

Artigo

Atividade Vasorrelaxante de Adutos de Morita-Baylis-Hillman Derivados do Eugenol em Artéria Mesentérica Superior de Ratos Normotensos

Xavier, F. J. S.;* Lima Júnior, C. G.; Vasconcellos, M. L. A. A.; Oliveira, R. G.; Silva, F. P. L.; Castro, A. C.; Araújo, P. V. G.; Braga, V. A.; França-Silva, M. S.

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (4), 1277-1288. Data de publicação na Web: 2 de setembro de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Vasorelaxant Activity of Morita-Baylis-Hillman Adducts Derived from Eugenol on Superior Mesenteric Artery of Normotensive Rats

Abstract: Hypertension is one of the major risk factors associated with cardiovascular diseases, requiring the discovery of new pharmacologically active compounds. The versatility of Morita-Baylis-Hillman (AMBH) adducts from the perspective of medicinal chemistry has been placing this class of polyfunctional molecules in evidence in recent years due their expressive biological activities. Therefore, this work describes an exploratory study of the potential vasorelaxant activity of AMBH derived from eugenol. These compounds were tested by cumulative addition (10^{-10} to 3×10^{-4} Molar) in superior mesenteric arteries isolated from normotensive rats pre-contracted with phenylephrine ($10 \mu\text{M}$). In the presence of functional endothelium, the MBHAs promoted significant vasorelaxation but lower than when compared to the MBHAs derived from eugenol (**3a** = $103.3 \pm 2.6 \%$, **3b** = $105.0 \pm 2.5 \%$ and **3c** = $69.2 \pm 7.1 \%$) and eugenol **2** (101.8 ± 3.0). The vasorelaxant effect in the absence of the functional endothelium of the most promising compounds (**3a** and **3b**) showed that both compounds promoted vasorelaxation by acting directly on the vascular smooth muscle layer.

Keywords: Morita-Baylis-Hillman adducts; vasorelaxation activity; eugenol.

Resumo

A hipertensão é um dos principais fatores de risco associados às doenças cardiovasculares, tornando cada vez mais essencial a descoberta de novos compostos farmacologicamente ativos. A versatilidade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) sob a perspectiva da química medicinal vem colocando esta classe de moléculas em evidência nos últimos anos, por se tratar de moléculas polifuncionalizadas que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. Diante disso, o presente trabalho consiste em um estudo exploratório da potencial atividade vasorrelaxante de AMBH derivados de eugenol. Os compostos foram testados por adição cumulativa (10^{-10} a 3×10^{-4} M) em artérias mesentéricas superiores isoladas de ratos normotensos pré-contraídos com fenilefrina ($10 \mu\text{M}$). Na presença de endotélio funcional, os AMBHs promoveram vasorrelaxamento significativo, porém menor do que quando comparados aos AMBHs derivados de eugenol (**3a** = $103,3 \pm 2,6 \%$, **3b** = $105,0 \pm 2,5 \%$ e **3c** = $69,2 \pm 7,1 \%$) e eugenol **2** ($101,8 \pm 3,0$). O efeito vasorrelaxante na ausência do endotélio funcional dos compostos mais promissores (**3a** e **3b**) mostrou que ambos os compostos promoveram vasorrelaxamento, atuando diretamente na camada muscular lisa vascular.

Palavras-chave: Adutos de Morita-Baylis-Hillman; atividade vasorrelaxante; eugenol.

* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pernambuco, CEP 56800-000, Afogados da Ingazeira-PE, Brasil.

✉ francisco.xavier@afogados.ifpe.edu.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20190088](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190088)

Atividade Vasorrelaxante de Adutos de Morita-Baylis-Hillman Derivados do Eugenol em Artéria Mesentérica Superior de Ratos Normotensos

Francisco J. S. Xavier,^{a,*} Cláudio G. Lima Júnior,^b Mario L. A. A. Vasconcellos,^b Ramon G. de Oliveira,^b Fábio P. L. Silva,^b Aleff C. de Castro,^b Priscila V. G. de Araújo,^c Valdir A. Braga,^d Maria S. França-Silva^d

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pernambuco, CEP 56800-000, Afogados da Ingazeira-PE, Brasil.

^b Universidade Federal da Paraíba, Campus I, Departamento de Química, CEP 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil.

^c Universidade Federal da Paraíba, Campus I, Centro de Ciências Médicas, CEP 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil.

^d Universidade Federal da Paraíba, Campus I, Centro de Biotecnologia, CEP 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil.

* francisco.xavier@afogados.ifpe.edu.br

Recebido em 15 de fevereiro de 2019. Aceito para publicação em 29 de julho de 2019

1. Introdução

2. Síntese e caracterização dos AMBHs

2.1. Generalidades

2.2. Procedimento para a síntese dos AMBH (1a-1c)

2.3. Procedimento para a síntese do acceptor de Michael (4) e dos AMBH (3a-c)

3. Ensaios Biológicos

3.1. Animais, drogas e soluções

3.2. Preparação dos anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato normotenso

3.3. Avaliação da atividade dos compostos sobre tecido vascular

3.4. Análise estatística

4. Resultados e Discussão

4.1. Síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (1a-1c e 3a-3c)

4.2. Efeito vasorrelaxante dos adutos (1a-1c, 3a-3c) e do eugenol sobre tecido vascular

5. Conclusão

1. Introdução

As doenças cardiovasculares, segundo a OMS, matam cerca de 17,7 milhões de pessoas por ano, o que representa cerca de 30 % de todas as mortes no mundo.¹ Um dos principais fatores de risco associado às doenças cardiovasculares é a hipertensão, esta caracteriza-se pela elevação sustentada dos níveis de pressão sanguínea. Indivíduos são considerados hipertensos quando apresentam valores constantes de pressão arterial sistólica maior ou igual a 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica maior ou igual a 90 mmHg.²

A pressão arterial é determinada pelo produto do débito cardíaco (DC) pela resistência vascular periférica total (RVPT). O DC consiste no volume de sangue ejetado pelo coração a cada minuto, expresso como produto do volume sistólico (VS, em mL) pela frequência cardíaca (FC, em bpm); e a RVPT é determinada pelo tônus dos vasos sanguíneos.³ A hipertensão resulta de alterações no DC, na RVPT ou ambos e o tratamento para esta desordem envolve várias classes de medicamentos, dependendo das características apresentadas pelos indivíduos. Dentre as classes de fármacos utilizadas para a hipertensão encontram-se os vasodilatadores que promovem redução da resistência vascular periférica total com redução da pressão sanguínea.⁴

As drogas vasorrelaxantes apresentam diversos mecanismos de ação podendo atuar no endotélio ou na camada muscular lisa vascular. O endotélio consiste numa camada única de células que reveste a luz dos vasos sanguíneos e libera várias moléculas com propriedades vasoconstritoras, como as prostaglandinas, tromboxanos e endotelina; e vasorrelaxantes, como o óxido nítrico, prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio.^{5,6} As substâncias liberadas pelas células endoteliais atuam na camada muscular lisa regulando o tônus dos vasos. Os vasorrelaxantes por sua vez, podem estimular a síntese e liberação dessas moléculas pelo endotélio ou simplesmente

mimetizar a sua ação nas células musculares lisas vasculares. A vasodilatação periférica contribui para a redução da pressão arterial, mas não é suficiente para o controle da hipertensão.⁷

Apesar do controle da pressão arterial ser possível na maioria dos casos, isso só é alcançado com a administração de mais de um medicamento aliada a mudanças no estilo de vida, e algumas vezes, mesmo com essas medidas os níveis de pressão arterial permanecem elevados nos pacientes com a chamada hipertensão resistente.⁷ Uma grande limitação para a terapia efetiva da hipertensão é a complexidade dos mecanismos patofisiológicos relacionados ao seu desenvolvimento. Por isso, é de suma importância à realização de estudos que visem à compreensão dos mecanismos envolvidos com a hipertensão arterial bem como a busca de novas terapias para o tratamento deste distúrbio. Nesse contexto, os produtos naturais constituem uma importante fonte de obtenção de novos fármacos que atuem como anti-hipertensivos alternativos.⁸

O eugenol é um produto natural presente em diversas espécies de plantas, obtido em maiores quantidades do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*).⁹ Por se tratar de uma matéria prima renovável, vem sendo bastante explorado em síntese orgânica.¹⁰ A variabilidade de atividades biológicas do eugenol e seus derivados é bastante notável, apresentando relatos como fungicida, bactericida, antioxidante, leishmanicida, anticâncer, anti-inflamatória e analgésica.¹¹ Em consonância com as doenças cardiovasculares, o eugenol também mostrou-se como um potente agente vasorrelaxante, atuando nos canais de cálcio.¹²⁻¹⁵

Os adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) pertencem a uma classe de moléculas poli funcionalizadas, baixo peso molecular e relativa simplicidade estrutural.^{16,17} A reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH) proporciona a formação de ligação química (carbono-carbono) entre átomos com mesma eletronegatividade. Por se tratar de uma reação de adição, a RMBH gera economia de átomos, somada a isso, a possibilidade do uso

de água como solvente.¹⁸ Além da excelente viabilidade sintética, existe uma vasta gama de atividades biológicas comprovadas: antimalarial, anti-esquistossomose, anticâncer, fungicida, bactericida, herbicida, antichagássica, leishmanicida entre outras.¹⁹⁻²²

Diante da necessidade de descoberta de novos fármacos que auxiliem o tratamento da hipertensão, utilizando rotas experimentais verdes partindo de matérias primas

renováveis,²³ o presente trabalho consiste em uma avaliação da atividade vasorrelaxante dos AMBH (**1a-1c**) e seus respectivos híbridos derivados do eugenol (**3a-3c**). Visamos, aqui, explorar a versatilidade desta classe de moléculas, uma vez que tais compostos foram previamente explorados em nosso grupo de pesquisa, mostrando-se biologicamente ativos frente à espécie do gênero *Leishmania*, com apreciáveis níveis de seletividade.^{24,25}

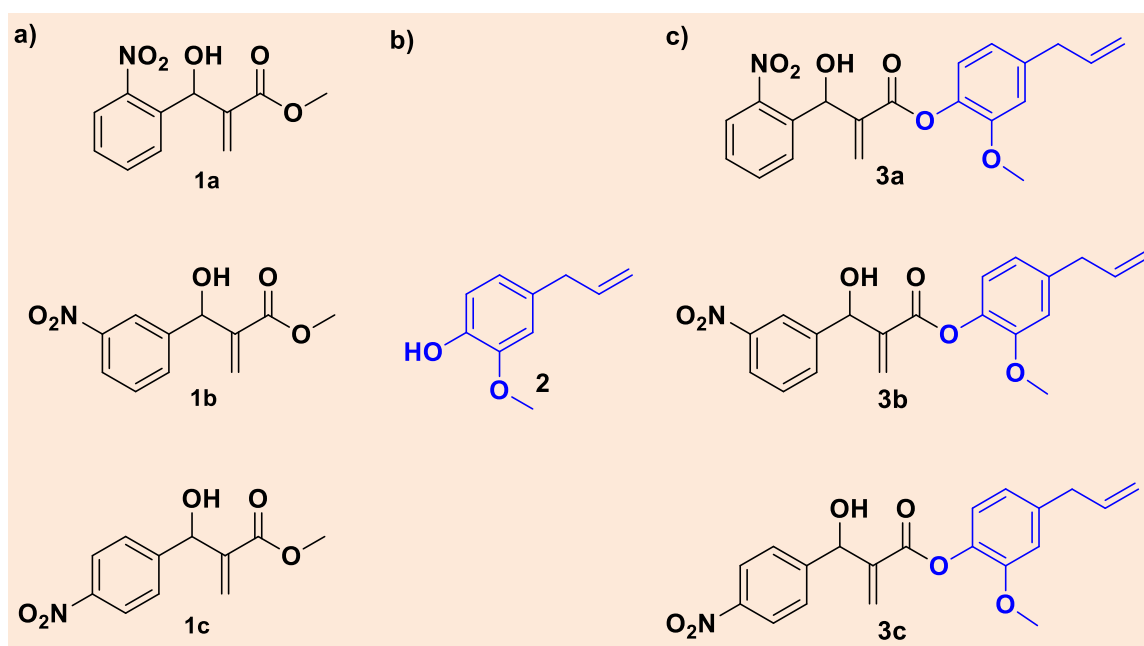


Figura 1. Compostos sintetizados e avaliados frente a seu potencial efeito vasorrelaxante: a) AMBH (1a-1c); b) eugenol (2); c) AMBH híbridos (3a-3c)

2. Síntese e Caracterização dos AMBHs

2.1. Generalidades

Todos os reagentes e solventes utilizados nas sínteses foram adquiridos comercialmente: o eugenol (ISOFAR), os aldeídos (ACROS), o ácido acrílico (SIGMA-ALDRICH), o DCC – diciclocoimida (SIGMA-ALDRICH), o DMAP – dimetilaminopiridina (ACROS), o DABCO – 1,4-

diazobicyclo[2,2,2]octano (ACROS), Acrilato de metila (ACROS).

Todas as reações bem como os produtos formados foram acompanhadas pela técnica de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), utilizando-se cromatofolhas de alumínio da marca Macherey-Nagel, suportadas em Gel de Sílica 60 (fase estacionária), contendo indicador de fluorescência a 254 nm. A fase móvel utilizada consistiu em mistura de Acetato de Etila/Hexano. A purificação dos produtos foi feita utilizando a técnica de cromatografia em coluna do tipo flash, utilizando gel de sílica (fase estacionária) da marca ACROS, e uma

mistura de acetato de etila/hexano, como fase móvel.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) ^1H e ^{13}C foram obtidos usando Varian Mercury Spectra AC 20 espectrômetro e espectros de Infravermelho (FT-IR) foram registrados num espectrofotômetro Shimadzu modelo IRPrestige-21 em pastilhas de KBr.

2.2. Procedimento para a síntese dos AMBH (1a-1c)

Os compostos (**1a-1c**) foram sintetizados baseando-se no protocolo previamente descrito na literatura, sendo as moléculas obtidas caracterizadas usando RMN ^1H e RMN ^{13}C .²⁴ Para tanto, adicionou-se 1 mmol dos respectivos benzaldeídos (*o*, *m*, *p* - NO_2) e 1 mmol de DABCO a 1 mL (10,5 mmol) de acrilato de metila. A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética e banho de gelo. Para o isolamento e purificação do produto desejado, a mistura reacional teve o solvente evaporado sob pressão reduzida, seguido de filtração em sílica, usando acetato de etila/hexano 3:7 (5 a 30 %) como fase móvel. Os respectivos produtos (**1a-1c**) foram obtidos com rendimentos de (**1a**) 92 %, (**1b**) 98 % e (**1c**) 85 %. Todos os produtos se comportaram como óleos viscosos à temperatura ambiente.

2.3. Procedimento para a síntese do acceptor de Michael (4) e dos AMBH (3a-c)

Os compostos (**3a-3c**) foram sintetizados baseando-se no protocolo previamente descrito na literatura, sendo as moléculas obtidas caracterizadas usando RMN ^1H e RMN ^{13}C .²⁵ A síntese dos AMBH derivados do Eugenol seguiu duas etapas sintéticas: a primeira consistiu na obtenção do acceptor de Michael, o acrilato de eugenila (**4**), o qual foi utilizado na segunda etapa do processo, isto é, nas reações de Morita-Baylis-Hillman para obtenção dos compostos **1a-1c**.

Em resumo, na primeira etapa, foi realizada uma esterificação de Steglich entre ácido acrílico e eugenol usando diclorometano como solvente. Após 48 horas de reação, foi feita uma filtração simples direto em um funil de decantação para remoção da ureia formada, facilitando o processo de lavagem com água destilada e extração com diclorometano. Após a extração, foi realizada uma purificação em coluna cromatográfica. O produto esperado (**4**) se mostrou um óleo incolor, pouco viscoso. O rendimento da reação foi de 68 %.

Na etapa de preparo dos AMBH, adicionou-se 0,5 mmol do acrilato de eugenila (**4**) e 0,6 mmol dos respectivos benzaldeído (*o*, *m*, *p* - NO_2) a 1,0 mL de acetonitrila. Após homogeneização, foi adicionado 0,5 mmol de DABCO. As misturas reacionais permaneceram sob agitação magnética por 3 h, à temperatura ambiente. Em seguida, foi feita uma purificação em coluna cromatográfica usando como fase móvel uma mistura de acetato de etila/hexano 10 (%). Os respectivos produtos (**3a-3c**) foram obtidos com rendimentos de (**3a**) 75 %, (**3b**) 71 % e (**3c**) 78 %, todos os produtos se comportaram como óleos viscosos a temperatura ambiente.

3. Ensaios Biológicos

3.1. Animais, drogas e soluções

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) pesando entre 250 e 300 g, provenientes do Biotério Prof. Thomas George, do Instituto do Medicamento (IpeFarm) da UFPB. Esses animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura (21 ± 1 °C) e ciclo claro-escuro de 12:12 horas com livre acesso à água e ração (Labina®, Purina). Todos os procedimentos envolvendo animais foram conduzidos de acordo com as normas e princípios éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética

no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB).

Foram utilizadas as drogas listadas a seguir: cloridrato de acetilcolina (ACh); cloridrato de L(-) fenilefrina (FEN); cremofor, todos obtidos da Sigma-Aldrich (EUA). Todas as drogas foram dissolvidas em água destilada. Foi utilizada a solução nutritiva Tyrode,²⁶ aerada com mistura carbogênica (95 % de O₂ e 5 % de CO₂), com temperatura mantida em 37°C, e pH por volta de 7,4. Na preparação desta solução foram utilizados os seguintes sais: cloreto de potássio (KCl), cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio hexa-hidratado (MgCl₂.6H₂O), glicose (C₆H₁₂O₆), bicarbonato de sódio (NaHCO₃), fosfato de sódio mono-hidratado (NaH₂PO₄.H₂O), cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl₂.2H₂O) todos obtidos da Sigma-Aldrich Brasil®.

3.2. Preparação dos anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato normotenso

Após eutanásia dos animais, foi feita uma incisão no abdome do animal para a retirada da artéria mesentérica superior que foi imediatamente colocada em solução nutritiva. Em seguida a artéria foi seccionada em anéis de 2-5 mm. Os anéis já dissecados, livres de tecido conectivo e adiposo, foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução de Tyrode, a 37 °C e gaseificada com uma mistura carbogênica (95 % de O₂ e 5 % de CO₂).

Os anéis foram suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição de dados PowerLab™ (software versão 4.2, ADInstruments, MA, EUA), para que os registros das tensões isométricas fossem obtidos. Cada um dos anéis foi submetido a uma tensão basal de 0,75 g por um período de estabilização de 60 minutos. Durante este tempo, a solução de Tyrode foi trocada a cada 15 minutos prevenindo a interferência de metabólitos. Foi verificada a presença de endotélio funcional através do relaxamento

dos anéis pré-contraídos com 10 μM fenilefrina (FEN) com posterior adição de 10 μM de acetilcolina (ACh). Os anéis que obtiveram relaxamento superior a 80 % sobre a pré-contracção com FEN foram considerados com endotélio funcional (E⁺), já os anéis com relaxamentos inferiores a 10 % foram considerados sem endotélio funcional (E⁻), anéis com relaxamento entre 10 e 80 % foram descartados.

3.3. Avaliação da atividade dos compostos sobre tecido vascular

Após o período de estabilização e posterior verificação do endotélio funcional, induziu-se uma contracção com FEN (10 μM), em seguida, foram construídas curvas concentração-resposta para cada composto separadamente, aplicando concentrações crescentes e cumulativas de cada um deles (10⁻¹⁰, 3x10⁻¹⁰, 10⁻⁹, 3x10⁻⁹, 10⁻⁸, 3x10⁻⁸, 10⁻⁷, 3x10⁻⁷, 10⁻⁶, 3x10⁻⁶, 10⁻⁵, 3x10⁻⁵, 10⁻⁴, 3x10⁻⁴ M) nos anéis com ou sem endotélio funcional. O relaxamento foi expresso como percentagem reversa da contracção induzida pela FEN. Após a obtenção das curvas concentração-resposta, obteve-se os valores de E_{máx} (efeito máximo) das curvas individuais na presença e ausência do endotélio funcional.

3.4. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Análises estatísticas foram feitas através do teste “t” Student não-pareado, para análise de diferença entre as médias, e ANOVA “two-way” seguida de pós-teste de Bonferroni. Foram consideradas diferenças significativas quando p < 0.05. As curvas foram obtidas por regressão não linear. O valor de E_{Máx} corresponde à média percentual de relaxamento máximo dos compostos para cada condição estudada. O programa

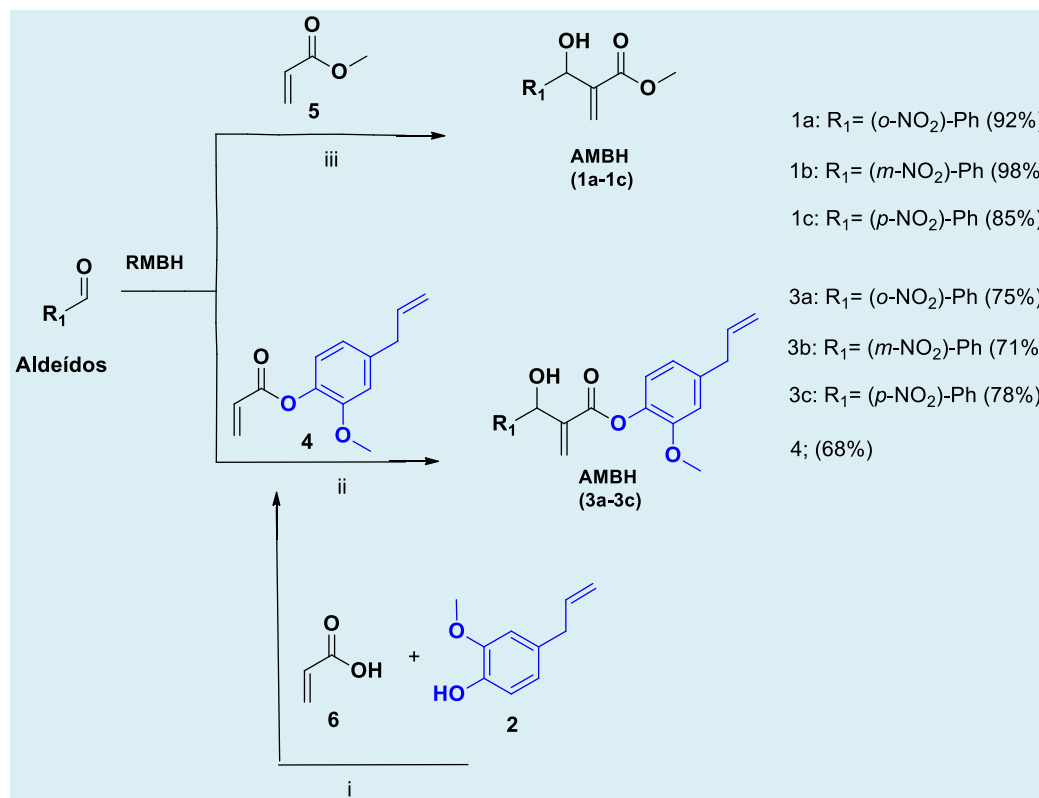
estatístico utilizado foi o GraphPad Prism versão 5.00®.

4. Resultados e Discussão

4.1. Síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (1a-1c e 3a-3c)

O planejamento dos AMBH sintetizados e avaliados neste trabalho foi guiado a partir da estratégia de hibridação molecular,²⁷ explorando a versatilidade sintética e biológica dessa classe de compostos.²⁸

Ademais, considerando a potencialidade do eugenol como um biofóforo natural, com efeitos vasorrelaxantes já bem caracterizados, decidiu-se incorporar sua subunidade, na forma de híbridos moleculares. Dessa forma, investigou-se o efeito vasorrelaxante dos AMBH (1a-1c) em artéria mesentérica superior de ratos normotensos, e verificar se a subunidade estrutural do eugenol incorporada na forma de híbridos moleculares (3a-3c) é capaz de promover um incremento na atividade vasorrelaxante. A primeira etapa do trabalho foi à preparação dos AMBH (1a-1c e 3a-3c), os quais já estão descritos na literatura. Os compostos foram sintetizados utilizando as metodologias representadas pelo Esquema 1.



Esquema 1. i) DCC, DMAP, CH₂Cl₂, 0 °C, 48 h; ii) DABCO, acetonitrila, 0 °C, 24 h; iii) DABCO, 0 °C, 10h

Os AMBH (1a-1c) foram obtidos em uma única etapa (iii), sendo que tais reações ocorreram entre o acrilato de metila (5) e os respectivos (*o*, *m*, *p*-NO₂) benzaldeídos. As sínteses dos AMBH derivados do eugenol (3a-3c) foram conduzidas em duas etapas,

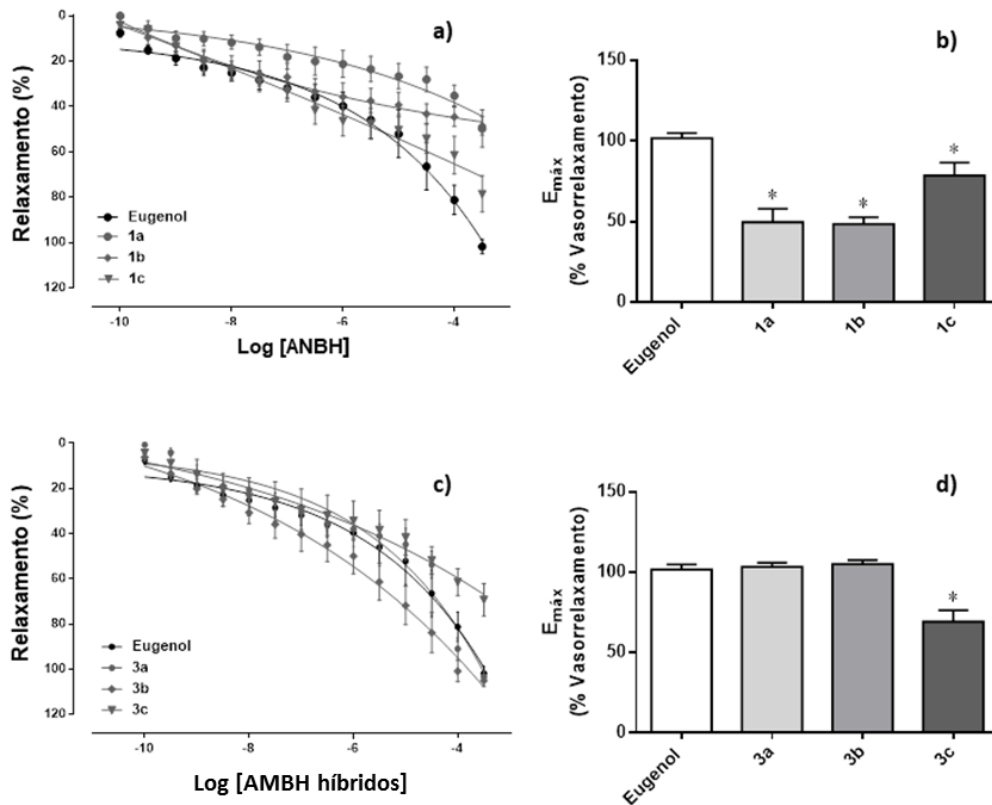
iniciando-se pela síntese do acceptor de Michael (4) a partir do eugenol e do ácido acrílico (6). As reações de MBH foram realizadas como etapa seguinte. Os compostos foram caracterizados usando RMN

^1H e RMN ^{13}C e os dados obtidos, foram corroborados com os dados da literatura.

4.2. Efeito vasorrelaxante dos adutos (1a-1c, 3a-3c) e do eugenol sobre tecido vascular

Os AMBH (1a-1c, 3a-3c) e o eugenol, ao serem adicionados de maneira cumulativa (10^{-10} a 3×10^{-4} M), foram capazes de induzir vasodilatação concentração-dependente em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos normotensos pré-contraídos com

FEN ($10 \mu\text{M}$) na presença do endotélio funcional. Apesar de promoverem uma resposta vasorrelaxante, os AMBH (1a, 1b, 1c e 3c) não revertem totalmente à contração induzida pela FEN ($10 \mu\text{M}$), e apresentaram valores reduzidos comparados ao eugenol, Figura 2 e Tabela 1. Por outro lado, os AMBH derivados do eugenol (3a e 3b) foram capazes de reverter totalmente à contração induzida pela FEN, apresentando $E_{\text{máx}}$ levemente superior ao eugenol (3a: $103,3 \pm 2,6$; 3b: $105,0 \pm 2,5$ versus **eugenol**: $101,8 \pm 3,0$, $n = 6$), Figura 2.



* $p < 0.05$ vs. eugenol. Dados expressos como média \pm erro padrão da média ($n = 6$)

Figura 2. Efeito vasorrelaxante em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato normotenso pré-contraídos com FEN ($10 \mu\text{M}$), na presença de endotélio funcional. a) Curva dose-resposta dos AMBH (1a, 1b e 1c) e eugenol; b) Efeito vasorrelaxante máximo induzido pelos AMBH (1a, 1b e 1c) e eugenol; c) Curva concentração-resposta dos AMBH híbridos (3a, 3b e 3c) e eugenol; d) Efeito vasorrelaxante máximo induzido pelos AMBH híbridos (3a, 3b e 3c) e eugenol

A tabela 1 mostra os valores relativos ao efeito máximo ($E_{m\acute{a}x}$) apresentados pelos compostos testados, fica evidente que os AMBH derivados do eugenol (**3a** e **3b**) são mais eficazes que os adutos (**1a** e **1b**).

Curiosamente, os dados mostraram que ocorreu uma diminuição na atividade vasorrelaxante para o AMBH híbrido (**3c**), o qual contém o grupo NO_2 na posição *para* no anel aromático, ao se inserir a porção estrutural do eugenol. Sabe-se que durante o

mecanismo de biorredução dos AMBH ocorre a formação de radicais aril-NO,^{29,30} que podem estar por trás da atividade vasorrelaxante apresentada para esses compostos. Cálculos teóricos mostraram que o potencial de redução do híbrido (**3c**) é menor do que o potencial de redução do AMBH híbrido (**3a**) que contém o grupo NO_2 na posição *orto* no anel aromático,²⁵ o que pode acarretar uma diminuição na biodisponibilidade de radicais aril-NO.

Tabela 1. Valores (%) de $E_{m\acute{a}x}$ referentes ao efeito vasorrelaxante do eugenol e dos adutos (1a-1c, 3a-3c) em anéis de artéria mesentérica superior, isolada de rato normotenso pré-contráídos com FEN (10 μM), na presença de endotélio funcional

Composto	$E_{m\acute{a}x} \pm \text{e.p.m.}$	n
Eugenol	101,8 \pm 3,0	6
1a	49,7 \pm 8,1*	6
1b	48,5 \pm 4,1*	6
1c	78,6 \pm 7,9*	6
3a	103,3 \pm 2,6 #	6
3b	105,0 \pm 2,5 #	6
3c	69,2 \pm 7,1*	6

* $p < 0,05$ versus Eugenol. # $p < 0,05$, 3a versus 1a; 3b versus 1b

A fim de investigar melhor o mecanismo pelo qual os AMBH híbridos (**3a-3c**), induzem vasodilatação, foi avaliado o efeito promovido por essas moléculas na ausência do endotélio funcional, como demonstrado na Figura 3.

Os dados obtidos demonstram que os AMBH híbridos também foram capazes de induzir vasodilatação na ausência do endotélio funcional. A remoção do endotélio não alterou a resposta induzida por esses compostos ($E_{m\acute{a}x}$ **3a**: 103,3 \pm 2,6 % versus 111,1 \pm 3,3 %; $E_{m\acute{a}x}$ **3b**: 105,0 \pm 2,5 % versus 104,1 \pm

2,0 %; $E_{m\acute{a}x}$ **3c**: 69,2 \pm 7,1 % versus 73,9 \pm 3,7 %, n=6), sugerindo que os adutos derivados do eugenol (3a e 3b) não necessitam do endotélio para promover vasorrelaxamento. Esta é uma característica de vasorrelaxantes que agem diretamente na musculatura lisa vascular, apresentando para tal diversos mecanismos de ação, estes podem incluir desde a liberação de óxido nítrico até uma ação direta em canais iônicos, interferindo, por exemplo, nas concentrações citosólicas de íons Ca^{2+} , Na^+ ou K^+ , importantes para o processo de contração e relaxamento celular.³¹

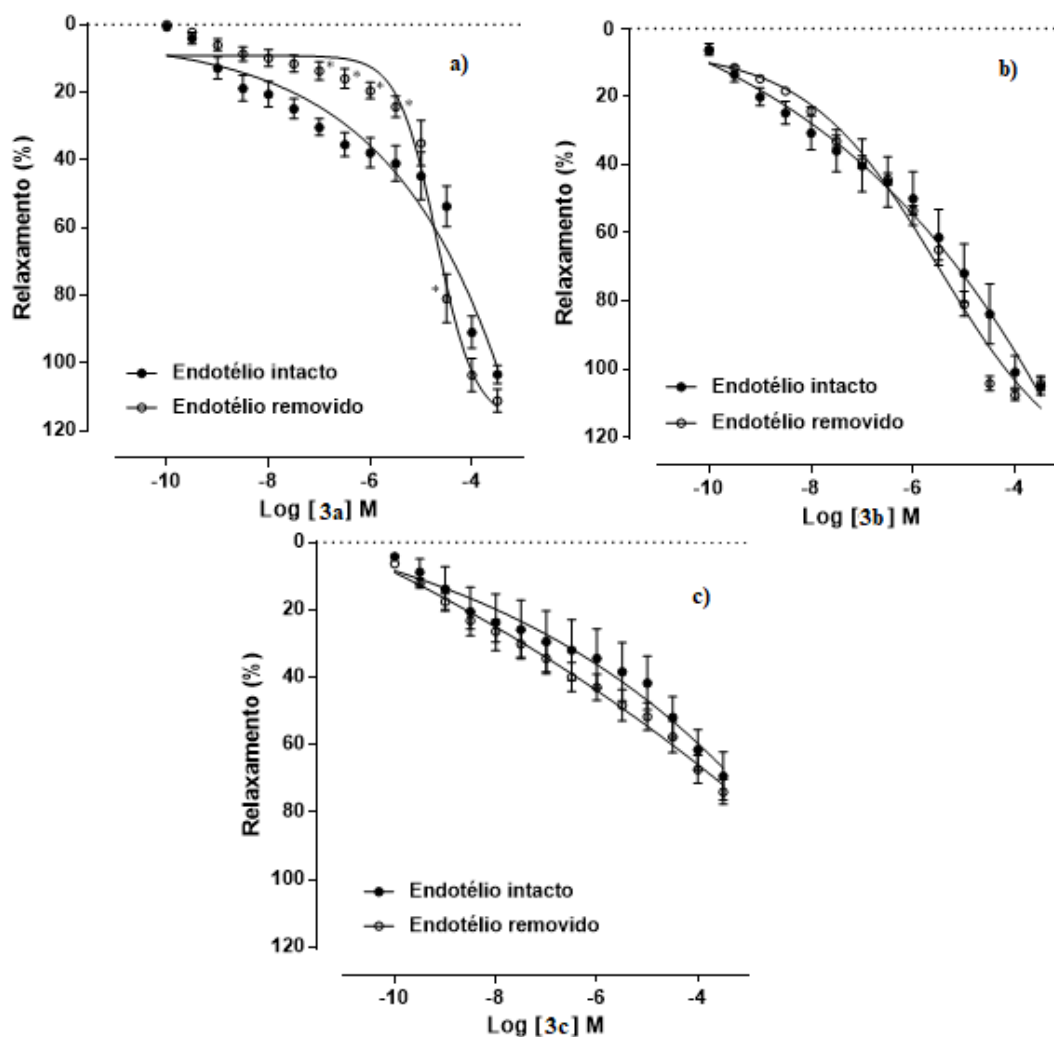


Figura 3. Efeito vasorrelaxante induzido pelos AMBH híbridos em anéis de artéria mesentérica superior, isolada de rato normotenso pré-contráídos com FEN (10 μ M), na ausência do endotélio funcional (n =6). Valores expressos como média \pm e.p.m. * $p < 0,05$. a) aduto (3a); b) aduto (3b); c) aduto (3c)

5. Conclusão

De forma geral, os AMBH (1a-1c) promoveram vasorrelaxamento com eficácia inferior aos AMBH híbridos, derivados do eugenol (3a-3c), portanto, a inserção da parte estrutural do eugenol potencializou a atividade vasorrelaxante desses compostos e apontam para o papel promissor dos adutos (3a) e (3b) na modulação do tônus vascular. Os dados sugerem que o efeito relaxante induzido por esses compostos não ocorreu

exclusivamente devido à parte estrutural proveniente do eugenol, já que o mesmo esteve presente nos AMBH (3a, 3b e 3c), e os compostos apresentaram eficácia e perfil de relaxamento diferentes.

O relaxamento induzido pelos adutos derivados do eugenol (3a-3c) não dependem do endotélio, sugerindo uma ação direta na camada muscular lisa vascular para promover o relaxamento. Estudos futuros são necessários para investigar melhor os mecanismos pelos quais essas moléculas exercem esse efeito.

Agradecimentos

Ao Instituto de Pesquisa de Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da Universidade Federal da Paraíba – UFPB e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências Bibliográficas

- ¹ Cardiovascular disease. World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/cardiovascular_disease/world-heart-day-2017/en/>. Acesso em: 31 agosto 2018.
- ² Sociedade brasileira de cardiologia, 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **2016**, *107*, 1. [CrossRef]
- ³ Guyenet, P. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nature Reviews Neuroscience* **2006**, *7*, 335. [CrossRef]
- ⁴ Campana, E. M. G.; Lemos, C. C.; Magalhães, M. E. C.; Brandão, A. A.; Brandão, A. P. Interações e associações medicamentosas no tratamento da hipertensão–Bloqueadores alfa-adrenérgicos e vasodilatadores diretos. *Revista Brasileira de Hipertensão* **2009**, *16*, 231. [Link]
- ⁵ Sandoo, A.; van Zanten, J. J. V.; Metsios, G. S.; Carroll, D.; Kitas, G. D. The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. *The Open Cardiovascular Medicine Journal* **2010**, *4*, 302. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Busse, R.; Fleming, I.; Hecker, M. Signal transduction in endothelium-dependent vasodilatation. *European Heart Journal* **1993**, *14*, 2. [PubMed]
- ⁷ Bortolotto, A.; Malachias, M.V.C. Novos medicamentos na hipertensão resistente. *Revista Brasileira de Hipertensão* **2009**, *16*, 13. [CrossRef]
- ⁸ Viegas-Junior, C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J. The natural products and the modern medicinal chemistry. *Química Nova* **2006**, *29*, 326. [CrossRef]
- ⁹ Kamatou, I. V.; Viljoen, A. M. Eugenol - from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules* **2012**, *17*, 6953. [CrossRef]
- ¹⁰ Deffieux, D.; Gossart, P.; Quideau, S. Facile and sustainable synthesis of the natural antioxidant hydroxytyrosol. *Tetrahedron Letters* **2014**, *55*, 2455. [CrossRef]
- ¹¹ Kaufman, T. S. The multiple faces of Eugenol. A versatile starting material and building block for organic and bio-organic synthesis and a convenient precursor toward bio-based fine chemicals. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2015**, *26*, 1055. [CrossRef]
- ¹² Lahlou, S.; Interaminense, L. F.; Magalhães, P. J.; Leal-Cardoso, J. H.; Duarte, G. P. Cardiovascular effects of Eugenol, a phenolic compound present in many plant essential oils, in normotensive rats. *Journal of cardiovascular pharmacology* **2004**, *43*, 250. [Link]
- ¹³ Criddle, D. N.; Madeira, S. V. F.; de Moura, R. S. Endothelium-dependent and-independent vasodilator effects of Eugenol in the rat mesenteric vascular bed. *Journal of pharmacy and pharmacology* **2003**, *55*, 359. [CrossRef]
- ¹⁴ Ohkubo, T.; Kitamura, K. Eugenol activates Ca²⁺permeable currents in rat dorsal root ganglion cells. *Journal of dental research* **1997**, *76*, 1737. [CrossRef]
- ¹⁵ Nishijima, H.; Uchida, R.; Kameyama, K.; Ohkubo, T.; Kitamura, K. Mechanisms mediating the vasorelaxing action of Eugenol, a pungent oil, on rabbit arterial tissue. *The Japanese Journal of Pharmacology* **1999**, *79*, 327. [CrossRef]
- ¹⁶ Morita, K.; Suzuki, Z.; Hirose, H. A tertiary phosphine-catalyzed reaction of acrylic compounds with aldehydes. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1968**, *41*, 2815. [CrossRef]
- ¹⁷ Coelho, F.; Almeida, W. P. The Baylis-Hillman reaction: a strategy for the preparation of multifunctionalised intermediates for organic synthesis. *Química Nova* **2000**, *23*, 98. [CrossRef]

- ¹⁸ Souza, R. O. M. A.; Pereira, V. L. P.; Esteves, P. M.; Vasconcellos, M. L. A. A. The Morita–Baylis–Hillman reaction in aqueous–organic solvent system. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49*, 5902. [CrossRef]
- ¹⁹ Kundu, M. K.; Sundar, N.; Kumar, S. K.; Bhat, S. V.; Biswas, S.; Valecha, N. Antimalarial activity of 3-hydroxyalkyl-2-methylene-propionic acid derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **1999**, *9*, 731. [CrossRef]
- ²⁰ Lima-Junior, C. G.; Vasconcellos, M. L. A. A. Morita–Baylis–Hillman adducts: Biological activities and potentialities to the discovery of new cheaper drugs. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2012**, *20*, 3954. [CrossRef]
- ²¹ da Silva, W. A.; Rodrigues, D. C.; Oliveira, R. G.; Mendes, R. K. S.; Olegário, T. R.; Rocha, J. C.; Keesen, T. S. L.; Lima-Junior, C. G.; Vasconcellos, M. L. A. A. Synthesis and activity of novel homodimers of Morita–Baylis–Hillman adducts against *Leishmania donovani*: A twin drug approach. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2016**, *26*, 4523. [CrossRef]
- ²² Santos, M. S.; Coelho, F.; Lima-Junior, C. G.; Vasconcellos, M. L. A. A. The Morita–Baylis–Hillman Reaction: Advances and Contributions from Brazilian Chemistry. *Current Organic Synthesis* **2015**, *12*, 830. [CrossRef]
- ²³ Lenardão E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub; M. J.; Batista, A. C. F.; Silveira, C. C. Green chemistry: the 12 principles of green chemistry and its insertion in the teach and research activities. *Química Nova* **2003**, *26*, 123. [CrossRef]
- ²⁴ Lima-Junior, C. G.; Vasconcellos, M. L. A. A. Efficient synthesis of 16 aromatic Morita–Baylis–Hillman adducts: Biological evaluation on *Leishmania amazonensis* and *Leishmania chagasi*. *Bioorganic chemistry* **2010**, *38*, 279. [CrossRef]
- ²⁵ Xavier, F. J. S.; Rodrigues, K. A. F.; Oliveira, R. G.; Lima-Junior, C. G.; Rocha, J. C.; Keesen, T. S. L.; Oliveira, M. R.; Silva, F. P. L.; Vasconcellos, M. L. A. A. Synthesis and in vitro anti *Leishmania amazonensis* biological screening of Morita–Baylis–Hillman Adducts prepared from Eugenol, thymol and carvacrol. *Molecules* **2016**, *21*, 1483. [CrossRef]
- ²⁶ Tanaka, M.; Chen, Z.; Bartunkova, S.; Yamasaki, N.; Izumo, S. The cardiac homeobox gene *Csx/Nkx2.5* lies genetically upstream of multiple genes essential for heart development. *Development* **1999**, *126*, 1269. [Link]
- ²⁷ Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; Miranda, A. L. P.; Rodrigues, C. R.; A química medicinal de N-acilidrazonas: Novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, anti-inflamatórios e anti-trombóticos. *Química Nova* **2002**, *25*, 129. [CrossRef]
- ²⁸ Sousa, S.; Juliana, R.; Keesen, T.; Silva, E.; De assis, P.; De oliveira, J.; Capim, S.; Xavier, F.; Marinho, B.; Silva, F.; Lima-junior, C.; Vasconcellos, M. Synthesis of 16 New Hybrids from Tetrahydropyrans Derivatives and Morita–Baylis–Hillman Adducts: In Vitro Screening against *Leishmania donovani*. *Molecules* **2017**, *22*, 207. [CrossRef]
- ²⁹ Paiva, Y. G.; Souza, A. A.; Lima, C. G., Jr.; Silva, F. P. L.; Filho, E. B. A.; Vasconcelos, C. C.; Abreu, F. C.; Goulart, M. O. F.; Vasconcellos, M. L. A. A. J. Correlation between electrochemical and theoretical studies on the leishmanicidal activity of twelve Morita–Baylis–Hillman adducts. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2012**, *23*, 894. [CrossRef]
- ³⁰ Paiva, Y. G.; Júnior, W. P. A.; de Souza, A.; Costa, C. O.; Silva, F. P. L.; Lima, C. G., Jr.; Vasconcellos, M. L. A. A.; Goulart, M. O. F. Electrochemical and computational studies, in protic medium, of Morita–Baylis–Hillman adducts and correlation with leishmanicidal activity. *Electrochimica Acta* **2014**, *140*, 557. [CrossRef]
- ³¹ Webb, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in physiology education* **2003**, *27*, 201. [CrossRef]