P., CARESTIATO, J.C., SANT'ANNA, L.S., BRESSA, P.A.C., SANTOS, M.G., RUPPELT, B.M., MOREIRA, C.M., ROCHA, L. Effects of Essential Oil From Leaves of *Eugenia sulcata* Spring ex Mart. (Myrtaceae) on Hemodynamic Parameters of Wistar Rats. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 32, n. 6, p. 944-947, 2013.

SCHMIEDER, R. E. Mechanisms for the Clinical Benefits of Angiotensin II Receptor Blockers. **American Journal of Hypertension**, v. 18, n. 2, part 1, 2005.

SHIH, C., KUO, D., HUANG, C., GU, Y., CHEN, F. Autonomic nervous system mediates the cardiovascular effects of *Rhodiola sacra* radix in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 284–290, 2008.

SINGH, M., MENSAH, G.A., BAKRIS, G. Pathogenesis and clinical physiology of hypertension. **Cardiology Clinics**. v. 28, p. 545-558, 2010.

SIQUEIRA, E.P., OLIVEIRA, D.M., JOHANN, S., CISALPINO, P.S., COTA, B.B., RABELLO, A., ALVES, T.M.A., ZANI, C.L. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 4, p. 645-651, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA / SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO / SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 95, n. 1, p. 1-51, 2010.

SONCINI, R., SANTIAGO, M. B., ORLANDI, L., MORAES, G. O. I., PELOSO, A. L. M., SANTOS M. H., ALVES-DA-SILVA, G., PAFFARO JR, V. A., BENTO, A. C., GIUSTI-PAIVA, A. Hypotensive effect of aqueous extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) in rats: An in vivo and in vitro approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 133, p. 353–357, 2011.

SOUZA, A. D. Z., VARAS, N. R. C., CEOLIN, T., HECK, R. M., HAEFFNER, R., VIEGAS, C. R. S. A enfermagem diante da utilização de plantas medicinais no tratamento complementar da hipertensão arterial e das dislipidemias. **Revista Mineira de Enfermagem**, v.14, n. 4, p. 474 - 478, 2010.

SOUZA, P., GASPAROTTO JR, A., CRESTANIA, S., STEFANELLOB, M. E. A., MARQUESA, M. C. A., SILVA-SANTOS, J. E., KASSUYAA, C. A. L. Hypotensive

mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. **Phytomedicine**, v. 18, n.10, p. 819–825, 2011.

SUÁREZ, A., ULATE, G., CICCIO J.F. Hypotensive action of an aqueous extract of *Pimenta dioica* (Myrtaceae) in rats. **Revista de Biología Tropical**. v. 48, n. 01, p. 53 – 58, 2000.

TABASSUM, N., AHMAD, F. Role of natural herbs in the treatment of hypertension. **Pharmacognosy Reviews**. v.5, n.9, p. 30-40, 2011;

TALGAHAGODA, S., SHENOY, M. Physiology and treatment of hypertension. **Pediatrics and Child Health**. v.23, n. 2, p. 53-58, 2013.

TRIGGLE, D.J., Angiotensin II Receptor Antagonism: Losartan-Sites and Mechanisms of Action. **Clinical Therapeutics** v. 17, n. 6, 1995.

VEIGAS JR, C., BOLZANI, V.S., BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World health statistics: A snapshot of global health**. 2012. Disponível em: <http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/>. Acesso: 01/05/2014.