



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

SIDIANE BARROS DA SILVA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE DO SPRM12 SOBRE OS RECEPTORES
 α -ADRENÉRGICOS EM ARTÉRIA AORTA DE RATOS MACHOS E FÊMEAS**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
BACHARELADO EM ENFERMAGEM
NÚCLEO DE ENFERMAGEM

SIDIANE BARROS DA SILVA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE DO SPRM12 SOBRE OS RECEPTORES α -
ADRENÉRGICOS EM ARTÉRIA AORTA DE RATOS MACHOS E FÊMEAS**

TCC apresentado ao Curso de Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de bacharelado em Enfermagem.

Orientadora: Alice Valença Araújo.

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2019

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Fernanda Bernardo Ferreira, CRB4-2165

S586a Silva, Sidiane Barros da
Avaliação in vitro da atividade SPRM12 sobre os receptores α -adrenérgicos em artéria aorta de ratos machos e fêmeas. / Sidiane Barros da Silva. Vitória de Santo Antão, 2019.
68 folhas.

Orientadora: Alice Valença Araújo
TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco. CAV, Bacharelado em Enfermagem, 2019.

1. Endotélio. 2. Hipertensão. 3. Pirimidinonas. I. Araújo, Alice Valença (Orientadora). II. Título.

616.132 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE- 032/2019

SIDIANE BARROS DA SILVA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE DO SPRM12 SOBRE OS RECEPTORES α -
ADRENÉRGICOS EM ARTÉRIA AORTA DE RATOS MACHOS E FÊMEAS**

TCC apresentado ao Curso de Enfermagem da
Universidade Federal de Pernambuco, Centro
Acadêmico de Vitória, como requisito para a
obtenção do título de bacharelado em
Enfermagem.

Aprovado em: 05/06/2019.

BANCA EXAMINADORA

Profa^o. Dra. Sueli Moreno Senna (1^o Membro Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. João Henrique da Costa Silva (2^o Membro Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Thyago Moreira de Queiroz (3^o Membro Titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha mãe, Joseane Vila Nova de Barros, sem o amor e o esforço da mesma eu não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por todas as promessas feitas e pelo cumprimento das mesmas. Sem Ele este trabalho não teria sido realizado e os obstáculos encontrados em toda graduação seriam bem mais árduos. Também agradeço à minha mãe, à minha vó, às minhas queridas irmãs e ao meu cunhado por toda compressão durante todo esse período trilhado, mesmo em dias de estresse e de desesperos eles tiveram uma palavra de ânimo e de perseverança. Agradeço ao meu primo Nicolas, por todas as vezes que esteve disposto a me transportar de casa para a universidade e vice-versa. Não esquecendo de agradecer ao meu namorado, Lucas, por toda a paciência e compreensão.

Ainda gostaria de agradecer à minha querida orientadora profa. Dra. Alice Valença Araújo pela oportunidade, incentivo, por todas as vezes que esteve pronta a nos orientar; a mesma foi quem nos despertou o interesse pela pesquisa e quem nos levou a fazer tudo com bastante dedicação e responsabilidade. Quando eu estava em um momento de desespero acerca do caminho pra onde seguir durante a graduação, foi a profa. Alice Valença que me deu a oportunidade de conhecer e amar a pesquisa. Sou grata a profa. Dra. Janaina Versiani dos Anjos, que nos confiou e nos forneceu o composto para a realização do atual projeto. Também, não sendo menos especial agradeço à minha amiga Silvia Maria, por toda parceria durante esses anos em toda a academia, o que inclui todos experimentos. Ainda externo a minha gratidão a todos do nosso grupo de pesquisa, ao nosso laboratório de Nutrição Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, ao laboratório de Bioquímica e ao veterinário Vinícius e a técnica do biotério Juliete. Por fim agradeço a todos os meus amigos que sempre me ajudaram durante todo o percurso.

RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a primeira causa de morte no mundo. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento das mesmas, destaca-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). Boa parte da população hipertensa que está em tratamento não mantém os níveis pressóricos controlados. Diante disso, a busca por novas opções terapêuticas para a HAS é fundamental. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a ação do composto SPRM12 (uma pirimidinona, semelhante a alguns fármacos anti-hipertensivos, como a Prazosina e a terazosina) sobre os receptores alfa-adrenérgicos em artéria aorta de ratos *Wistar* machos e fêmeas. Foram utilizados anéis de artéria aorta de machos e fêmeas, com endotélio e sem endotélio, no banho de órgãos. Em seguida foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a fenilefrina na presença e ausência do composto estudado. A partir das curvas obtidas, foram calculados o Efeito máximo e o pD₂. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Prisma (Graph Pad Software, versão 5.0). Para a diferença entre os grupos foi aplicado o Teste t de Student para amostras não pareadas ou ANOVA de uma via, seguida de Newmann-Keuls; e o nível de significância $p < 0,05$. Os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal- CEUA da UFPE (Processos nº 021446/2013-12 e 0032/2018). Na concentração de 0,1mmol/L, o SPRM12 em anéis de artéria aorta de machos e fêmeas na ausência do endotélio, não reduziu a contração induzida pela fenilefrina. Contudo, na presença do endotélio o mesmo reduziu igualmente a contração induzida pela fenilefrina em ambos os sexos. Com isso, concluímos que, na concentração estudada, o composto não é antagonista dos receptores α_1 . Nossa hipótese é que ele seja um agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos e atue via liberação de fatores endoteliais vasodilatadores, como o óxido nítrico.

Palavras-chave: Endotélio. Hipertensão. Pirimidinonas. Receptores α_1 -adrenérgicos.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVD) are considered the leading cause of death in the world. Among the risk factors for their development, Systemic Arterial Hypertension (HAS) stands out. Most of the hypertensive population undergoing treatment does not maintain controlled blood pressure levels. Therefore, the search for new therapeutic options for hypertension is fundamental. This study aimed to characterize the action of the compound SPRM12 (a pyrimidinone, similar to some antihypertensive drugs, such as Prazosin and terazosin) on alpha-adrenergic receptors in the aorta artery of male and female *Wistar* rats. Male and female aorta artery rings with endothelium and without endothelium were used in the organ bath. Cumulative concentration-effect curves were then constructed for phenylephrine in the presence and absence of the compound studied. From the curves obtained, the maximum effect and pD_2 were calculated. Statistical analyzes were performed using the Prisma program (Graph Pad Software, version 5.0). For the difference between the groups, Student's t-Test was used for unpaired samples or one-way ANOVA, followed by Newmann-Keuls; and significance level $p < 0.05$. The experimental protocols were submitted and approved by the Committee on Ethics in Animal Use - CEUA of UFPE (Processes n° 021446 / 2013-12 and 0032/2018). At the concentration of 0.1 mmol / L, SPRM12 in aortic artery rings of males and females in the absence of endothelium did not reduce the contraction induced by phenylephrine. However, in the presence of the endothelium it also reduced the contraction induced by phenylephrine in both sexes. Thus, we conclude that, at the concentration studied, the compound is not α_1 -receptor antagonist. Our hypothesis is that it is an agonist of α_2 -adrenergic receptors and acts via the release of vasodilatory endothelial factors, such as nitric oxide.

Keywords: Endothelium. Hypertension. Pyrimidinones.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Doenças crônicas não transmissíveis: Doenças cardiovasculares	12
2.2 Hipertensão Arterial Sistêmica: importante fator de risco para o desenvolvimento das DCV	13
2.3 Adrenoreceptores: alvos farmacológicos.....	14
3.4 Pirimidinonas: compostos dotados de grande atividade biológica	15
2.5 A importância da inclusão de animais fêmeas em estudos experimentais.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 Obtenção do composto.....	19
3.2 Animais	19
3.3 Preparação dos anéis de artéria aorta	19
3.4 Avaliação do efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos.....	20
3.5 Avaliação da participação do endotélio no efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos ...	20
3.6 Análise Estatística	20
4 OBJETIVOS	21
4.1 Objetivo geral	21
4.2 Objetivos específicos.....	21
5 ARTIGO	22
5 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO A – NORMAS DA REVISTAS.....	47
ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	67

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a primeira causa de morte no mundo (WHO, 2017). Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento das mesmas, destaca-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), por ser a maior contribuinte para a carga global de doenças e para a mortalidade global (LIN, 2014; POULTER; PRABHAKARAN; CAULFIELD, 2015).

A HAS é caracterizada por níveis elevados e sustentados da pressão arterial (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016). Um estudo mostra que o tratamento para o controle da mesma pode reduzir significativamente o risco de DCV e a mortalidade por todas as causas (BUNDY, 2017). Ainda, a HAS é vista como um dos mais importantes problemas de saúde pública. Nos Estados Unidos, por exemplo, cerca de 30% da população adulta é hipertensa (GODMAN *et al.*, 2017). Já nos países em desenvolvimento, como o Brasil, de acordo com dados do BRASIL, a HAS atingiu cerca de 25,7% da população adulta em 2016 (BRASIL, 2016).

Apesar de grande número de medicamentos anti-hipertensivos disponível na indústria farmacêutica, boa parte da população em tratamento não mantém níveis pressóricos controlados (NOGUEIRA *et al.*, 2010; NELSON, *et al.* 2011). Diante disso, a busca por novas opções terapêuticas para a HAS é fundamental.

Uma vez que as mulheres pré-menopausa apresentam mais fatores de proteção cardiovascular quando comparadas aos homens (MARANON; RECKELHOFF, 2013; CUI; LIU, 2017), um percentual importante dos pacientes que não atingem níveis pressóricos adequados é de mulheres (GUDMUNDSDOTTIR *et al.*; 2012; BARRETO; MATSUDA; MARCO, 2016). Este fato deve-se, dentre outros fatores, à sub-representação das mulheres na pesquisa clínica vascular por muitos anos (MEHTA *et al.*; 2016).

Estão cada vez mais evidentes as diferenças entre homens e mulheres, em relação à fisiopatologia de doenças e à resposta a fármacos, incluindo aquelas relacionadas ao sistema cardiovascular (WENGER; LEON SPEROFF; PACKARD, 1993; BROSNIHAN; SENANAYAKE; FERRARIO, 1999; DESCHEPPER; LLAMAS, 2007; CLAYTON; ARNEGARD, 2018). Na resposta à fármacos, estas diferenças incluem a densidade dos receptores (MORITA *et al.*, 1987; GONG *et al.*, 1994), as influências dos hormônios sexuais (UKAI *et al.*, 1992) e até mesmo a diferença em eventos pós-receptores (KANASHIRO; KHALIL, 2001). Estes fatos justificam a importância de aplicar pesquisas considerando

ambos os sexos, embora haja bem menos estudos em fêmeas do que em machos (ou em mulheres do que homens) (MILLER *et al.*, 2016). Para tanto, os Institutos Nacionais de Saúde dos EUA elaboraram política destinada a integrar o sexo como uma variável biológica (NIH, 2014).

Atualmente encontramos uma série de medicamentos que atuam no controle da HAS. Dentre eles têm-se a classe dos antagonistas adrenérgicos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016). Estes fármacos atuam nos adrenoreceptores das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) que correspondem aos receptores α e β (MCGRATH, 1982). Os receptores α dividem-se em α_1 e α_2 e os receptores α_1 ainda se subdividem em α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} . Estes três subtipos tem afinidade semelhante pela adrenalina e pela noradrenalina (HWA, GRAHAM; PEREZ, 1995).

Os receptores α_1 são expressos em diferentes órgãos no corpo humano e desempenham várias funções, como modulação da neurotransmissão, vasoconstrição, inotropismo e regulação do metabolismo (COTECCHIA, 2010). Vários estudos mostraram ainda que os receptores α_1 são expressos em artérias periféricas de ratos (PIASCIK *et al.*, 1995; GUARINO, PEREZ; PIASCIK, 1996; PIASCIK *et al.*, 1997) e humanos (RUDNER *et al.*, 1999).

A ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos promove o aumento da concentração de cálcio (HWA; GRAHAM; PEREZ, 1995) que culmina na vasoconstrição, resultando em aumento da pressão arterial através do aumento da resistência vascular periférica. Assim, fármacos que antagonizam estes receptores podem ser utilizados para o tratamento da HAS (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016).

Muitos dos compostos que são pesquisados quanto à sua atividade biológica apresentam anéis heterocíclicos. De acordo com suas propriedades, estes compostos foram categorizados no Sistema de Classificação Biofarmacêutica e no Sistema de Classificação de Disposição de Fármaco Biofarmacêutico (KEEMINK *et al.*, 2015). Dentro da classe dos heterocíclicos, destacam-se as pirimidinonas e seus derivados em geral, por sua importância medicinal e biológica (MALAVOLTA, 2012).

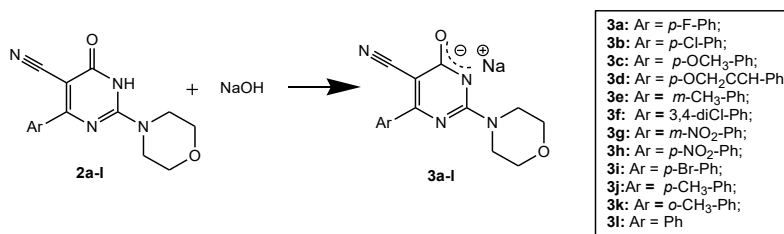
As pirimidinonas são derivados oxigenados das pirimidinas localizados em estruturas de moléculas que apresentam atividade biológica (BROWN; MASON, 1962). Esta classe de heterocíclicos apresenta uma similaridade estrutural com anti-hipertensivos da classe dos antagonistas adrenérgicos (BERNHART *et al.*, 1994) e em estudos prévio, moléculas

contendo o anel de pirimidinona foram capazes de antagonizar a contração induzida pela fenilefrina, um agonista seletivo α_1 -adrenérgicos (ANDRADE *et al.*, 2017).

Para o atual estudo, foram sintetizadas uma série do composto 2-morfolino-6-oxo-4-aryl-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (2a-I), em que foram transformadas em seus respectivos sais sódicos, visando à obtenção de derivados solúveis em água, conforme esquema 1.

Sendo assim, conseguiu-se uma otimização do composto, tornando-o mais próximo dos fármacos de referência (prazosina e terazosina), mantendo-se a vantagem da síntese multicomponente. Dentre os compostos obtidos foi escolhido um para o atual estudo: o SPRM12, sal sódico de pirimidinona com a substituição do grupo arila pelo flúor. Assim, objetivamos caracterizar a ação antagonista do SPRM12 sobre os receptores α -adrenérgicos em artéria aorta de ratos Wistar machos e fêmeas.

Figura 1: Transformação do 2a-I em sal sódico



Fonte: ANJOS, 2019.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças crônicas não transmissíveis: Doenças cardiovasculares

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são responsáveis por cerca de 71% de todas as mortes no mundo. Anualmente cerca de 41 milhões de pessoas morrem devido a estas doenças, sendo então consideradas como a principal causa de morte e incapacidade prematura na maioria dos países de nosso continente, incluindo o Brasil (WHO, 2018).

No Brasil, no período de 2000 a 2011 através de dados de óbitos registrados no Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), o número equivalente às DCNT foi de 68,3% do total de óbitos (MALTA *et al.*, 2014). Estas doenças incluem as doenças cardiovasculares, doenças respiratórias crônicas, diabetes e cânceres. E destas, as doenças cardiovasculares (DCV) destacam-se por serem responsáveis pela maioria das mortes, sendo então consideradas a primeira causa de morte a nível mundial (WHO, 2017).

As DCV, correspondem em um grupo de doenças que acometem o coração e os vasos sanguíneos, incluindo a doença coronariana, doenças cerebrovascular, doença arterial periférica, doença cardíaca reumática, cardiopatia congênita, trombose venosa profunda e embolia pulmonar (WHO, 2017).

No Brasil, as DCV também são consideradas como a principal causa de morte (MANSUR; FAVARATO, 2012; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016). De acordo com o DATASUS, de 2008 a 2014 o número de internações por DCV foi maior na população feminina quando comparado com a masculina (DATASUS, 2019). Essas doenças também representam a primeira causa de morte em mulheres americanas, apresentando um valor maior que 400.000 mortes a cada ano, ou seja, uma morte a cada 80 segundos (BENJAMIN *et al.*, 2018).

Os fatores de risco para as DCV são divididos em fatores de risco comportamentais e intermediários. Os fatores de risco comportamentais são o alcoolismo, sedentarismo, dieta, tabagismo e estes se manifestam em fatores de risco intermediários e incluem hiperglicemia, hiperlipidemia, obesidade e a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) (OMS, 2017). A HAS foi considerada em 2010 como a principal manifestação mundial (LIN *et al.*, 2014).

2.2 Hipertensão Arterial Sistêmica: importante fator de risco para o desenvolvimento das DCV

Nos Estados Unidos, a HAS foi considerada o fator de risco modificável responsável por mais mortes por DCV do que qualquer outro fator de risco, perdendo apenas para o tabagismo como uma causa evitável de morte por qualquer razão (DANAIE *et al.*, 2009). Em análises realizadas em participantes da NHANES (Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição), foi verificado que mais de 50% das mortes por doença cardíaca coronariana e acidente vascular cerebral ocorreram entre indivíduos hipertensos (FORD, 2011).

De 1975 a 2015, o número de adultos com HAS aumentou de 594 milhões para 1,13 bilhão. Esse aumento pode ser resultante do envelhecimento da população (NCD- RISK, 2017). De acordo com o BRASIL, apesar de uma maior prevalência da HAS nas mulheres, a quantidade de homens diagnosticados com HAS cresce mais velozmente quando comparados com as mulheres. Em 2006, 25,2% das mulheres da população brasileira foram diagnosticadas com HAS e 19,3% dos homens receberam este diagnóstico. Já em 2016 esses valores passaram para 27,5% e 23,6% para mulheres e homens, respectivamente (BRASIL, 2017).

A Organização Mundial de Saúde, em 1978, definiu a HAS como sendo uma doença caracterizada por uma elevação crônica da pressão arterial sistólica e/ou pressão arterial diastólica (WHO, 1978). Atualmente a mesma é caracterizada por níveis elevados e sustentados da pressão arterial, e é uma das principais causas de morbimortalidade cardiovascular na população adulta mundial (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016; YUSUF *et al.*, 2004).

No entanto, segundo a Sociedade Brasileira de Hipertensão, a HAS é mais do que somente a elevação da pressão arterial, embora este seja o aspecto pelo qual a população em geral esteja mais familiarizada. A HAS é uma condição clínica caracterizada por um aumento na resistência vascular, hipertrofia cardíaca, aumento na atividade do sistema nervoso simpático, alterações no músculo vascular e, frequentemente, aterosclerose e alterações na função renal (SUN; ZHANG, 2005). E esta apresenta como fatores de risco a idade, sexo, etnia, excesso de peso e obesidade, ingestão de sal, ingestão de álcool, sedentarismo, fatores socioeconômicos e genética (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

De acordo com a nova diretriz sobre diagnóstico e tratamento da hipertensão arterial da American Heart Association, a classificação atual dos níveis pressóricos são: pressão arterial normal definida por <120 / <80 mmHg; pressão arterial elevada 120-129 / <80

mmHg; hipertensão fase 1 130-139 ou 80-89 mmHg e hipertensão fase 2 ≥ 140 ou ≥ 90 mmHg (RUBENFIRE, 2018). Já de acordo com a sociedade brasileira de cardiologia o limite clinicamente escolhido para definir HAS em indivíduos acima de 18 anos refere-se a níveis tensionais iguais ou superiores a 140 mmHg x 90 mmHg (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

A abordagem terapêutica para a HAS inclui medidas não medicamentosas e o uso de fármacos anti-hipertensivos, a fim de reduzir a pressão arterial, proteger órgãos-alvo, prevenir desfechos cardiovasculares e renais. Inicialmente é indicada a abordagem não medicamentosa que correspondem a mudanças no estilo de vida (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016). Porém, se estas medidas não forem suficientes, é necessário iniciar o tratamento farmacológico, que apresenta como objetivo primordial a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares (PADWAL, 2001).

Estão disponíveis mais de 250 especialidades farmacêuticas, no mercado nacional, com único princípio ativo ou associação de dois ou mais princípios ativos, para o tratamento da HAS. Esses fármacos estão distribuídos nas seguintes classes: Diuréticos, antagonistas adrenérgicos, Vasodilatadores diretos, Bloqueadores dos canais de cálcio, Inibidores da enzima conversora da angiotensina, Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II e Inibidor direto da renina (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2016).

Entretanto, apesar dos avanços na terapia anti-hipertensiva, uma porcentagem importante dos pacientes, que estão em tratamento, não apresenta controle adequado dos níveis pressóricos (NELSON *et al.*, 2011). Em estudo realizado no Rio Grande do Sul, dos pacientes Hipertensos que estavam em tratamento, 31% não mantinham os níveis pressóricos controlados (GUS *et al.*, 2004). Ainda em estudo prospectivo realizado em 2384 funcionários de uma universidade no Rio de Janeiro, cerca de 40% da população que fazia uso de anti-hipertensivos não mantinham os níveis pressóricos controlados (NOGUEIRA *et al.*, 2010). Diante disso, é verificado a necessidade de estudos e desenvolvimento de moléculas que possam tonar-se fármacos anti-hipertensivos.

2.3 Adrenoreceptores: alvos farmacológicos

Os adrenoreceptores receptores para as catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, são estudados há quase 100 anos e tem sido alvo para a ação de diversos fármacos (AHLQUIST, 1948). Estes receptores fazem parte da superfamília acoplada a proteína G e podem ser classificados segundo suas especificidades de ligação, em α -adrenérgicos e β -adrenérgicos.

Cada um destes apresenta divisões, o α -adrenérgicos dividem-se em α_1 e α_2 e os receptores α_1 ainda subdividem-se em α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} ; enquanto os receptores β -adrenérgicos se dividem em β_1 e β_2 (HWA *et al.*, 1995).

Os receptores α_1 -adrenérgicos estão envolvidos na vasoconstrição induzidas por catecolaminas, já os receptores α_2 atuam na regulação periférica e central do sistema nervoso simpático. As subdivisões dos receptores α_1 apresentam distintas ações e expressão tecidual (PIASCIK; PEREZ, 1991; GIARDINÀ *et al.*, 1997).

Quando os receptores α_1 são ativados, ativa-se a fosfolipase C na membrana celular, resultando na produção dos segundos mensageiros diacilglicerol (DAG) e IP_3 , que, por sua vez, ativa a proteína quinase C (PKC). Além disto, a ativação destes receptores pode ativar vários outros efetores, como fosfolipase A_2 (PLA_2), fosfolipase D (PLD), a via das MAP quinases, Ras/Raf, Erk e o metabolismo do AMPc, bem como canais para cálcio, trocadores Na^+-H^+ e Na^+-Ca^{2+} e canais para potássio (HWA *et al.*, 1995; MICHELOTTI *et al.*, 2000; PIASCIK e PEREZ, 2001). A resposta primária resultante da ativação de qualquer receptor α_1 -adrenérgico é o aumento da concentração intracelular de cálcio e este aumento de cálcio no músculo liso vascular promove vasoconstrição (HWA *et al.*, 1995).

Através do bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos por um antagonista, a contração dos vasos sanguíneos é inibida e a vasodilatação ocorre. Isso resulta em queda da pressão arterial. Por esta razão, os antagonistas dos receptores adrenérgicos α_1 podem ser utilizados como fármacos anti-hipertensivos (ROMEIRO, 2011). Esses fármacos que antagonizam esses receptores incluem a Prazosina, Terazosina e Doxazosina, pertencentes à classe dos antagonistas adrenérgicos (GIARDINÀ *et al.*, 1997; HOFFMAN; GILMAN, 2001).

3.4 Pirimidinonas: compostos dotados de grande atividade biológica

Devido à grande variedade e complexidade estrutural, atualmente diversos compostos heterocíclicos são conhecidos, muitos tem se destacado na química teórica e aplicada (COSTA, 2004). Estes compostos apresentam em sua composição química sistemas de anéis, contendo átomos frequentemente de nitrogênio, oxigênio e enxofre (JUNIOR, 2003).

Os compostos heterocíclicos são considerados a classe de compostos dotados de mais propriedades biológicas a serem exploradas: propriedades farmacêuticas, agroquímicas, e veterinárias são amplamente reconhecidas cientificamente (GILCHRIST, 1992). O medicamento Viagra®, a vitamina B1 (Tiamina), o *Celecoxib* são exemplos de compostos que apresentam em suas estruturas os heterocíclicos (MALAVOLTA, 2012). De acordo com

suas propriedades, estes compostos foram categorizados no Sistema de Classificação Biofarmacêutica e no Sistema de Classificação de Disposição de Fármaco Biofarmacêutico (KEEMINK *et al.*, 2015).

Dentro dos sistemas heterocíclicos, destacam-se as pirimidinonas e seus derivados em geral, por sua importância medicinal e biológica (MALAVOLTA, 2012). As pirimidinonas correspondem em derivados oxigenados das pirimidinas, conhecidas por estarem presentes em muitas estruturas de moléculas dotadas de atividade biológica (BROWN; MASON, 1962). Esta classe de heterocíclicos apresentam em sua estrutura química duas diazinas, compostos heterocíclicos de seis membros contendo dois átomos de nitrogênio em sua estrutura nas posições 1 e 3 respectivamente (JUNIOR, 2003).

As pirimidinonas estão intimamente relacionada com os ácidos nucleicos e, talvez por conta da similaridade estrutural com estas biomoléculas, drogas anti-hipertensivas (BERNHART *et al.*, 1994), antitumorais (STRINGFELLOW, 1981), antivirais (SALADINO *et al.*, 2002), indutoras de interferon (VROEGOP *et al.*, 1999), hipoglicêmicas (MADHAVAN *et al.*, 2002), anticonvulsivantes (WHITE *et al.*, 2004), anti-histamínicas (TEMPLE *et al.*, 1979), analgésicas e antiinflamatórias (RANISE *et al.*, 1994) já foram sintetizadas contendo anéis pirimidinônicos em suas estruturas.

O grupo de pesquisa do Departamento de Química Fundamental CCEN/UFPE da professora Dra. Janaina Versiani dos Anjos, tem se envolvido, há algum tempo, na síntese e na descoberta de novos candidatos a fármacos as pirimidinonas em suas estruturas (MENDONÇA *et al.*, 2005; FALCÃO *et al.*, 2006; DOS ANJOS *et al.*, 2012). Uma série de pirimidinonas foi sintetizada por meio de uma estratégia multicomponente, para a síntese destes compostos nunca antes relatada na literatura. Esta nova metodologia sintética provavelmente diminuirá o tempo de síntese das moléculas contendo os heterocíclicos (ANDRADE *et al.*, 2017).

Em ensaios-piloto, algumas destas moléculas foram capazes de inibir a contração induzida pela fenilefrina (um agonista seletivo α_1), o que propõe uma ação antagonista sobre os receptores α_1 -adrenérgicos (ANDRADE *et al.*, 2017). Fármacos com esta atividade fazem parte dos antagonistas adrenérgicos, classes de fármacos utilizadas para o tratamento farmacológico da Hipertensão Arterial.

Diante do exposto, torna-se claro que o desenvolvimento destas moléculas contendo o anel de pirimidinona podem apresentar atividade anti-hipertensiva tornando-se uma nova

opção de tratamento farmacológico da HAS, sendo de grande importância para o avanço da terapia anti-hipertensiva.

2.5 A importância da inclusão de animais fêmeas em estudos experimentais

As doenças cardíacas assim como outras doenças manifestam-se de forma diferente entre homens e mulheres. Os sintomas, biomarcadores de doenças, efeitos adversos e a resposta a fármacos, são itens que podem se diferir entre os sexos (CLAYTON; ARNEGARD, 2018).

Na resposta a fármacos essas diferenças incluem a densidade de receptores (MORITA; *et al.*; 1987), influência de hormônios sexuais (GONG *et al.*, 1994) e até mesmo eventos pós-receptores (UKAI *et al.*, 1992). Nas reações adversas as mulheres apresentam uma tendência maior a apresentá-las. Em estudo realizado em Holanda, numa análise das internações hospitalares devido a reações adversas, as diferenças mais pronunciadas entre homens e mulheres foram através dos medicamentos cardiovasculares, estando em maior proporção na população feminina (RODENBURG, 2011).

As mulheres por muitos anos foram sub-representadas nos estudos clínicos, e em especial na pesquisa clínica vascular. Dentre outros fatores, este fator contribui para os efeitos adversos mais pronunciados nas mulheres e para a grande prevalência de mulheres que não mantêm os níveis pressóricos controlados mesmo estando em tratamento (MEHTA, 2016).

Para fortalecer a importância do estudo considerando as variáveis entre o sexo, o Escritório de Farmacologia Clínica (OCP) da Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos estabeleceu o escritório da saúde da mulher (OWH) em 1994, apresentando como objetivo a inclusão de mulheres em ensaios clínicos (MERKATZ; JUNOD, 1994). Mais tarde, em 2014 os Institutos Nacionais de Pesquisa dos EUA, devido a vasta concentração da pesquisa pré-clínica em animais e células do sexo masculino, elaboraram política destinada a integrar o sexo como uma variável biológica (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2014).

Nos estudos de pesquisa pré-clínica a incorporação de ambos os sexos é crucial, uma vez que permite reconhecer a aplicabilidade dos resultados do estudo e informar a tradução da pesquisa da descoberta científica básica para o desenvolvimento de medicamentos e testes de terapias. A partir dessa inclusão será verificado se há diferenças nas respostas subsidiando futuros testes clínicos, baseados nas diferenças tornando os tratamentos mais apropriados

(MILLER *et al.*, 2016). Apesar da grande importância da inclusão de ambos os sexos nas pesquisas, são poucos os ensaios biológicos que consideram ambos os sexos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção do composto

O composto SPRM12, foi fornecido pelo Laboratório de Síntese Orgânica/Departamento de Química Fundamental/CCEN da Universidade Federal de Pernambuco, coordenado pela Profa. Dra. Janaina Versiani dos Anjos.

3.2 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* machos e fêmeas (*Rattus norvegicus* var. albinus), com 2-3 meses de idade, pesando em torno de 250-320 g, criados no Biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais receberam água e dieta (Labina[®]) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12h claro/escuro) e temperatura (22 ± 2 °C).

Os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Processos nº 021446/2013-12 e 0032/2018) e foram realizados de acordo com o guia do National Institutes of Health (NIH Publications N°. 8023, revisado em 1978).

3.3 Preparação dos anéis de artéria aorta

Os animais foram mortos por decapitação. A artéria aorta torácica foi isolada e foram removidos os tecidos conjuntivos e gordura. Anéis de 4 mm de comprimento foram montados entre dois ganchos de metal, sendo um deles conectado a um transdutor de força para registro da tensão isométrica e o outro fixo à cuba. As respostas foram registradas em um sistema de aquisição (AVS). Os anéis foram incubados em cubas para órgãos isolados contendo 10 mL de solução de Krebs modificado com a seguinte composição (em mM): NaCl 130,0; KCl 4,7; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 1,6; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 14,9; glicose 5,5; em pH 7,4 sob gaseificação com mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂), a 37°C.

Em alguns experimentos, o endotélio vascular permaneceu intacto, este fato foi comprovado pelo relaxamento à acetilcolina (ACh) (1 µmol/l) maior que 80% do valor da contração induzida pela EC₅₀ da fenilefrina (Phe) (0,1 µmol/L). Já em outros experimentos, o endotélio vascular foi removido mecanicamente e a inexistência do endotélio foi confirmada pela ausência da resposta à ACh.

As aortas permaneceram numa tensão basal (1,5 g) durante uma hora, sendo lavadas a cada 15 minutos, para estabilização. Após a estabilização, foi realizado o teste de viabilidade vascular. Para este foi adicionado a EC_{50} da Phe, e foi considerado viável o anel que contraísse ao menos 1 g.

3.4 Avaliação do efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos

Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a Phe (0,1 nmol/L – 0,1mmol/L) na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, em anéis de aorta sem endotélio de ratos machos e fêmeas.

A partir das curvas concentração-efeito obtidas, calculamos dois parâmetros farmacológicos: Efeito máximo (E_{max}) e pD_2 . O E_{max} representa o máximo efeito produzido por uma droga em determinado tecido. O pD_2 corresponde ao logaritmo negativo da concentração que induz 50% do efeito máximo (EC_{50}).

3.5 Avaliação da participação do endotélio no efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos

Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a Phe (0,1 nmol/L – 0,1 μ mol/L) na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, em anéis de aorta com endotélio de ratos machos e fêmeas.

3.6 Análise Estatística

Os valores foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Prisma (Graph Pad Software, versão 5.0). A diferença entre os grupos foi verificada pelo teste t de Student para amostras pareadas ou não ou ANOVA de uma via seguida de Newmann-Keuls. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre $\geq 5\%$.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Caracterizar a ação do SPRM12 sobre os receptores α -adrenérgicos em artéria aorta de ratos *wistar*.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do SPRM12 sobre os receptores α_1 –adrenérgicos;
- Comparar tais efeitos entre aorta de ratos machos e fêmeas.

5 ARTIGO

O PRESENTE TRABALHO ESTÁ APRESENTADO NO FORMATO DE ARTIGO REQUERIDO PELA REVISTA **VASCULAR PHARMACOLOGY**, CUJAS NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS SE ENCONTRAM EM ANEXO.

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE DO SPRM12 SOBRE OS RECEPTORES α -ADRENÉRGICOS EM ARTÉRIA AORTA DE RATOS MACHOS E FÊMEAS

Sidiane Barros da Silva^{a*}; Janaina Versiani dos Anjos^b; Alice Valença Araújo^a.

- a. Laboratório de Nutrição, Atividade física e Plasticidade Fenotípica, Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Vitória de Santo Antão, Brasil
- b. Departamento de Química Fundamental, Laboratório de Síntese Orgânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil

RESUMO

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a primeira causa de morte no mundo. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento das mesmas, destaca-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). Diante disso, a busca por novas opções terapêuticas para a HAS é fundamental. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a ação do composto SPRM12 (uma pirimidinona, semelhante a alguns fármacos anti-hipertensivos, como a Prazosina e a terazosina) sobre os receptores alfa-adrenérgicos em artéria aorta de ratos *Wistar* machos e fêmeas. Foram utilizados anéis de artéria aorta de machos e fêmeas, com endotélio e sem endotélio, no banho de órgãos. Em seguida foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a fenilefrina na presença e ausência do composto estudado. A partir das curvas obtidas, foram calculados o Efeito máximo e o pD₂. Na concentração de 0,1mmol/L, o SPRM12 em anéis de artéria aorta de machos e fêmeas na ausência do endotélio, não reduziu a contração induzida pela fenilefrina. Contudo, na presença do endotélio o mesmo reduziu igualmente a contração induzida pela fenilefrina em ambos os sexos. Com isso, concluímos que, na concentração estudada, o composto não é antagonista dos receptores α_1 . Nossa hipótese é que ele seja um agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos e atue via liberação de fatores endoteliais vasodilatadores, como o óxido nítrico.

Palavras-chave: Endotélio. Hipertensão. Pirimidinonas. Receptores α_1 -adrenérgicos.

Abreviações: DCV, doenças cardiovasculares; HAS, Hipertensão arterial sistêmica; SPRM12, sal sódico de pirimidinona com arila substituído por flúor; ACh, acetilcolina; Phe, fenilefrina; EC₅₀, concentração que induz 50% do Emax; pD₂, logaritmo negativo da EC₅₀; Emax, efeito máximo; L-NAME, N^G-nitro-L-arginina metil éster; L-NMA, N^G-metil-L-arginina; NO, óxido nítrico; EDHF, fator de hiperpolarização derivado do endotélio; PGI₂, prostaciclina; GPCRs, receptores acoplados a proteína G; GCs, guanilil ciclase solúvel; GMPc, guanosina monofosfato cíclico; BHT-920, 6-alil-2-amino-5,6,7,8-tetra-hidro-4H- tiazolo [4,5-d] azepin; NOS, Óxido Nítrico Sintase; Kcl, Cloreto de Potássio.

*Autor correspondente em: Laboratório de Nutrição Atividade Física e Plasticidade Fenotípica. Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Vitória de Santo Antão, Brasil.

E-mail: sidiane_barros@hotmail.com (Sidiane Barros da Silva), janaversiani@gmail.com (Janaina Versiani dos Anjos), alice.araujo@ufpe.br (Alice Valença Araújo).

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são consideradas a primeira causa de morte no mundo [1]. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento das mesmas, destaca-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), por ser a maior contribuinte para a carga global de doenças e para a mortalidade global [2,3].

A HAS é caracterizada por níveis elevados e sustentados da pressão arterial [4]. Um estudo mostra que o tratamento para o controle da mesma pode reduzir significativamente o risco de DCV e a mortalidade por todas as causas [5]. Ainda, a HAS é vista como um dos mais importantes problemas de saúde pública. Nos Estados Unidos, por exemplo, cerca de 30% da população adulta é hipertensa [6]. Já nos países em desenvolvimento, como o Brasil, de acordo com dados do BRASIL, a HAS atingiu cerca de 25,7% da população adulta em 2016 [7].

Apesar de grande número de medicamentos anti-hipertensivos disponível na indústria farmacêutica, boa parte da população em tratamento não mantém níveis pressóricos controlados [8,9]. Diante disso, a busca por novas opções terapêuticas para a HAS é fundamental.

Uma vez que as mulheres pré-menopausa apresentam mais fatores de proteção cardiovascular quando comparadas aos homens [10,11], um percentual importante dos pacientes que não atingem níveis pressóricos adequados é de mulheres [12,13]. Este fato deve-se, dentre outros fatores, à sub-representação das mulheres na pesquisa clínica vascular por muitos anos [14].

Estão cada vez mais evidentes as diferenças entre homens e mulheres, em relação à fisiopatologia de doenças e à resposta a fármacos, incluindo aquelas relacionadas ao sistema cardiovascular [15, 16, 17, 18]. Na resposta à fármacos, estas diferenças incluem a densidade dos receptores [19, 20], as influências dos hormônios sexuais [21] e até mesmo a diferença em eventos pós-receptores [22]. Estes fatos justificam a importância de aplicar pesquisas considerando ambos os sexos, embora haja bem menos estudos em fêmeas do que em machos (ou em mulheres do que homens) [23]. Para tanto, os Institutos Nacionais de Saúde dos EUA elaboraram política destinada a integrar o sexo como uma variável biológica [24].

Atualmente encontramos uma série de medicamentos que atuam no controle da HAS. Dentre eles têm-se a classe dos antagonistas adrenérgicos [4]. Estes fármacos atuam nos adrenoreceptores das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) que correspondem aos receptores α e β [25]. Os receptores α dividem-se em α_1 e α_2 e os receptores α_1 ainda se subdividem em α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} . Estes três subtipos tem afinidade semelhante pela adrenalina e pela noradrenalina [26].

Os receptores α_1 são expressos em diferentes órgãos no corpo humano e desempenham várias funções, como modulação da neurotransmissão, vasoconstrição, inotropismo e regulação do metabolismo [27]. Vários estudos mostraram ainda que os receptores α_1 são expressos em artérias periféricas de ratos [28, 29,30] e humanos [31].

A ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos promove o aumento da concentração de cálcio [26] que culmina na vasoconstrição, resultando em aumento da pressão arterial através do aumento da resistência vascular periférica. Assim, fármacos que antagonizam estes receptores podem ser utilizados para o tratamento da HAS [4].

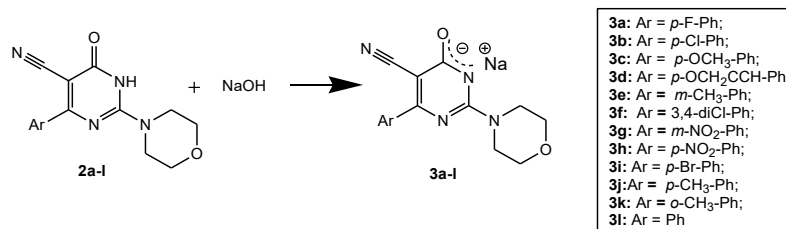
Muitos dos compostos que são pesquisados quanto à sua atividade biológica apresentam anéis heterocíclicos. De acordo com suas propriedades, estes compostos foram categorizados no Sistema de Classificação Biofarmacêutica e no Sistema de Classificação de Disposição de Fármaco Biofarmacêutico [32]. Dentro da classe dos heterocíclicos, destacam-se as pirimidinonas e seus derivados em geral, por sua importância medicinal e biológica [33].

As pirimidinonas são derivados oxigenados das pirimidinas localizados em estruturas de moléculas que apresentam atividade biológica [34]. Esta classe de heterocíclicos apresenta uma similaridade estrutural com anti-hipertensivos da classe dos antagonistas adrenérgicos [35] e em estudos prévio, moléculas contendo o anel de pirimidinona foram capazes de antagonizar a contração induzida pela fenilefrina, um agonista seletivo α_1 -adrenérgicos [36].

Para o atual estudo, foram sintetizadas uma série do composto 2-morfolino-6-oxo-4-aril-1,6-diidro-pirimidina-5-carbonitrilas (2a-I), em que foram transformadas em seus respectivos sais sódicos, visando à obtenção de derivados solúveis em água, conforme esquema 1.

Sendo assim, conseguiu-se uma otimização do composto, tornando-o mais próximo dos fármacos de referência (prazosina e terazosina), mantendo-se a vantagem da síntese multicomponente. Dentre os compostos obtidas foi escolhido um para o atual estudo: o

SPRM12, sal sódico de pirimidinona com a substituição do grupo arila pelo flúor. Assim, objetivamos caracterizar a ação antagonista do SPRM12 sobre os receptores α -adrenérgicos em artéria aorta de ratos Wistar machos e fêmeas.



Esquema 1

2. MÉTODOS

2.1 Obtenção do composto

O composto SPRM12, foi fornecido pelo Laboratório de Síntese Orgânica/Departamento de Química Fundamental/CCEN da Universidade Federal de Pernambuco, coordenado pela Profa. Dra. Janaina Versiani dos Anjos.

2.2 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* machos e fêmeas (*Rattus norvegicus* var. albinus), com 2-3 meses de idade, pesando em torno de 250-320 g, criados no Biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais receberam água e dieta (Labina[®]) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12h claro/escuro) e temperatura (22 ± 2 °C).

Os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Processos nº 021446/2013-12 e 0032/2018) e foram realizados de acordo com o guia do National Institutes of Health (NIH Publications N°. 8023, revisado em 1978).

2.3 Preparação dos anéis de artéria aorta

Os animais foram mortos por decapitação. A artéria aorta torácica foi isolada e foram removidos os tecidos conjuntivos e gordura. Anéis de 4 mm de comprimento foram montados entre dois ganchos de metal, sendo um deles conectado a um transdutor de força para registro da tensão isométrica e o outro fixo à cuba. As respostas foram registradas em um sistema de aquisição (AVS). Os anéis foram incubados em câmaras para órgãos isolados contendo 10 mL

de solução de Krebs modificado com a seguinte composição (em mM): NaCl 130,0; KCl 4,7; KH_2PO_4 1,2; CaCl_2 1,6; MgSO_4 1,2; NaHCO_3 14,9; glicose 5,5; em pH 7,4 sob gaseificação com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2), a 37°C.

Em alguns experimentos, o endotélio vascular permaneceu intacto, este fato foi comprovado pelo relaxamento à acetilcolina (ACh) (1 $\mu\text{mol/l}$) maior que 80% do valor da contração induzida pela EC_{50} da fenilefrina (Phe) (0,1 $\mu\text{mol/L}$). Já em outros experimentos, o endotélio vascular foi removido mecanicamente e a inexistência do endotélio foi confirmada pela ausência da resposta à ACh.

As aortas permaneceram numa tensão basal (1,5 g) durante uma hora, sendo lavadas a cada 15 minutos, para estabilização. Após a estabilização, foi realizado o teste de viabilidade vascular. Para este foi adicionado a EC_{50} da Phe, e foi considerado viável o anel que contraísse ao menos 1 g.

2.4 Avaliação do efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos

Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a Phe (0,1 nmol/L – 0,1mmol/L) na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, em anéis de aorta sem endotélio de ratos machos e fêmeas.

A partir das curvas concentração-efeito obtidas, calculamos dois parâmetros farmacológicos: Efeito máximo (E_{max}) e pD_2 . O E_{max} representa o máximo efeito produzido por uma droga em determinado tecido. O pD_2 corresponde ao logaritmo negativo da concentração que induz 50% do efeito máximo (EC_{50}).

2.5 Avaliação da participação do endotélio no efeito do SPRM12 na artéria aorta de ratos

Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a Phe (0,1 nmol/L – 0,1 $\mu\text{mol/L}$) na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, em anéis de aorta com endotélio de ratos machos e fêmeas.

2.6 Análise Estatística

Os valores foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Prisma (Graph Pad Software, versão 5.0). A diferença entre os grupos foi verificada pelo teste t de Student para amostras pareadas

ou não ou ANOVA de uma via seguida de Newmann-Keuls. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre $\geq 5\%$.

3. RESULTADOS

Como mostrado na Fig.1, o composto SPRM12, na concentração de 0,1 mmol/L, em anéis de artéria aorta de ratos na ausência do endotélio, não foi capaz de reduzir o Emax da contração induzida pela Phe (Controle: $E_{max}=2,27 \pm 0,16$ g e $pD_2=7,67 \pm 0,16$, $n=7$; +SPRM12: $E_{max}=2,08 \pm 0,20$ g e $pD_2=7,62 \pm 0,19$, $n=6$).

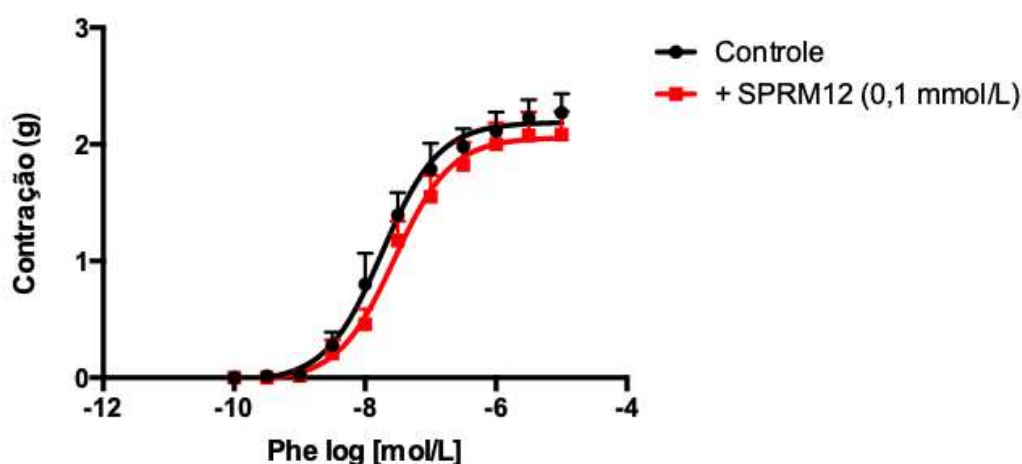


Figura 1. Contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta sem endotélio de ratos *Wistar*. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média com $n=7$ e 6 experimentos realizados em preparações de diferentes animais.

Em anéis de artéria aorta de ratas cujo endotélio vascular foi removido, o composto SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, também não reduziu o Emax da contração induzida pela Phe (Controle: $E_{max}=1,92 \pm 0,11$ g e $pD_2=7,67 \pm 0,11$, $n=6$; +SPRM12: $E_{max}=1,88 \pm 0,21$ g e $pD_2=7,4 \pm 0,11$, $n=7$) (Figura 2).

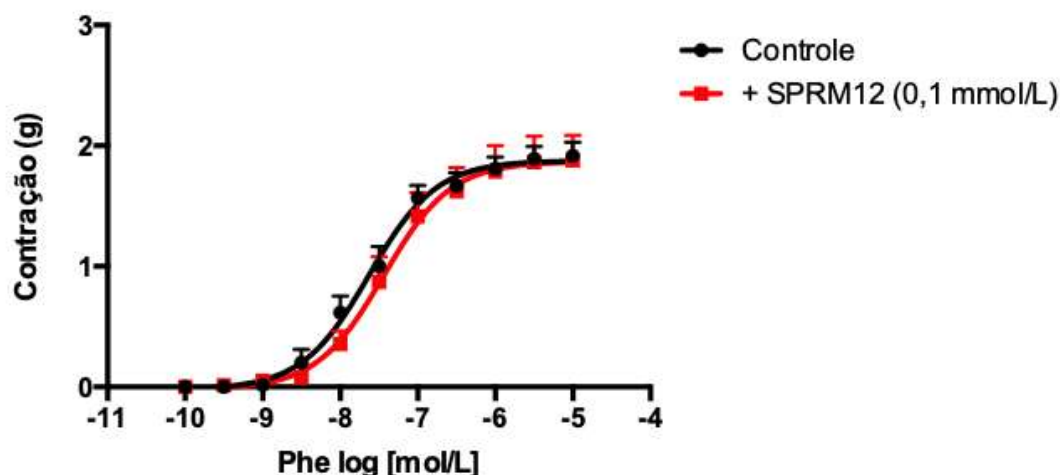
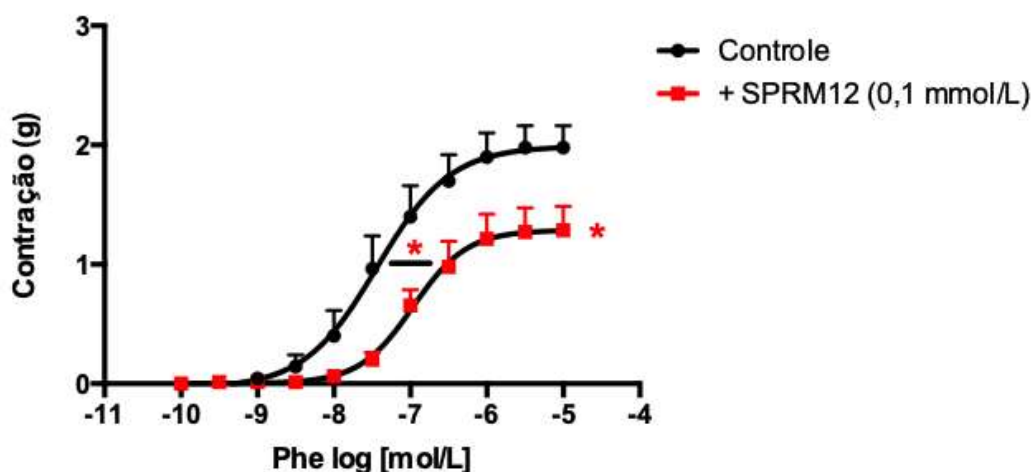


Figura 2. Contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta sem endotélio de ratos *Wistar*. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de $n= 6$ e 7 experimentos realizados em preparações de diferentes animais.

Em contrapartida, em anéis de artéria aorta de ratos com endotélio intacto, o composto



SPRM12, foi capaz de reduzir o E_{max} e o pD_2 da contração induzida pela Phe (Controle: $E_{max} = 1,97 \pm 0,18$ g e $pD_2 = 7,4 \pm 0,20$, $n=7$; +SPRM12: $E_{max} = 1,29 \pm 0,20$ g e $pD_2 = 6,86 \pm 0,16$, $n=7$) (Figura 3).

Figura 3. Contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta com endotélio intacto de ratos *Wistar*. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de $n= 7$ e 7 experimentos realizados em preparações de diferentes animais. * Diferença estatística em relação ao controle, teste t de Student.

Em anéis de artéria aorta de ratos com endotélio intacto, o composto SPRM12, também foi capaz de reduzir o E_{max} da contração induzida pela Phe (Controle: $E_{max} = 2,33 \pm 0,17$ g e $pD_2 = 6,96 \pm 0,12$, $n=6$; +SPRM12: $E_{max} = 1,09 \pm 0,18$ g e $pD_2 = 6,9 \pm 0,13$, $n=8$) (Figura 4).

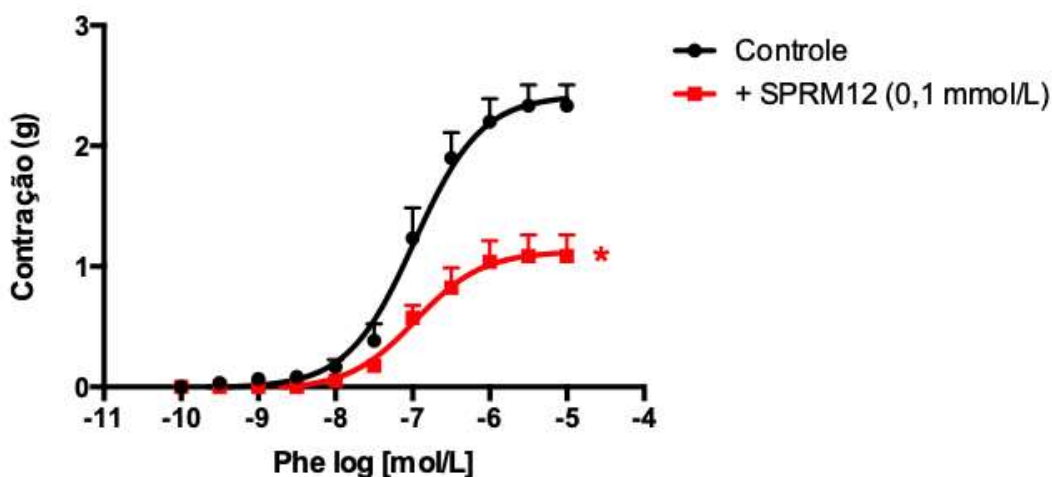


Figura 4. Contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta com endotélio intacto de ratas *Wistar*. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de n= 6 e 8 experimentos realizados em preparações de diferentes animais. * Diferença estatística em relação ao controle, teste *t* de Student.

A figura 5 nos mostra a comparação das respostas entre os grupos controles e grupos SPRM12 de ambos os sexos.

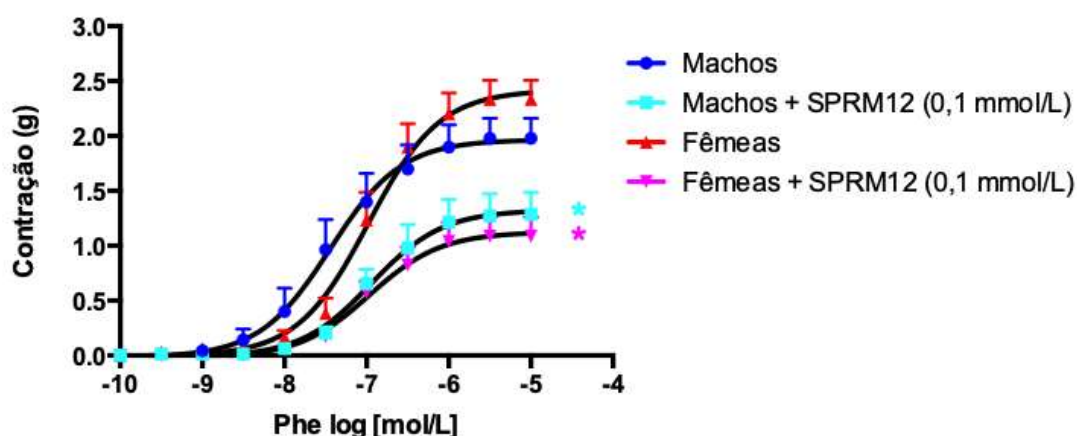


Figura 5. Contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta com endotélio intacto de ratos e ratas *Wistar*. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e na presença do SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média. * Diferença estatística em relação aos seus respectivos controles, ANOVA de uma via, seguida por Newmann-Keuls.

Para excluirmos a possibilidade de a contração induzida pela fenilefrina ter sido menor devido a um prejuízo na função contrátil induzido pelo SPRM12 (possível efeito tóxico), quantificamos a contração induzida pela EC₅₀ da Phe (0,1 μ mol/l), antes (sem SPRM12) e depois da curva na presença do SPRM12 o que sugere que o composto não é tóxico para estas células, na concentração estudada (Figura 6).

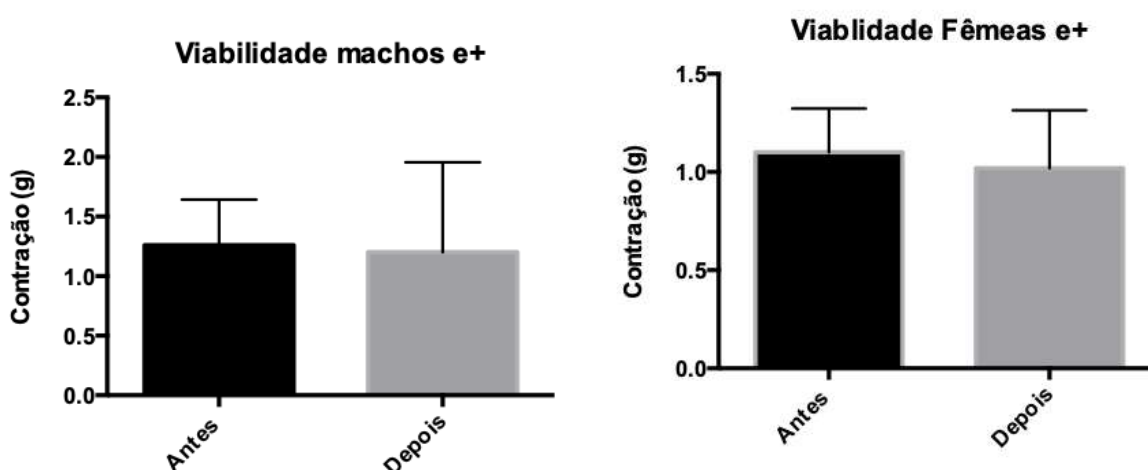


Figura 6. Quantificação da contração induzida pela EC₅₀ (0,1 µmol/l) da fenilefrina em anéis de aorta com endotélio intacto de ratos (A) n=4 e ratas (B) n=5 Wistar, antes e após a adição da molécula.

4. DISCUSSÃO

O principal objetivo do nosso estudo foi investigar a ação do composto SPRM12 sobre os receptores α -adrenérgicos, com a hipótese de que o mesmo seria antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos, pela semelhança estrutural com a prazosina e a terazosina. Além disso, apesar de encontrarmos muitos estudos que avaliam a ação de compostos sobre a reatividade vascular, poucos incluem as fêmeas em ensaios biológicos. Assim, também objetivamos analisar as possíveis diferentes respostas ao composto entre os sexos. Dessa maneira, o nosso projeto é um dos poucos na literatura a incluir as fêmeas em ensaio biológico *in vitro* para análise da ação de novos compostos na reatividade vascular.

Inicialmente, uma de nossas hipóteses era que o nosso composto fosse antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos. Porém, o SPRM12 na concentração de 0,1 mmol/L, não foi capaz de reduzir a contração induzida pela fenilefrina em anéis de artéria aorta na ausência do endotélio, tanto em machos como em fêmeas, o que sugere que o mesmo não é antagonista destes receptores na concentração estudada.

Muitos fármacos apresentam efeitos dependentes da concentração, ou seja, quanto maior a concentração maior o efeito. Como exemplo temos a fenilefrina [37], bradicinina [38], clonidina [39], L-NAME, L-NMA [40]. Além disso, na realização de curvas concentração-efeito a concentração de um fármaco junto aos receptores pode ser bem menor quando comparada à concentração que banha as preparações, visto que os compostos e/ou fármacos quando se difundem em direção ao seu sítio de ação, podem ser degradados por enzimas ou serem captados por células [41]. Visto que o nosso composto é inédito, não sabemos as ações inespecíficas a que o mesmo está submetido, portanto, é importante a realização de avaliações adicionais com outras concentrações para verificar se esse composto vai apresentar efeito na ausência do endotélio.

Em anéis de artéria aorta de ratos machos e fêmeas com o endotélio intacto, o composto reduziu a contração induzida pela fenilefrina, nos revelando que o endotélio funcional está envolvido no mecanismo de ação do composto. De fato, a literatura ressalta

importantes mediadores endoteliais envolvidos na vasodilatação, como óxido nítrico (NO), fator de hiperpolarização derivado do endotélio (EDHF) e a prostaciclina (PGI₂) [42]. Estes mediadores podem ser liberados através da ativação de receptores e/ou enzimas endoteliais.

Um dos receptores endoteliais em humanos cuja cascata de ativação promove a liberação dos mediadores endoteliais são os receptores α_{2A} -adrenérgicos, subtipo dos receptores α_2 -adrenérgicos. Já em ratos, tem-se o receptor α_{2D} , que é homólogo ao receptor α_{2A} em humanos [43]. Os receptores α_{2A} fazem parte dos GPCRs (receptores acoplados a proteína G), cuja ativação nas células endoteliais resulta em um aumento da concentração de Ca²⁺ citosólico, culminando na liberação dos fatores endoteliais. Os mesmos se difundem para a célula muscular lisa subjacente para ativar receptores IP₁ para prostanóides acoplados a guanilil ciclase solúvel (GCs), gerando um aumento no nível de GMPc, ou produzir hiperpolarização [44,45]. Todos estes eventos resultam na vasodilatação.

Devido à semelhança entre os receptores α -adrenérgicos, estudos relatam que alguns fármacos agonistas dos receptores α_2 , também atuam como agonista α_1 , dentre eles a clonidina em artéria aorta de ratos [46] e o BHT-920 em artéria mesentérica de cães [47]. Além disso, também são relatados efeitos agonistas em receptores α_1 por fármacos antagonistas α_2 (rauwolscina) [47]. Ainda, em estudo realizado por Kubacka et al. [48], os agentes antagonistas dos receptores α_1 , MH-76 e MH-79, apresentaram um efeito adicional por via da sinalização do NO-GMPc dependente do endotélio. Estes achados justificam o fato de que um composto sintetizado para atuar em um sítio de ação, pode apresentar outro efeito adicional. Assim, sugerimos que o SPRM12 promova uma ação agonista sobre os receptores α_2 -adrenérgicos. Para verificação desta hipótese, serão realizados protocolos utilizando o composto na presença da ioimbina, um antagonista dos receptores α_2 ou L-NAME, inibidor da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS).

Outra hipótese pode ser de pouca seletividade entre os receptores. A literatura retrata que a clonidina (agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos) em anéis de artéria aorta de ratos machos com endotélio intacto, quando na presença da fenilefrina e da prazosina, induziu o relaxamento se ligando a receptores α_2 -adrenérgicos. Por outro lado, quando a pré-contracção é induzida independente do receptor α_1 (com KCl, por exemplo), a clonidina induz contracção, possivelmente devido à sua ligação ao receptor α_1 . As autoras sugerem haver uma competição [46]. Tais fatos podem sugerir um possível efeito do SPRM12 como agonista dos receptores

α_1 . Para tanto, serão realizados outros estudos, com o uso dos antagonistas dos receptores α_1 e α_2 , além de um estudo de Binding.

Ao compararmos os grupos controle e os grupos SPRM12 entre os sexos, não houve diferença na contração induzida pela fenilefrina, e nem na resposta final do composto. Diante disso, o composto atuou de forma semelhante entre machos e fêmeas. Corroborando com nossos achados, Hayashi et al. [40] e Han et al. [38], ao comparar as respostas vasodilatadoras dependentes do endotélio em anéis de aorta de coelhos e ratos machos e fêmeas, verificaram que a sensibilidade à ACh foi semelhante nos anéis de ambos os sexos. Ainda, ao comparar o relaxamento induzido pela clonidina em anéis de artéria aorta de camundongos machos e fêmeas, não houve diferença significativa do relaxamento entre os sexos [39].

Em estudo realizado em artéria mesentérica de ratas ovariectomizadas, não houve diferença na resposta à ACh entre o grupo controle e o grupo em tratamento crônico com estrógenos [49]. Isto sugere que apesar das fêmeas apresentarem uma maior disponibilidade basal de NO pela atuação dos estrógenos, nem sempre a resposta vasodilatadora promovida por um agonista na dependência do endotélio será maior nas mesmas. Não havendo diferença no seu efeito, o composto SPRM12 pode subsidiar futuros ensaios clínicos e aplicação para ambos os sexos.

5. CONCLUSÃO

O composto SPRM12 na concentração estudada não é antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos, no entanto parece ser agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos. Além disso, não houve diferença no efeito do composto entre os sexos, apresentando uma vantagem de que poderá ser aplicado para ambos os sexos. No entanto, estudos posteriores precisam ser realizados.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Também agradecemos às equipes do Laboratório de Síntese Orgânica, Laboratório de Bioquímica e Laboratório de Nutrição, Atividade Física e Plasticidade

Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco por todo apoio para realização da pesquisa. Por fim, também gostaríamos de agradecer a todos os professores que contribuíram com as correções do atual trabalho.

REFERÊNCIAS

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cardiovascular diseases, 2017. Disponível em: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/. Acesso em: 07 de mai. de 2019.
- [2] LIN, J.S.; Behavioral counseling to promote a healthy lifestyle for cardiovascular disease prevention in persons with cardiovascular risk factors: An updated systematic evidence review for the us preventive services task force. **Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US)**, v.13, 2014.
- [3] POULTER, N. R.; PRABHAKARAN, D.; CAULFIELD, M. Hypertension. **The Lancet**, v. 386, p. 801-812, 2015.
- [4] SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VII Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n.3, 2016.
<http://dx.doi.org/10.5935/abc.20160151>.
- [5] BUNDY, J. D. et al. Systolic blood pressure reduction and risk of cardiovascular disease and mortality: a systematic review and network meta-analysis. **JAMA cardiology**, v. 2, n. 7, p. 775-781, 2017. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.1421. doi:10.1001/jamacardio.2017.1421.
- [6] GODMAN, M. J. et al. Cardiovascular disease. **Encyclopaedia Britannica**, 2017. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/cardiovascular-disease#accordion-article-contributors>. Acesso em: 11 de abr. de 2018.
- [7] Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão. BRASIL, Brasil, 2016. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/BRASIL.pdf>. Acesso em: 20 de abr. de 2019.
- [8] NOGUEIRA, D. et al. Reconhecimento, tratamento e controle da hipertensão arterial: Estudo Pró-Saúde, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, p. 103-109, 2010.
- [9] NELSON, S. A. E. et al. Barriers to blood pressure control: a STITCH substudy. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 13, n. 2, p. 73-80, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2010.00392.x>.

- [10] MARANON, R.; RECKELHOFF, J. F. Sex and gender differences in control of blood pressure. **Clinical science**, v. 125, n. 7, p. 311-318, 2013. DOI: 10.1042/CS20130140.
- [11] KANDER, M. C.; CUI, Y.; LIU, Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 21, n. 5, p. 1024-1032, 2017. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13038>.
- [12] GUDMUNDSDOTTIR, H. et al. Hypertension in women: latest findings and clinical implications. **Therapeutic advances in chronic disease**, v. 3, n. 3, p. 137-146, 2012. <https://doi.org/10.1177/2040622312438935>.
- [13] BARRETO, M. S.; MATSUDA, L. M.; MARCON, S. S. Fatores associados ao inadequado controle pressórico em pacientes da atenção primária. **Escola Anna Nery**, v. 20, n. 1, p. 114-120, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/1414-8145.20160016>.
- [14] MEHTA, L. S. et al. Acute myocardial infarction in women: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 133, n. 9, p. 916-947, 2016. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000351>.
- [15] WENGER, N.K.; LEON SPEROFF, M.D.; PACKARD, B.M.D. Cardiovascular health and disease in women. **The New England Journal of Medicine**. v.329, n.4, p.247-256, 1993. DOI: 10.1056/NEJM199307223290406.
- [16] BROSNIHAN, K.B.; SENANAYAKE, P.S.; FERRARIO, C.M. Bi-directional actions of estrogen on the renin-angiotensin system. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.32, p.373-381, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X1999000400001>.
- [17] DESCHEPPER, C. F.; LLAMAS, B. Hypertensive cardiac remodeling in males and females: from the bench to the bedside. **Hypertension**, v. 49, n. 3, p. 401-407, 2007. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000256279.49882.d8>.
- [18] CLAYTON, J.A.; ARNEGARD, M. E. Taking cardiology clinical trials to the next level: A call to action. **Clinical cardiology**, v. 41, n. 2, p. 179-184, 2018. <https://doi.org/10.1002/clc.22907>.
- [19] MORITA, T. et al. Sex differences in function and distribution of alpha 1-and alpha 2-adrenoceptors in rabbit urethra. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 252, n. 6, p. F1124-F1128, 1987. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1987.252.6.F1124>.

- [20] GONG, G. et al. Sex influence on renal alpha 2-adrenergic receptor density in the spontaneously hypertensive rat. **Hypertension**, v. 23, n. 5, p. 607-612, 1994. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.23.5.607>.
- [21] UKAI, K. et al. Sexual dimorphism in alpha adrenoceptor-mediated constriction of blood vessels from spontaneously hypertensive rats. **Japanese journal of pharmacology**, v. 58, p. 366P, 1992.
- [22] KANASHIRO, C. A.; KHALIL, R. A. Gender-related distinctions in protein kinase C activity in rat vascular smooth muscle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 280, n. 1, p. C34-C45, 2001. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.1.C34>.
- [23] MILLER, L. R. et al. Considering sex as a biological variable in preclinical research. **The FASEB Journal**, v. 31, n. 1, p. 29-34, 2016. <https://doi.org/10.1096/fj.201600781R>.
- [24] Policy on sex as a biological variable. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Disponível em: <https://orwh.od.nih.gov/sex-gender/nih-policy-sex-biological-variable>. Acesso em: 07 de mai. de 2019.
- [25] MCGRATH, J.C. Evidence for more than one type of post- junctional α -adrenoceptor. **Biochem Pharmacol**. 31: 467-484, 1982. DOI: [10.1016/0006-2952\(82\)90147-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(82)90147-2).
- [26] HWA, J.; GRAHAM, R. M.; PEREZ, D. M. Identification of critical determinants of $\alpha 1$ -adrenergic receptor subtype selective agonist binding. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 39, p. 23189-23195, 1995. DOI: 10.1074/jbc.270.39.23189.
- [27] COTECCHIA, S. The $\alpha 1$ -adrenergic receptors: diversity of signaling networks and regulation. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 30, n. 6, p. 410-419, 2010. <https://doi.org/10.3109/10799893.2010.518152>.
- [28] PIASCIK, M. T. et al. The specific contribution of the novel alpha-1D adrenoceptor to the contraction of vascular smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 275, n. 3, p. 1583-1589, 1995.
- [29] GUARINO, R. D.; PEREZ, D. M.; PIASCIK, M. T. Recent advances in the molecular pharmacology of the $\alpha 1$ -adrenergic receptors. **Cellular signalling**, v. 8, n. 5, p. 323-333, 1996. [https://doi.org/10.1016/0898-6568\(96\)00066-6](https://doi.org/10.1016/0898-6568(96)00066-6).
- [30] PIASCIK, M. et al. Immunocytochemical localization of the α_{1B} -adrenergic receptor and the contribution of this and the other subtypes to vascular smooth muscle contraction: analysis

with selective ligands and antisense oligonucleotides. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 283, n. 2, p. 854-868, 1997.

[31] RUDNER, X.L., et al. Subtype specific regulation of human vascular alpha (1)-adrenergic receptors by vessel bed and age. **Circulation**, v.100, n. 23, p.2336–2343, 1999.

[32] KEEMINK, J. et al. In vitro disposition profiling of heterocyclic compounds. **International Journal of Pharmaceutics**, n.491, n. 1-2, p.78-90, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.05.080>.

[33] MALAVOLTA, J. L. Síntese de pirimidinas derivados de 7,7,7- trialo-4-metoxi-6-oxo-4-hepptenoato de metila e bi-heterocliclicos trifluormetilados. Dissertação (Mestrado em Química) [Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012](#).

[34] BROWN, D.J., MASON, S.F. The Pyrimidines. **Interscience Publishers**, New York, 1962, p. 31-115. DOI: 10.1002 / 9780470187005.

[35] BERNHART, C.A., et al. Cyclopentanespiro-3H-dihydro-pyrimidinones as Angiotensin II AT1 receptor antagonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 1, p. 157-162, 1994. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)81139-2](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)81139-2).

[36] ANDRADE, A. N. de et al. Vasoactive Thiomethyl-Pyrimidines: Promising Drug Candidates with Vascular Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 7, p. 1266-1273, 2017. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20160289>.

[37] SÁNCHEZ, A. et al. The effect of ovariectomy on depressed contractions to phenylephrine and KC1 and increased relaxation to acetylcholine in isolated aortic rings of female compared to male rabbits. **British journal of pharmacology**, v. 118, n. 8, p. 2017-2022, 1996.

[38] HAN, X. et al. Sexual dimorphism in rat aortic endothelial function of streptozotocin-induced diabetes: possible involvement of superoxide and nitric oxide production. **European journal of pharmacology**, v. 723, p. 442-450, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.10.052>.

[39] TAGUCHI, K. et al. Akt/eNOS pathway activation in endothelium-dependent relaxation is preserved in aortas from female, but not from male, type 2 diabetic mice. **Pharmacological research**, v. 65, n. 1, p. 56-65, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.08.009>.

[40] HAYASHI, T. et al. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbits: implications for atherosclerosis. **Proceedings of the National**

Academy of Sciences, v. 89, n. 23, p. 11259-11263, 1992.
<https://doi.org/10.1073/pnas.89.23.11259>.

[41] RANG, R. et al. Como agem os fármacos: princípios gerais. **Rang & Dale Farmacologia**. Elsevier Brasil, 7º ed., p. 10, 2012.

[42] GILES, T. D. et al. Impaired vasodilation in the pathogenesis of hypertension: focus on nitric oxide, endothelial-derived hyperpolarizing factors, and prostaglandins. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 14, n. 4, p. 198-205, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2012.00606.x>.

[43] BOCKMAN, C. S.; GONZALEZ-CABRERA, I.; ABEL, P. W. Alpha-2 adrenoceptor subtype causing nitric oxide-mediated vascular relaxation in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, n. 3, p. 1235-1243, 1996.

[44] BOLOTINA, V. M. et al. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, v. 368, n. 6474, p. 850, 1994.

[45] MAGUIRE, J. J.; DAVENPORT, A. P. Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. **Trends in pharmacological sciences**, v. 26, n. 9, p. 448-454, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.07.007>.

[46] MOLIN, J. C.; BENDHACK, L. M. Clonidine induces rat aorta relaxation by nitric oxide-dependent and-independent mechanisms. **Vascular pharmacology**, v. 42, n. 1, p. 1-6, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2004.11.006>.

[47] YONG-YUAN, G.; KE-MING, C.; JIA-JUN, S. α 1-Adrenoceptors mediate the responses to BHT-920 and rauwolscine in dog mesenteric artery after partial depolarization by KCl. **European journal of pharmacology**, v. 200, n. 2-3, p. 283-287, 1991. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(91\)90583-C](https://doi.org/10.1016/0014-2999(91)90583-C).

[48] KUBACKA, M. et al. Involvement of the NO/sGC/cGMP/K⁺ channels pathway in vascular relaxation evoked by two non-quinazoline α 1-adrenoceptor antagonists. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 157-166, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.034>.

[49] MEYER, M. C.; CUMMINGS, K; OSOL, G. Estrogen replacement attenuates resistance artery adrenergic sensitivity via endothelial vasodilators. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 272, n. 5, p. H2264-H2270, 1997. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1997.272.5.H2264>

5 CONCLUSÃO

O composto SPRM12 na concentração estudada parece não ser antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos, no entanto parece ser agonista dos receptores α_2 -adrenérgicos. Além disso, não houve diferença no efeito do composto entre os sexos, apresentando uma vantagem de que poderá ser aplicado para ambos os sexos. No entanto, estudos posteriores precisam ser realizados.

REFERÊNCIAS

AHLQUIST, R. P. A study of the adrenotropic receptors. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, Bethesda, v. 153, n. 3, p. 586-600, 1948.

ANDRADE, A. N. et al. Vasoactive Thiomethyl-Pyrimidines: Promising Drug Candidates with Vascular Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 7, p. 1266-1273, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/BRASIL.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS – DATASUS. **Mortalidade hospitalar do SUS por local de internação – Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, ano. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acesso em: 11 abr. 2018.

BARRETO, M. S.; MATSUDA, L. M.; MARCON, S. S. Fatores associados ao inadequado controle pressórico em pacientes da atenção primária. **Escola Anna Nery**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 114-120, 2016.

BENJAMIN, E. J. et al. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, Dallas, v. 137, n. 12, p. e67, 2018.

BERNHART, C.A., et al. -3H-dihydro-pyrimidinones as Angiotensin II AT1 receptor antagonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Amsterdã, v. 4, n. 1, p. 157-162, 1994.

BROSNIHAN, K.B.; SENANAYAKE, P.S.; FERRARIO, C.M. Bi-directional actions of estrogen on the renin-angiotensin system. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. Ribeirão Preto, v.32, p.373-381, 1999.

BROWN, D.J., MASON, S.F. The Pyrimidines. **Interscience Publishers**, New York, p. 31-115, 1962.

BUNDY, J. D. et al. Systolic blood pressure reduction and risk of cardiovascular disease and mortality: a systematic review and network meta-analysis. **JAMA cardiology**, New York, v. 2, n. 7, p. 775-781, 2017. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.1421.

CLAYTON, J.A.; ARNEGARD, M. E. Taking cardiology clinical trials to the next level: A call to action. **Clinical cardiology**, Londres, v. 41, n. 2, p. 179-184, 2018.

COSTA, M. B. **Síntese de trifluormetil cicloalca-[d]- 2(1H) pirimidinonas e tiopirimidinonas**. 2004. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

COTECCHIA, S. The α 1-adrenergic receptors: diversity of signaling networks and regulation. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, Basel, v. 30, n. 6, p. 410-419, 2010.

DANAEI, G. et al. The avoidable causes of death in the United States: comparative risk assessment of dietary, lifestyle, and metabolic risk factors. **PLoS medicine**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. e1000058, 2009.

DESCHEPPER, C. F.; LLAMAS, B. Hypertensive cardiac remodeling in males and females: from the bench to the bedside. **Journal of Hypertension**, Milão, v. 49, n. 3, p. 401-407, 2007.

DOS ANJOS, J. V. et al. Comparative computational studies of 3, 4-dihydro-2, 6-diaryl-4-oxo-pyrimidine-5-carbonitrile derivatives as potential antinociceptive agents. **Molecules**, Basel, v. 17, n. 1, p. 809-819, 2012.

FALCAO, Emerson Peter da S. *et al.* Synthesis and antiinflammatory activity of 4-amino-2-aryl-5-cyano-6-{3-and 4-(N-phthalimidophenyl)} pyrimidines. **European journal of medicinal chemistry**, Amsterdã, v. 41, n. 2, p. 276-282, 2006.

FORD, E. S., Trends in Mortality From All Causes and Cardiovascular Disease Among Hypertensive and Nonhypertensive Adults in the United States. **Circulation**, Dallas, v.123, n.16, p. 1737-44, 2001.

GODMAN, M. J. et al. Cardiovascular disease. **Encyclopaedia Britannica**, 2017. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/cardiovascular-disease#accordion-article-contributors>. Acesso em: 11 abr. 2018.

HWA, J.; GRAHAM, R. M.; PEREZ, D. M. Identification of critical determinants of α 1-adrenergic receptor subtype selective agonist binding. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 270, n. 39, p. 23189-23195, 1995. DOI: 10.1074/jbc.270.39.23189.

GIARDINÀ, D. et al. Synthesis and α 1-antagonist activity of new prazosin-and benextramine-related tetraamine disulfides. **European journal of medicinal chemistry**, Amsterdã, v. 32, n. 1, p. 9-20, 1997.

GILCHRIST, T. L., **Heterocyclic chemistry**. 2 ed. Inglaterra: Editora Longman Scientific e Technical, p.248-276, cap.7, 1992.

GONG, G. et al. Sex influence on renal α 2-adrenergic receptor density in the spontaneously hypertensive rat. **Journal of Hypertension**, Milão, v. 23, n. 5, p. 607-612, 1994.

GOODMAN, B.B. GILMANS, G. I. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10 ed. McGraw-Hill: Nova York, cap. 10, 2001.

GUARINO, R. D.; PEREZ, D. M.; PIASCIK, M. T. Recent advances in the molecular pharmacology of the $\alpha 1$ -adrenergic receptors. **Cellular signalling**, Amsterdã, v. 8, n. 5, p. 323-333, 1996.

GUDMUNDSDOTTIR, H. et al. Hypertension in women: latest findings and clinical implications. **Therapeutic advances in chronic disease**, Londres, v. 3, n. 3, p. 137-146, 2012.

GUS, I. *et al.* Prevalência, reconhecimento e controle da hipertensão arterial sistêmica no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.83, n.5, p.424, 2004.

JUNIOR, F. J. B. **Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novos 3,4-dihidro-2,6-diaril-4-oxo-pirimidina-5-carbonitrilas**. 2003. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) -Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

KANASHIRO, C. A.; KHALIL, R. A. Gender-related distinctions in protein kinase C activity in rat vascular smooth muscle. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, Bethesda, v. 280, n. 1, p. C34-C45, 2001.

KANDER, M. C.; CUI, Y.; LIU, Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. **Journal of cellular and molecular medicine**, Hoboken, v. 21, n. 5, p. 1024-1032, 2017.

KEEMINK, J. et al. In vitro disposition profiling of heterocyclic compounds. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, n.491, n. 1-2, p.78-90, 2015.

LIN, J.S.; Behavioral counseling to promote a healthy lifestyle for cardiovascular disease prevention in persons with cardiovascular risk factors: An updated systematic evidence review for the us preventive services task force. **Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US)**, Rockville, v.13, 2014.

MADHAVAN, G. R.; et al.; Synthesis and biological activity of novel pyrimidinone Containing thiazolidinedione derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Amsterdã, v.10, p.2671 2680, 2002.

MALAVOLTA, J. L. **Síntese de pirimidinas derivados de 7,7,7- trialo-4-metoxi-6-oxo-4-hepptenoato de metila e bi-heterocíclicos trifluormetilados**. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) -Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

MALTA, D.C., et al. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.23, n.4, p.599-608, out-dez. 2014.

MANSUR, P. A.; FAVARATO, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 99, n. 2, p. 755-761, 2012.

MARANON, R.; RECKELHOFF, J. F. Sex and gender differences in control of blood pressure. **Clinical science**, Glasgow, v. 125, n. 7, p. 311-318, 2013.
DOI: 10.1042/CS20130140.

MCGRATH, J.C. Evidence for more than one type of post- junctional α -adrenoceptor. **Biochemical Pharmacology**, Amsterdã, v.31, p.467-484, 1982.

MEHTA, L. S. et al. Acute myocardial infarction in women: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, Dallas, v. 133, n. 9, p. 916-947, 2016.

JUNIOR, F. J.B. M. et al. A simple approach for the synthesis of 2, 6-diaryl-4-oxo-3, 4-dihydropyrimidine-5-carbonitriles. **Heterocyclic Communications**, [S.l], v. 11, n. 6, p. 479-484, 2005.

MERKATZ, R. B.; JUNOD, S. W. Historical background of changes in FDA policy on the study and evaluation of drugs in women. **Academic medicine: journal of the Association of American Medical Colleges**, Washington, v. 69, n. 9, p. 703-707, 1994.

MICHELOTTI, G. A.; PRICE, D. T.; SCHWINN, D. A. Alpha 1-adrenergic Receptor regulation: Basic science and clinical implications. **Pharmacology Therapeutics**, Amsterdã, v.88, p.281–309, 2000.

MILLER, L. R. et al. Considering sex as a biological variable in preclinical research. **The FASEB Journal**, Rockville, v. 31, n. 1, p. 29-34, 2016.

MORITA, T. et al. Sex differences in function and distribution of alpha 1-and alpha 2-adrenoceptors in rabbit urethra. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, Bethesda, v. 252, n. 6, p. F1124-F1128, 1987.

NCD RISK FACTOR. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants. **The Lancet**, Amsterdã, v.389, p. 37-55, 2017.

NELSON, S. A. E. et al. Barriers to blood pressure control: a STITCH substudy. **The Journal of Clinical Hypertension**, Oxford, v. 13, n. 2, p. 73-80, 2011.

NOGUEIRA, D. et al. Reconhecimento, tratamento e controle da hipertensão arterial: Estudo Pró-Saúde, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 27, p. 103-109, 2010.

PADWAL, R.; STRAUS, S.E.; MCALISTER, F.A., Cardiovascular risk factors and their impact on decision to treat hypertension: an evidence-based review. **BMJ**, Londres, v.322, p.977–980, 2001.

PIASCIK, M. T. et al. The specific contribution of the novel α_1D adrenoceptor to the contraction of vascular smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Rockville, v. 275, n. 3, p. 1583-1589, 1995.

PIASCIK, M. et al. Immunocytochemical localization of the α_{1B} -adrenergic receptor and the contribution of this and the other subtypes to vascular smooth muscle contraction: analysis with selective ligands and antisense oligonucleotides. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Rockville, v. 283, n. 2, p. 854-868, 1997.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Policy on sex as a biological variable**. Disponível em: <https://orwh.od.nih.gov/sex-gender/nih-policy-sex-biological-variable>. Acesso em: 07 maio 2019.

POULTER, N. R.; PRABHAKARAN, D.; CAULFIELD, M. Hypertension. **The Lancet**, Amsterdã, v. 386, p. 801-812, 2015.

RANISE, A. et al.; 5-Substituted 2,3-dihydro-6-mercapto-1,3-diphenyl-2-thioxo-4(3H)-pyrimidinones and their 6-(acylthio) derivatives with platelet antiaggregating, antiinflammatory, antiarrhythmic, antihyperlipidemic and other activities. **Farmaco**, v.49, p.551–558, 1994.

ROMEIRO, L. A.S. et al. Discovery of LASSBio-772, a 1, 3-benzodioxole N-phenylpiperazine derivative with potent α_1A/D -Adrenergic receptor blocking properties. **European journal of medicinal chemistry**, Amsterdã, v. 46, n. 7, p. 3000-3012, 2011.

RODENBURG, E. M.; STRICKER, Bruno H. Ch; VISSER, Loes E. Sex-related differences in hospital admissions attributed to adverse drug reactions in the Netherlands. **British journal of clinical pharmacology**, Leiden, v. 71, n. 1, p. 95-104, 2011.

RUBENFIRE, M. **Guideline for High Blood Pressure in Adults, 2018**. Disponível em: <http://www.acc.org/latest-in-cardiology/ten-points-to-remember/2017/11/09/11/41/2017-guideline-for-high-blood-pressure-in-adults>. Acesso em: 08 jul. 2018.

RUDNER, X. L., et al. Subtype specific regulation of human vascular $\alpha_1(1)$ -adrenergic receptors by vessel bed and age. **Circulation**, Dallas, v.100, n. 23, p.2336–2343, 1999.

SALADINO, R.; et al.; A new and efficient synthesis of substituted 6-[(2' dialkylamino)ethyl] pyrimidine and 4-N,N-dialkyl-6-vinyl- cytosine derivatives and evaluation of their antirubella activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Amsterdã, v.10, p.2143–2153, 2002.

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

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VII Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 107, n.3, 2016.

STRINGFELLOW, D.A. Antineoplastic properties of pyrimidinone interferon inducers. **Adv Enzyme Regul**, Amsterdã, v.19, p.335–348, 1981.

SUN, Z.J.; ZHANG, Z.E., **Acta Pharmacologica Sinica**, Xangai, v.26, n.3, p.295–301, 2005.

TEMPLE, D. L.; et al.; Synthesis of 3,4-dihydro-4-oxothieno[2,3-d]pyrimidine-2 carboxylates, a new series of orally active antiallergy agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, Amsterdã, v.22, p.505–510, 1979.

VROEGOP, S. M. et al.; Pharmacokinetic properties, induction of interferon, and efficacy of selected 5-halo-6-phenyl pyrimidinones, bropirimine analogues, in a model of severe experimental autoimmune encephalomyelitis. **International Journal of Immunopharmacology**, Amsterdã, v.21, p.647-662, 1999.

UKAI, K. et al.; Sexual dimorphism in alpha adrenoceptor-mediated constriction of blood vessels from spontaneously hypertensive rats. **Japanese journal of pharmacology**, Bunkyo-ku, v. 58, p. 366P, 1992.

WENGER, N.K.; LEON SPEROFF, M.D.; PACKARD, B.M.D. Cardiovascular health and disease in women. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v.329, n.4, p.247-256, 1993.

WHITE, D. C.; et al.; Synthesis and anticonvulsant evaluation of some new 2 substituted-3-arylpyrido[2,3-d]pyrimidinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Amsterdã, v.12, p.5711-5717, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cardiovascular diseases**. Geneva: WHO, 2017. Disponível em: https://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/. Acesso em: 07 maio 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Noncommunicable diseases**. Geneva: WHO, 2017. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/>. Acesso em: 05 abr. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Noncommunicable diseases**. Geneva: WHO, 2018. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>. Acesso em: 08 jul. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert Committee on Arterial**

Hypertension. Geneva: WHO, 1978.

YUSUF, S. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **ACC CURRENT JOURNAL REVIEW**, New York, v. 364, p.937-52, 2004.

ANEXO A – NORMAS DA REVISTAS

VASCULAR PHARMACOLOGY

A journal of Vascular Biology and Medicine

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

-
-
- **Description**
- **Audience**
- **Impact Factor**
- **Abstracting and Indexing**
- **Editorial Board**
- **Guide for Authors**

ISSN: 1537-1891

DESCRIPTION

Vascular Pharmacology publishes papers, which contains results of all aspects of **biology** and **pharmacology** of the **vascular system**. Papers are encouraged in basic, translational and clinical aspects of Vascular Biology and Pharmacology, utilizing approaches ranging from **molecular biology** to **integrative physiology**. All papers are in English.

The Journal publishes review articles which include vascular aspects of **thrombosis**, **inflammation**, **cell signalling**, **atherosclerosis**, and **lipid metabolism**.

Benefits to authors. We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#). Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#) [backbanner.gif](#) [ScienceDirect](#) [Backfiles](#).

AUDIENCE

Researchers in pharmacology, clinical pharmacology and kinetics and metabolism studies related to drug action.

IMPACT FACTOR

2017: 3.607 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2018

AUTHOR INFORMATION PACK 18 Jun 2019 www.elsevier.com/locate/vph 2

ABSTRACTING AND INDEXING

Embase
PubMed/Medline
Scopus
ScienceDirect

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

Raffaele De Caterina, Cattedra di Malattie dell'Apparato Cardiovascolare, Università degli Studi di Pisa, Italy,
Fax: +39-0871-402817

Associate Editors:

Jeremy Pearson, British Heart Foundation, London, England, UK

Gerard Pasterkamp, MD, PhD, Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMC Utrecht), Utrecht, Netherlands

Joseph Michael Miano, University of Rochester Medical Center, Rochester, New York, USA

Special Content Editor:

D. Hilfiker-Kleiner, Hannover Medical School (MHH), Hannover, Germany

Managing Editor:

R. Madonna, University G.D'Annunzio, Chieti, Italy

Editorial Board:

Lina Badimon, Barcelona, Spain

Cecilia Becattini, Perugia, Italy

Eduardo Bossone, Amalfi Coast, Italy

Ralf Brandes, Frankfurt, Germany

John Chapman, Paris, France

Guiseppe Cirino, Napoli, Italy

Francesco Cosentino, Rome, Italy

Saskia de Jager, Utrecht, Netherlands

Jozef Dulak, Krakow, Poland

Costanza Emanuelli, Bristol, England, UK

Ulf Eriksson, Stockholm, Sweden

Ingrid Fleming, Frankfurt, Germany

Yoshihiro Fukumoto, Kurume, Japan

Chris Garland, Oxford, UK

Yong-Jian Geng, Houston, Texas, USA

Timothy Hla, New York, New York, USA

John Horowitz, Adelaide, South Australia, Australia

Luisa Iruela-Arispe, Los Angeles, California, USA

Jason Johnson, Bristol, UK

Ulrich Laufs, Homburg, Germany

Peter Libby, Boston, Massachusetts, USA

Volkhard Lindner, Scarborough, Maine, USA

Xiaochun Long, Albany, New York, USA

Douglas Losordo, Chicago, Illinois, USA

Kathleen Martin, New Haven, Connecticut, USA

Nikolaus Marx, Aachen, Germany

Thomas Michel, Boston, Massachusetts, USA

Henning Morawietz, Dresden, Germany

Rama Natarajan, Duarte, California, USA

Koichi Node, Saga, Japan

Jerzy-Roch Nofer, Münster, Germany
Stylianos Orfanos, Haidari-Athens, Greece
Sampath Parthasarathy, Orlando, Florida, USA
Jun Ren, Laramie, Wyoming, USA
Gregg Rokosh, Louisville, Kentucky, USA
Bernhard Schieffer, Marburg, Germany
Ann Marie Schmidt, New York, New York, USA
Tommaso Simoncini, Pisa, Italy
Sergey Smirnov, Bath, UK
David Stepp, Augusta, Georgia, USA

AUTHOR INFORMATION PACK 18 Jun 2019 www.elsevier.com/locate/vph 3

Stefano Taddei, Pisa, Italy

Patric Turowski, London, UK

Gemma Vilahur, Barcelona, Spain

Johannes Waltenberger, Münster, Germany

Robert Widdop, Clayton, Victoria, Australia

Johann Wojta, Vienna, Austria

Jiliang Zhou, Augusta, Georgia, USA

AUTHOR INFORMATION PACK 18 Jun 2019 www.elsevier.com/locate/vph 4

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

Your Paper Your Way

We now differentiate between the requirements for new and revised submissions. You may choose to submit your manuscript as a single Word or PDF file to be used in the refereeing process. Only when your paper is at the revision stage, will you be requested to put your paper in to a 'correct format' for acceptance and provide the items required for the publication of your article.

To find out more, please visit the Preparation section below.

Vascular Pharmacology publishes papers, written in English, which contain results of all aspects of biology and pharmacology of the vascular system.

Papers are encouraged in all areas, including angiogenesis, growth factors, nitric oxide, cell signaling, vasoactive mediators, hypertension, atherosclerosis, metabolic diseases, blood element-vessel wall interactions, thrombosis, micro-circulation, vascular developmental biology and remodeling, vascular inflammation and immunity. Papers are encouraged on pharmacological research utilizing approaches ranging from molecular biology to integrative physiology.

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it

is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all Authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the Publisher.

It is essential to give a fax number and e-mail address when submitting a manuscript.

For more details on how to write a world class paper, please visit our Pharmacology Author Resources page.

Authors are encouraged to submit video material or animation sequences to support and enhance your scientific research. For more information please see the paragraph on video data below.

Fast processing option

If your article has previously been rejected from another journal, the Editors can process your submission to *Vascular Pharmacology* more quickly if the previously received reviewer's comments are made available to them. Please note that these will have to be sent (by email) by the Editor(s) of the respective other journal, we do not accept reviewer's comments submitted from the authors themselves. For questions please contact vph@elsevier.com.

Types of paper

The Journal publishes invited reviews and regular research articles. Sponsored supplements and special issues of collections of papers on the same subject are also published, and can be arranged through negotiation with the Editor.

Author Checklist for Research Manuscripts

Authors, before submission of their manuscript to *Vascular Pharmacology*, and Reviewers who handle manuscripts for *Vascular Pharmacology*, should consider this checklist. The list is designed to encourage best practice in publication. Failure to take account of any item on this list of relevance to the submitted manuscript is likely to lead to requests for revision of the work or, at worst, rejection.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms sex and gender should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of

Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors should complete the declaration of interest statement using this template and upload to the submission system at the Attach/Upload Files step. If there are no interests to declare, please choose: 'Declarations of interest: none' in the template. This statement will be published within the article if accepted. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the accepted manuscript in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The published journal article cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3200**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Referees

Please suggest 4 potential reviewers for this submission. At least 2 of the suggested reviewers should be located in the USA or Europe.

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the

creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also

the Guide to Publishing with Elsevier). See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family

name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

The abstract should have 100-200 words.

Graphical abstract

A graphical abstract is mandatory for this journal. It should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h $\times$ w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration Services to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements.

Keywords

Keywords. Immediately after the abstract, provide a maximum of 5 keywords, avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise.

List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUPAC: Nomenclature of Organic Chemistry for further information.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given

here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular

reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/vascular-pharmacology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, J. Sci. Commun. 163 (2010) 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. Heliyon. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

[3] W. Strunk Jr., E.B. White, The Elements of Style, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[4] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), Introduction to the Electronic Age, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] [6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1, 2015.

<https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your

data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the

article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
telefone: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 25 de setembro de 2013.

Ofício nº 629/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Alice Valença Araújo**
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.021446/2013-12

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Design de candidatos a fármacos contendo o anel da pirimidinona e a avaliação da atividade antagonista alfa-adrenérgico.**"

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE; Animais: ratos heterogênicos; Linhagem: Wistar; Idade: 2-3 meses; Peso: 250-320g; Nº total de animais: 60.

Atenciosamente,


Prof.ª Marcia Vasconcelos
Vice-Presidente do CEUACCS-UFPE
SUPE 2199635

CCB: Integrar para desenvolver



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones 2126.8840 / 2126.8251
www.cbci.ufpe.br

Recife, 04 de julho de 2018.

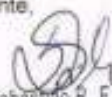
Ofício nº 56/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profa. Alice Valença Araújo**
Centro de Biociências
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0032/2018

Certificamos que a proposta intitulada "**AValiação da Atividade Antagonista Alfa-Adrenérgica de Compostos Contendo o Anel Pirimidinona: Estudo em Ratas.**", Registrada com o nº 0032/2018 sob a responsabilidade de **Profa. Alice Valença Araújo** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 04/07/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	04/06/2018 a 31 /07/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico
Nº de animais	60
Peso/idade	250 - 300g/2-3 meses
Sexo	Fêmeas (60)
Origem	Biotério do Centro Acadêmico de Vitória CAV - UFPE

Atenciosamente,


Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345681