



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Centro Acadêmico de Vitória – CAV
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física
e Plasticidade Fenotípica – PPGNAFPF



SILVIA MARIA LUNA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOLÓGICA DA AÇÃO DE COMPOSTOS
PIRIMIDINÔNICOS SOBRE OS RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS DE RATOS**

Vitória de Santo Antão
2022



Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Centro Acadêmico de Vitória – CAV
Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física
e Plasticidade Fenotípica – PPGNAFPF



SILVIA MARIA LUNA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOLÓGICA DA AÇÃO DE COMPOSTOS
PIRIMIDINÔNICOS SOBRE OS RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de mestre.

Orientadora: Alice Valença Araújo

Vitória de Santo Antão
2022

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB-4/2018

A474c Alves, Silvia Maria Luna.
Caracterização farmacológica da ação de compostos pirimidinônicos sobre os receptores α 1-adrenérgicos de ratos/ Silvia Maria Luna Alves- Vitória de Santo Antão, 2022.
53 f.; il.

Orientadora: Alice Valença Araújo.
Dissertação (Mestrado em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, 2022.
Inclui referências e anexo.

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

615.3 CDD (23. ed.) BIBCAV/UFPE - 0011/2022

SILVIA MARIA LUNA ALVES

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOLÓGICA DA AÇÃO DE COMPOSTOS
PIRIMIDINÔNICOS SOBRE OS RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS DE
RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Bases Experimentais e Clínicas da Plasticidade Fenotípica

Aprovada em: 22/02/2022

Participação por Videoconferência

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Valença
Araújo **Universidade Federal de
Pernambuco**

BANCA EXAMINADORA:

Participação por Videoconferência

Prof.^a Dr.^a Alice Valença Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

Participação por Videoconferência

Prof.Dr.Almir Gonçalves Wanderley
Universidade Federal de São Paulo

Participação por Videoconferência

Prof.Dr.Leucio Duarte Vieira Filho
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais, Clóvis e Socorro, por serem meus alicerces em todas as áreas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Saí da graduação em 2019, e logo no ano seguinte ingressei no mestrado, concluí meu TCC e pensei convicta de que teria vencido a etapa mais desafiadora da minha vida. E cá estou eu, defendendo minha dissertação, e com o mesmo pensamento de 2 anos atrás: Estou vencendo, mais uma vez, uma das etapas mais desafiadoras da minha vida até então. E definitivamente não chegaria até aqui sem a graça do meu bom Deus. Cursar o mestrado não é uma tarefa fácil, quiçá em uma pandemia e em um momento de tanto negacionismo da ciência. Cheguei por muitas vezes a duvidar se o que faço é válido. Foram dois anos de dúvidas, medos, incertezas, mas sobretudo, de vitória e muito amadurecimento. Deus me ajudou desde o ingresso ao fim dessa jornada. E continua ao meu lado. Livrou os “meus” em meio a tantas mortes vistas no cenário atual. Achei, por muitas vezes, que iria perder a sanidade, mas Ele esteve segurando minha mão mostrando a minha força. Por isso, à Ele, hoje e sempre, minha gratidão.

Sem sombra de dúvidas, duas pessoas que me ajudaram direta e indiretamente a chegar até aqui foram meus pais. Com eles aprendi a ser um ser humano íntegro e conquistar o mundo através da educação. Obrigada, pai e mãe. Tudo o que sou, devo a vocês. Aos meus irmãos, Carol e João, agradeço por todo apoio, incentivo, por acreditarem em mim e pelas minhas vidinhas que me trazem tanta alegria, meus sobrinhos. Ao meu namorado, Jordy, agradeço por me apoiar, enxugar todas as minhas lágrimas e ser meu porto seguro por diversas vezes. Agradeço a todos os meus familiares, avós, tias, tios, primos por toda a torcida e orações na minha trajetória. Aos meus amigos, em especial à Sidiane, por ser minha companheira desde 2015, me ajudar, apoiar, e estar comigo durante todos os perreques da graduação e mestrado. Extendendo esses agradecimentos à Rafaela, Gislainy e Anderson por tanto me ouvirem em momentos difíceis que passei.

Gratidão também ao meu grupo de pesquisa, FarmacoVit, composto por Sidiane, Wellington, Palloma, Ruth, e Professora Alice, por todos os conhecimentos compartilhados e ajuda no laboratório. Especialmente, meu muito obrigada a minha tão querida professora orientadora, Alice Valença Araújo, por todo conhecimento transmitido, por toda a compreensão, preocupação e por ser a melhor orientadora que eu poderia ter. Nesse mesmo sentido, agradeço ao professor Thyago Queiroz e seus alunos. E aos nossos colaboradores, Simone Potje e Daniel Rodrigues, pelos experimentos de citotoxicidade. E à FACEPE pela concessão da bolsa de mestrado.

Por último, mas não menos importante, agradeço a mim mesma, por não ter desistido da ciência, e principalmente, por não ter desistido de mim. O caminho não foi fácil, nem ficará, mas como costumo dizer e parafraseando um filme assistido na infância: A escalada é difícil, mas a vista é ótima.

“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as boboletas.”
(SAINT-EXUPÉRY, 1966, p. 34).

RESUMO

Os receptores α_1 -adrenérgicos são importantes alvos para a terapia farmacológica de doenças como hipertensão arterial sistêmica e hiperplasia benigna prostática. Seus antagonistas atuam evitando o aumento da pressão arterial (pela redução da vasoconstrição) e amenizando os sintomas da hiperplasia benigna de próstata (inibindo a contração muscular prostática). Novos compostos contendo o anel de pirimidinona, que possuem uma semelhança estrutural com anti-hipertensivos da classe dos antagonistas adrenérgicos tem sido estudados e desenvolvidos, sugerindo que possam apresentar tal atividade. Sendo assim, uma série de pirimidinonas foi sintetizada e algumas modificações foram feitas, com base nos estudos de relação estrutura-atividade, de forma a obter seis compostos que tiveram suas atividades otimizadas: STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop. O objetivo deste trabalho foi verificar possíveis ações citotóxicas desses compostos e caracterizar a ação farmacológica dos mesmos sobre receptores α_1 -adrenérgicos em aorta e ducto deferente de ratos. Foi avaliada a citotoxicidade dos compostos através do teste de MTT nas linhagens celulares HUVEC e A7r5. Foram construídas, em anéis de aorta sem endotélio de ratos, curvas concentração-efeito para a fenilefrina (agonista dos receptores α_1 -adrenérgicos) na presença e na ausência dos compostos (100 $\mu\text{mol/L}$) ou do antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos prazosina (100 $\mu\text{mol/L}$), utilizado como controle positivo. Além disso, para caracterizar o composto que apresentou melhores resultados na citotoxicidade e na reatividade vascular (STI4T-Et), foram realizados estímulos (100 $\mu\text{mol/L}$) com noradrenalina na presença de concentrações crescentes do STI4T-Et ou de prazosina em ductos deferentes de ratos, visto que tal tecido apresenta uma maior densidade de inervação simpática. Quanto à avaliação da citotoxicidade dos compostos, observou-se que a viabilidade das células expostas aos compostos variou entre 92,6 – 101,8% para as HUVECs e 90,3 – 106,6% para A7r5. Quanto aos experimentos de reatividade vascular, o único composto capaz de reduzir o Efeito Máximo da contração induzida pela fenilefrina foi o STI4T-Et (Controle: $E_{\text{max}}=2,28 \pm 0,14$ g e $pEC_{50}=7,60 \pm 0,21$, $n=8$; + STI4T-Et: $E_{\text{max}}=0,50 \pm 0,08$ g e $pEC_{50}=6,86 \pm 0,24$, $n=4$, $p < 0,05$.) Nos ductos deferentes, o composto induziu a inibição da resposta à noradrenalina de forma dependente da concentração, abolindo a resposta contrátil à noradrenalina na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$ e com $pIC_{50}=4.464 \pm 0.051$, $n=5$. Sendo assim, o STI4T-Et é um provável antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos e não foi citotóxico na concentração e nas linhagens celulares estudadas.

Palavras-chaves: antagonistas α_1 -adrenérgicos; hipertensão arterial sistêmica; hiperplasia benigna de próstata; pirimidinona.

ABSTRACT

α 1-adrenergic receptors are important targets for the pharmacological therapy of diseases such as systemic arterial hypertension and benign prostatic hyperplasia. Its antagonists work by preventing the increase in blood pressure (by reducing vasoconstriction) and easing the symptoms of benign prostatic hyperplasia (by inhibiting prostatic muscle contraction). New compounds containing the pyrimidinone ring, which have a structural similarity with antihypertensives of the adrenergic antagonist class, have been studied and developed, suggesting that they may have such activity. Therefore, a series of pyrimidinones was synthesized and some modifications were made, based on the structure-activity relationship studies, in order to obtain six compounds that had their activities optimized: STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop. The objective of this work was to verify possible cytotoxic actions of these compounds and to characterize their pharmacological action on α 1-adrenergic receptors in the aorta and vas deferens of rats. The cytotoxicity of the compounds was evaluated through the MTT test on the HUVEC and A7r5 cell lines. Concentration-effect curves for phenylephrine (α 1-adrenergic receptor agonist) in the presence and absence of the compounds (100 μ mol/L) or the α 1-adrenergic receptor antagonist Prazosin (100 μ mol/L), used as a positive control. Furthermore, to characterize the compound that presented the best results in terms of cytotoxicity and vascular reactivity (STI4T-Et), stimuli (100 μ mol/L) with noradrenaline were performed in the presence of increasing concentrations of STI4T-Et or prazosin in vas deferens. rats, since such tissue has a higher density of sympathetic innervation. As for the evaluation of the cytotoxicity of the compounds, it was observed that the viability of cells exposed to the compounds varied between 92.6 – 101.8% for HUVECs and 90.3 – 106.6% for A7r5. Regarding vascular reactivity experiments, the only compound capable of reducing the Maximum Effect of contraction induced by phenylephrine was STI4T-Et (Control: $E_{max}=2.28 \pm 0.14$ g and $pEC_{50}=7.60 \pm 0.21$, $n=8$; + STI4T-Et: $E_{max}=0.50 \pm 0.08$ g and $pEC_{50}=6.86 \pm 0.24$, $n=4$, $p<0.05$.) In the vas deferens, the compound induced response inhibition to noradrenaline in a concentration-dependent manner, abolishing the contractile response to noradrenaline at a concentration of 100 μ mol/L and with $pIC_{50}=4.464 \pm 0.051$, $n=5$. Therefore, STI4T-Et is a probable antagonist of α 1-adrenergic receptors and was not cytotoxic in the concentration and in the cell lines studied.

Keywords: α 1-adrenergic antagonists; systemic arterial hypertension; benign prostatic hyperplasia; pyrimidinone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Quando os receptores α_1 -adrenérgicos que são acoplados à proteína $G_{q/11}$, a fosfolipase C (PLC) é ativada e cliva o fosfolipídio de membrana fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP_2) em diacilglicerol (DAG) e inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3). O DAG difunde-se na membrana para ativar a proteinocinase C (PKC), que, a seguir, fosforila proteínas celulares específicas. O IP_3 estimula a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático para o citosol.	19
Figura 2. Sais sódicos de tiometil-pirimidinonas: Série 5 a-k.....	27
Figura 3. Compostos pirimidinônicos derivados da série 5 a-k.....	29
Figura 4. Viabilidade celular (%) de HUVEC após 30 minutos de tratamento em ensaio de MTT com os compostos: STI 4T-Et, STI 4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop na concentração de 100 μ mol/L. As barras apresentam a média dos percentuais de células viáveis, n=4.	34
Figura 5. Viabilidade celular (%) de células A7r5 após 30 minutos tratamento em ensaio de MTT com os compostos: STI 4T-Et, STI 4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop na concentração de 100 μ mol/L. As barras apresentam a média dos percentuais de células viáveis, n=4.	34
Figura 6. Efeito dos compostos tiometil-pirimidinônicos sobre a contração induzida pela fenilefrina em aorta torácica de ratos. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e presença dos compostos STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop ou prazosina na concentração de 100 μ mol/L, em anéis sem endotélio. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média 2-5 n realizados em preparações de diferentes animais. * Diferença estatística em relação ao controle, ANOVA de uma via, seguida de Newman-Keuls, $p < 0,05$	36
Figura 7. Efeito do STI4T-Et sobre a contração induzida pela noradrenalina em ducto deferente de ratos. O gráfico representa a resposta contrátil induzida pela noradrenalina na presença do STI4T-Et nas concentrações de 0,3; 1; 3; 10; 30; 100; 300 μ mol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de 5 n realizados em preparações de diferentes animais.	37
Figura 8. Efeito da prazosina sobre a contração induzida pela noradrenalina em ducto deferente de ratos. O gráfico representa a resposta contrátil induzida pela noradrenalina na presença da Prazosina nas concentrações de 0,001; 0,003; 0,01; 0,03; 0,1 0,3; 1; 3; 10; 10; 30 100; 300 nmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de 4 experimentos realizados em preparações de diferentes animais.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Percentual de viabilidade celular na presença de compostos tiometil-pirimidinônicos (100 µmol/L) nas linhagens celulares HUVEC e A7r5	35
Tabela 2- Contração induzida pela fenilefrina em aorta torácica de ratos na ausência ou na presença dos compostos tiometil-pirimidinônicos (100 µmol/L) ou do antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos (Prazosina, 100 µmol/L).	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A7r5	Células do músculo liso vascular de artéria aorta torácica de embrião de rato
ACh	acetilcolina
AMPC	monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	Análise de Variância
ARs	adrenoceptores
Ca ²⁺	cálcio
CaCl ₂	cloreto de cálcio
CAV	Centro Acadêmico da Vitória
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
CO ₂	gás Carbônico
DAG	diacilglicerol
DD	Ducto Deferente
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> (Meio Eagle Modificado por Dulbecco)
DMSO	dimetil sulfóxido
EC ₅₀	Concentração do fármaco que induz metade do efeito máximo
E.P.M	Erro Padrão da Média
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> (Ensaio de imunoabsorção enzimática)
E _{max}	Efeito máximo
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i> (Soro Fetal Bovino)
g	gramas

GPCRs	<i>G-protein coupled Receptors</i> (Receptores acoplados à proteína G)
H ⁺	hidrogênio
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HBP	Hiperplasia Benigna de Próstata
HUVEC	<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i> (Células endoteliais de veia do cordão umbilical humano)
IC ₅₀	Concentração que inibe metade do efeito máximo
IP ₃	trifosfato de inositol
KCl	cloreto de potássio
KH ₂ PO ₄	fosfato monopotássico
L	litro
MgSO ₄	sulfato de magnésio
Min	minuto
mL	mililitros
mol/L	milimolar
mmol	milimol
MTT	brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2il] -2,5-difeniltetrazólio
Na ⁺	sódio
NaCl	cloreto de sódio
NaH ₂ PO ₄	fosfato monossódico
NaHCO ₃	bicarbonato de sódio
NO	óxido Nítrico
O ₂	oxigênio
OECD	<i>Organization for Economic Co-operation and Development</i>

(Organização para a Cooperação e Desenvolvimento
Econômico)

PBS	tampão fosfato-salino
pEC ₅₀	Logaritmo negativo da EC ₅₀
pIC ₅₀	Logaritmo negativo da IC ₅₀
pH	Potencial hidrogênioônico
Phe	fenilefrina
PKC	<i>protein kinase C</i> (Proteína quinase C)
PLA ₂	<i>phospholipases A2</i> (Fosfolipase A2)
PLC	<i>phospholypase C</i> (Fosfolipase C)
PLD	<i>phospholipase D</i> (Fosfolipase D)
Ras/Raf	proteína RAS/ proteína RAF
RNA _m	RNA mensageiro
U	unidade
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
µg	micrograma
µmol	micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS.....	18
ANTAGONISTAS ADRENÉRGICOS	21
PIRIMIDINONAS.....	23
3 HIPÓTESE	25
4 OBJETIVOS.....	26
4.1 Geral:.....	26
4.2 Específicos:	26
5 MATERIAIS E MÉTODOS	27
OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS.....	27
ANIMAIS.....	29
ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE	29
EXPERIMENTOS FUNCIONAIS	31
PREPARAÇÃO DA ARTÉRIA AORTA.....	31
EXPERIMENTOS EM AORTA	32
PREPARAÇÃO DO DUCTO DEFERENTE.....	32
PROTOCOLOS PARA VERIFICAÇÃO DA AÇÃO DO COMPOSTO.....	33
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
6 RESULTADOS.....	34
ENSAIO DE CITOTOXICIDADE.....	34
EXPERIMENTOS FUNCIONAIS	35
EXPERIMENTOS EM ARTÉRIA AORTA	35
EXPERIMENTOS EM DUCTO DEFERENTE.....	37
7 DISCUSSÃO	39
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO A	53

1 INTRODUÇÃO

Os receptores adrenérgicos ou também conhecidos por adrenoceptores (ARs) são pertencentes à grande classe dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs), sendo eles ativados pelas catecolaminas endógenas: adrenalina, noradrenalina e dopamina. Os mesmos são divididos em receptores α e β -adrenérgicos, de acordo com suas propriedades fisiológicas e farmacológicas intrínsecas. Tais receptores ainda subdividem-se: os receptores α em α_1 e α_2 , os quais contam cada um com três subtipos (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} e α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}), assim como os receptores β , que são subdivididos em β_1 , β_2 e β_3 (BYLUND et al., 1995; HIEBLE et al., 1995).

Os receptores α_1 , ao serem ativados, se acoplam preferencialmente às proteínas $G_{q/11}$, levando a uma série de reações, culminando em respostas celulares biológicas (MINNEMAN, 1988) que regulam, dentre outras funções, a contratilidade cardíaca e a contração do músculo liso vascular e não vascular (KOSHIMIZU et al., 2003). Além disso, sua atividade desempenha um importante papel no que diz respeito ao controle urinário, sendo ligado a sintomas, como urgência urinária e noctúria (SCHWINN et al. 2001), bem como são essenciais para a fertilidade masculina (SANBE et al., 2007; AVELLAR et al., 2009).

Dada à sua localização e ação no músculo liso vascular, bem como no trato genitourinário (COTECCHIA, 2010; TESTA et al., 1993; DAY et al., 1997), os receptores α_1 -adrenérgicos são importantes alvos para terapia farmacológica de doenças como hipertensão arterial sistêmica (HAS) e hiperplasia benigna prostática (HBP). Dessa forma, o antagonismo desses receptores pode evitar o aumento da pressão arterial e amenizar os sintomas da HBP. Como exemplo, tem-se a prazosina, que consiste no primeiro antagonista seletivo para α_1 , que se mostrou bastante efetivo como um fármaco anti-hipertensivo (DU; LI, 2010; HIEBLE, 2000). Ressalta-se ainda que, os fármacos antagonistas dos receptores α_1 são considerados primeira linha para o tratamento dos sintomas da HBP (MARONA et al., 2011).

Salienta-se que mesmo com um número relevante de drogas antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos e das mesmas serem bem toleráveis, estes fármacos são associados a muitos efeitos adversos (KUBACKA et al., 2013), tais como tontura, vertigem, fadiga, hipotensão, edema, dispneia, ejaculação anormal,

astenia, diminuição da libido, ambliopia e cefaleia (LEPOR, 2006).

Diante disso, juntamente com o grupo de pesquisa do Departamento de Química Fundamental CCEN/UFPE, nosso grupo de pesquisa tem estudado novos candidatos a fármacos antagonistas dos receptores em questão, contendo o anel de pirimidinona. Estas moléculas possuem uma semelhança estrutural com anti-hipertensivos da classe dos antagonistas adrenérgicos (BERNHART et al., 1994), como a prazosina e a doxazosina, sugerindo que possam apresentar tal atividade. Sendo assim, uma série de pirimidinonas inéditas foi sintetizada por meio de uma estratégia nunca antes citada na literatura, a multicomponente. Esta nova metodologia de síntese provavelmente diminuirá o tempo de síntese das moléculas contendo os heterocíclicos (ANDRADE et al., 2017). Este estudo trata-se de um trabalho que vem sendo desenvolvido desde 2011, sendo desenvolvidas várias séries de moléculas até então. A primeira classe de protótipos consistiu de tiometilpirimidinonas, sendo visto que muitos destes compostos foram capazes de inibir a contração induzida por fenilefrina na aorta isolada de ratos (ANDRADE et al., 2016). A partir do desenvolvimento destes protótipos, outras séries e modificações foram realizadas, a fim de melhorar a atividade biológica. A série mais promissora, até o presente momento, foi a dos sais sódicos das tiometilpirimidinonas

Tentando-se uma melhoria no perfil farmacológico ou ainda entender melhor como alterações estruturais podem afetar a atividade sobre os receptores, novas modificações químicas foram propostas contendo o protótipo molecular tio-pirimidinônico, em que foram obtidos os seguintes compostos: STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop. Diante disso, espera-se que estes novos derivados sejam ainda melhores que os compostos da série anterior.

2 REVISÃO DA LITERATURA

RECEPTORES α_1 -ADRENÉRGICOS

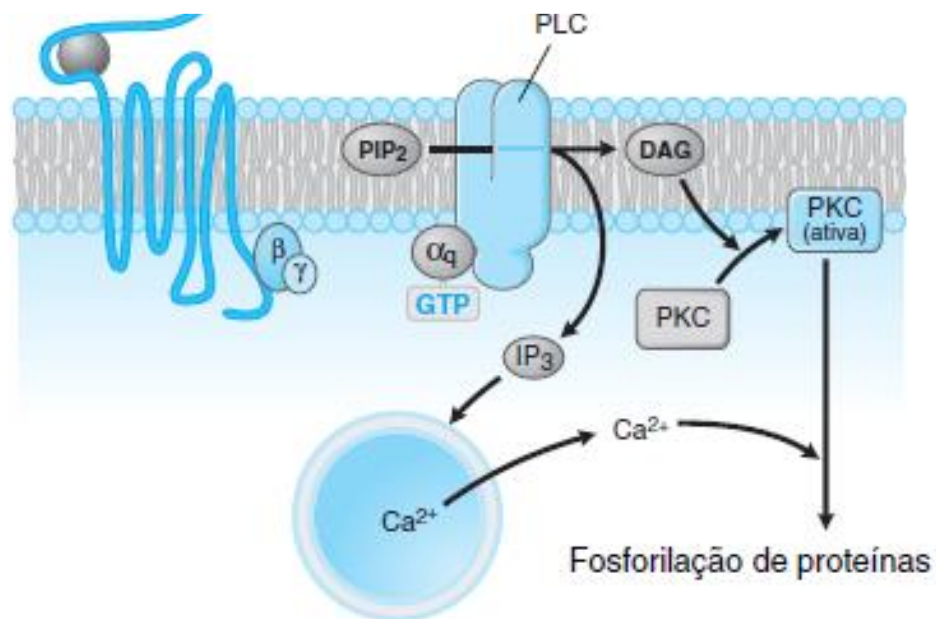
No corpo humano existe uma gama de receptores que agem modulando diversas reações no organismo, dentre os quais estão os receptores para as catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina), chamados receptores adrenérgicos, que pertencem à superfamília dos GPCRs (FREDRIKSSON ET AL., 2003). Os GPCRs são os alvos mais importantes para a descoberta de medicamentos e 40% de todos os medicamentos atualmente no mercado atuam sobre esses receptores (PUPO, 2016). Os receptores adrenérgicos são divididos em α e β (ALQUIST, 1948), estes ainda apresentam subdivisões, os receptores α subdividem-se em α_1 e α_2 (LANGER, 1974; STARKE et al., 1974), enquanto os receptores β em β_1 e β_2 . (LANDS et al., 1967).

Há, ainda, uma subdivisão dos receptores α , em que os receptores α_1 são subdivididos em α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} (HIEBLE et al., 1995). Eles apresentam 50% da sua sequência de aminoácidos idêntica e apresentam 70% de similaridade estrutural, tendo suas porções transmembranas homologia ainda maior (DU; LI, 2010).

Como mencionado inicialmente, os três subtipos de receptores α -adrenérgicos são acoplados à proteína G, mais especificamente à proteína $G_{q/11}$. Contudo, eles podem ativar diferentes vias de sinalização ou ainda diferentes componentes destas vias, o que resulta em uma grande complexidade nos efeitos celulares mediados por estes receptores. Os receptores α_1 apresentam o seguinte mecanismo de ação: quando ativados, a fosfolipase C é ativada na membrana da célula, levando à formação dos segundos mensageiros trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG), os quais ativam a proteína quinase C (PKC) (figura 1). Ademais, a ativação dos receptores α_1 pode levar à ativação de outros efetores, como fosfolipase D (PLD), fosfolipase A_2 (PLA_2), a via das MAP quinases, Ras/Raf, Erk e o metabolismo do AMPc, assim como canais para cálcio, trocadores Na^+ - H^+ e Na^+ - Ca^{2+} e canais para potássio (HWA et al., 1995; MICHELOTTI et al., 2000; RAMIREZ et al., 1997; PIASCIK; PEREZ, 2001). Predominantemente, a resposta primária após a ativação de qualquer receptor α_1 é o aumento da concentração citoplasmática de cálcio. Quando isto ocorre em células musculares, ocorre contração muscular (HWA

et al., 1995).

Figura 1. Quando os receptores α_1 -adrenérgicos que são acoplados à proteína $G_{q/11}$, a fosfolipase C (PLC) é ativada e cliva o fosfolípido de membrana fosfatidilinositol-4,5-difosfato (PIP_2) em diacilglicerol (DAG) e inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3). O DAG difunde-se na membrana para ativar a proteinocinase C (PKC), que, a seguir, fosforila proteínas celulares específicas. O IP_3 estimula a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático para o citosol.



FONTE: GOLAN, D.E (2009, p. 10)

No entanto, há diferenças entre a sinalização dos subtipos. A contração mediada pelo receptor α_{1A} , por exemplo, envolve a abertura dos canais de cálcio tipo L. Já a contração mediada pelos receptores α_{1B} envolve, além da abertura dos canais de cálcio, há uma maior sensibilização ao cálcio, enquanto o mecanismo da ativação dos receptores α_{1D} envolve a abertura dos canais de cálcio tipo T e a liberação dos estoques intracelulares de cálcio (revisado por DOCHERTY, 2019).

Os receptores α_1 são expressos em diferentes órgãos no corpo humano, incluindo cérebro, coração, fígado, rins, próstata, baço, ducto deferente, uretra, glândula submaxilar e vasos sanguíneos e desempenham várias funções, como modulação da neurotransmissão, vasoconstrição, ionotropismo e regulação do metabolismo (PIASCIK; PEREZ, 2001; COTECCHIA, 2010).

Os efeitos da ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos no sistema cardiovascular são inúmeros, tendo eles um papel importante no controle da pressão

arterial. Mesmo que os três subtipos sejam expressos nos vasos sanguíneos, dependendo da artéria ou porção estudada, pode-se ter uma predominância de um dos subtipos (GÓMEZ-ZAMUDIO et al., 2002; KAMIKIHARA et al., 2005; PIASCIK et al., 1995). Por exemplo, estudos moleculares mostram, em ratos, a presença dos receptores: α_{1D} na aorta; α_{1A} na caudal; α_{1A} e α_{1D} na ília; α_{1D} na mesentérica superior e nas artérias mesentéricas de resistência e α_{1A} em arteríolas aferentes renais de ratos (SALOMONSSON et al., 2001; FABER AND YANG., 2001; MARTI et al 2005). Na artéria aorta de ratos, o subtipo α_{1D} é o predominante, tanto em termos moleculares quanto funcionais, embora os outros subtipos sejam expressos e possam participar da contração (MARTI et al., 2005; GÓMEZ-ZAMUDIO et al., 2009; KENNY et al., 1995).

Quanto à regulação da pressão arterial observa-se papel principal do subtipo α_{1A} (PIASCIK, 1990; MARTÍNEZ-SALAS, et al. 2007), embora o subtipo α_{1D} também tenha participação (ZHOU e VARGAS, 1996). Além disso, é demonstrada que essa regulação também seja mediada pelos α_{1B} , visto que em um estudo realizado em camundongos nocaute para o subtipo α_{1D} demonstrou que o antagonista seletivo para os receptores α_{1B} e α_{1D} , cloroetilclonidina diminuiu a resposta induzida pela fenilefrina no leito mesentérico (MARTÍNEZ-SALAS et al., 2011).

Além da vasoconstrição induzida pelos α_1 -ARs, nas células endoteliais, existem evidências de que sua ativação pode levar à produção de óxido nítrico (NO), sendo demonstrado que fenilefrina induz a produção de NO por meio da ativação desses receptores e da óxido nítrico sintase (NOS) em artérias pulmonares de ratos (BOER et al. 1999). Além disso, o papel do α_{1B} nas células endoteliais da artéria coronária também parece envolver a produção de NO (JESEN et al., 2010).

Além de apresentarem grande importância no sistema cardiovascular, os receptores α_1 também apresentam grande relevância no trato genitourinário, visto que estão presentes na bexiga, uretra, próstata, ureter e ducto deferente. Vê-se, por exemplo, que o RNAm dos três subtipos de α_1 -ARs são expressos no músculo liso ureteral humano, embora os subtipos α_{1D} e α_{1A} tenham prevalecido sobre os α_{1B} (MORITA et al., 1994; SIGALA et al. 2004; ITOH et al. 2007; KOBAYASHI et al. 2009). Já na bexiga humana, a expressão pode ser diferente de acordo com o sexo. Sigala et al. (2004) estudaram a presença de ARs α_1 em locais da bexiga urinária humana envolvidos na micção, ou seja, músculo detrusor, o trigono vesical e o colo da bexiga tanto em homens quanto em mulheres. Observou-se que todos os

subtipos estavam presentes em todos os sítios nas mulheres, enquanto nos homens, no músculo detrusor havia principalmente α_{1A} , seguido de α_{1D} e nenhum α_{1B} , o que também foi observado por Malloy et al. (1998). Foi visto também por Széll et al. (2000) que os ARs $\alpha_{1B/D}$ pós-juncionais medeiam a contração do músculo liso. Além disso, Peroni et al. (2005) demonstrou que no colo da bexiga humana de homens e mulheres, assim como no trígono vesical, há predomínio do subtipo α_{1A} sobre os receptores α_{1D} e α_{1B} , respectivamente.

Já na uretra proximal humana, o RNAm de α_{1A} encontra-se mais presente e não há α_{1B} em homens e mulheres, enquanto o α_{1D} foi encontrado apenas no sexo feminino, sendo assim o α_{1A} é o mais provável responsável pela contração da uretra humana (NASU et al., 1998). Além disso, na porção epididimal do ducto deferente de ratos, o α_{1A} medeia as contrações induzidas pela noradrenalina (BURT et al., 1995). Similarmente, na próstata humana, os RNAm dos três subtipos são identificados e o α_{1A} também é o mais predominante em todos os tecidos e especificamente no estroma, enquanto o α_{1B} é predominante no epitélio (NASU et al., 1996; WALDEN et al., 1997; LEPOR et al., 1995).

Sendo assim, torna-se evidente que os α_1 -ARs medeiam a contração da base da bexiga, próstata e uretra prostática (GOSLING; CHILTON *apud* MALLOY et al., 1998), favorecendo o armazenamento da urina pela ativação simpática em sua base, e inibição parassimpática do corpo da bexiga.

Além disso, é visto que no Sistema Nervoso Central, os subtipos dos α_1 também são expressos, sendo a distribuição do RNAm α_{1D} menos evidenciada. Assim, são encontrados em vários locais, como no sistema olfatório de ratos, ainda em núcleos hipotalâmicos e regiões do tronco cerebral, medula espinal, glândula pineal, núcleos talâmicos, núcleo lateral da amígdala e núcleos da rafe, bulbo olfatório, córtex cerebral, hipocampo, núcleo reticular talâmico, regiões da amígdala, núcleos motores do tronco cerebral, complexo olivar inferior e medula espinal (DAY et al., 1997; PAPAY et al., 2006).

ANTAGONISTAS ADRENÉRGICOS

Sendo os receptores α_1 adrenérgicos de extrema importância para a regulação de diversas atividades biológicas, tanto no sistema cardiovascular, genitourinário, como também no sistema nervoso, vários fármacos os possuem

como alvo terapêutico. Desses fármacos, tem-se a prazosina, o primeiro antagonista α_1 utilizado clinicamente para tratamento da HAS (HAYES, 1974). Uma característica importante para um antagonista adrenérgico quando utilizado para hipertensão arterial é a sua seletividade pelos receptores α_1 , em que a prazosina se enquadra, embora a mesma não possua seletividade entre os seus subtipos (KENNY et al., 1995, PROUDMAN; PUPO; BAKER, 2020; SATO et al., 2012). Embora altamente seletivo para os α_1 -ARs, quando em concentrações mais altas (acima de 100 $\mu\text{mol/L}$), a prazosina também pode ativar os receptores α_2 (HO; HONNER; DOCHERTY, 1998 apud DOCHERTY, 2019).

Outro antagonista α_1 é a terazosina que possui um anel furano saturado (KYNCL, 1986), o que faz com que sua farmacocinética seja modificada e proporciona um efeito de longa duração. A terazosina tem um terço da seletividade para α_1 da prazosina, mas ainda é 100 vezes mais seletiva para α_1 do que para α_2 (FRISHMAN; EISEN; LAPSKER, 1998). Nessa mesma perspectiva, também existem outros congêneres da prazosina, como a doxazosina, que também apresenta efeito de longa duração e não é seletiva entre os subtipos (KENNY et al., 1995). De outro modo, antagonistas piperidínicos, como silodosina, 5-metilurapidil e RS 100329, são mais seletivos para α_{1A} . Enquanto, BMY7378 é mais seletivo para α_{1D} (KENNY et al., 1995; GOETZ et al., 1995).

Além do uso na hipertensão arterial, os antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos possuem um efeito benéfico no alívio dos sintomas da hiperplasia benigna de próstata (HBP), sendo considerados fármacos de primeira escolha para este tratamento (BELAYNEH; KOROWNYK, 2016; STEARNS; SANDHU, 2015; YUAN et al., 2013). Além disso, por um mecanismo independente de receptor α_1 adrenérgico, essas drogas atuam promovendo a apoptose nas células da musculatura lisa da próstata (KYPRIANOU, 2003).

Nos tecidos do trato geniturinário, a terazosina, doxazosina e alfuzosina possuem a mesma afinidade para subtipos, enquanto tamsulosina tem afinidade semelhante para subtipos α_{1A} e α_{1D} e menos afinidade para α_{1B} , enquanto silodosina tem maior afinidade para α_{1A} seguida por α_{1D} e α_{1B} (KENNY et al., 1996; TATEMACHI et al. Apud YAMADA; ITO, 2011).

Observa-se, ainda, que até mesmo antidepressivos tricíclicos amitriptilina, nortriptilina e imipramina também são potentes antagonistas α_{1A} e α_{1D} (NOJIMOTO, 2010), assim como anti-psicóticos, risperidona e o sertindol, apresentam ação

antagonista sobre os α_1 -adrenérgicos (NOURIAN et al. 2008).

Embora os antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos não sejam fármacos de primeira escolha para o tratamento da hipertensão arterial, os mesmos são eficazes em reduzir a pressão arterial de indivíduos hipertensos e são bem toleráveis. Além disso, pode-se observar que o envolvimento dos receptores α_1 na fisiopatologia da hipertensão e da HBP fornece um alvo comum para o tratamento farmacológico em pacientes que apresentam ambas as condições (STEERS; KIRBY, 2005), ressaltando que em aproximadamente 25% dos homens com mais de 60 anos, a HAS e a HBP aparecem de forma concomitante (BOYLE e NAPALKOV, 2005). Diante disso, percebe-se a grande importância clínica desta classe de fármacos.

PIRIMIDINONAS

Como citado acima, mesmo com os antagonistas existentes atualmente, vê-se a necessidade do estudo de novas moléculas que atuem sobre os receptores α_1 , visando uma maior seletividade, melhor perfil farmacocinético e/ou melhor tolerabilidade. Nesse contexto, existem vários estudos que relatam funções farmacológicas e biológicas de drogas contendo uma estrutura denominada de anel de pirimidinona, que são compostos heterocíclicos distribuídos de ampla forma na natureza, uma vez que estão presentes na estrutura dos ácidos nucleicos, os quais são essenciais para a vida, assim sendo previsíveis suas aplicações no âmbito da química farmacêutica (FALCÃO; MELO2012).

Tais moléculas na literatura são conhecidas por possuírem uma gama de atividades, dentre elas atividades antitumorais (BENNECHE,1993; FELCZAK, 1996; STRINGFELLOW, 1981), antiinflamatória (FALCÃO et al., 2006; RANISE et al., 1994), além de possuírem potencial anti-hipertensivo e vasodilatador coronariano seletivo (NIIYA, 1992).

Um estudo realizado por Andrade et al. 2016 utilizando pirimidinonas vasoativas foi possível perceber que tais moléculas foram capazes de reduzir a contração induzida pela fenilefrina em aortas torácicas de ratos, o que leva a supor que possuem uma atividade antagonista α_1 como a prazosina, terazosina e doxazosina, os quais são utilizados como fármacos anti-hipertensivos e no tratamento da HBP, e que também possuem o anel de pirimidinona em suas

estruturas, e são classificados como antagonistas adrenérgicos (HOFFMAN, 2001).

Sendo assim, as pirimidinonas possuem grande potencial farmacológico de agir sobre tais receptores, mediando ações biológicas, como anti-hipertensiva e anti-hiperplásica. Dessa forma, tais moléculas contendo o anel de pirimidinona podem servir como ferramentas farmacológicas e/ou para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento de condições como HAS e a HBP.

3 HIPÓTESE

Os novos compostos tiometil-pirimidinônicos possuem ação antagonista sobre os receptores α_1 -adrenérgicos de ratos e apresentam baixa citotoxicidade.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Caracterizar a ação farmacológica de compostos tiometil-pirimidinônicos (STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop) sobre receptores α_1 -adrenérgicos de ratos e verificar possíveis ações citotóxicas.

4.2 Específicos

- Avaliar os efeitos citotóxicos das moléculas;
- Avaliar o efeito das moléculas sobre a reatividade vascular de aorta de ratos;
- Caracterizar a ação da molécula em ducto deferente.

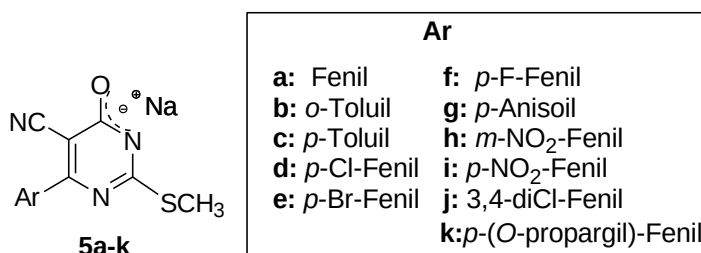
5 MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS

Os compostos foram fornecidos pelo Laboratório de Síntese Orgânica/Departamento de Química Fundamental/CCEN da Universidade Federal de Pernambuco, o qual é coordenado pela Profa. Dra. Janaina Versiani dos Anjos.

Como mencionado inicialmente, este estudo trata-se de um projeto que vem sendo desenvolvido desde 2011 sendo desenvolvidas várias séries de moléculas até o presente momento. A primeira classe de protótipos consistiu de tiometilpirimidinonas (série 5 a-k), que se mostrou bastante promissora, inibindo a contração induzida por fenilefrina na aorta isolada de ratos.

Figura 2. Sais sódicos de tiometil-pirimidinonas: Série 5 a-k.



Fonte: A Autora, 2022.

A fim de melhorar sua ação, várias modificações foram realizadas. A presença de átomos eletronegativos no anel aromático, por exemplo, mostrou ter influência na atividade das moléculas, visto que todos os compostos que contém halogênios no anel aromático reduziram significativamente a contração induzida por fenilefrina.

A tendência observada foi a de manter o padrão de substituição no anel aromático em C-6 do anel pirimidinônico com átomos eletronegativos macios, como cloro e bromo. Porém, não havia sido estudada a modificação em C-2, onde tem-se o grupo tiometil. Para avaliar a importância deste grupo, em outra etapa do trabalho, decidiu-se testar dois sais de tiopirimidinonas substituídas com os grupos cloro e metila, até o momento um bom e um médio candidato, respectivamente.

Foi observado então que a retirada da metila no grupo tiometil em C-2

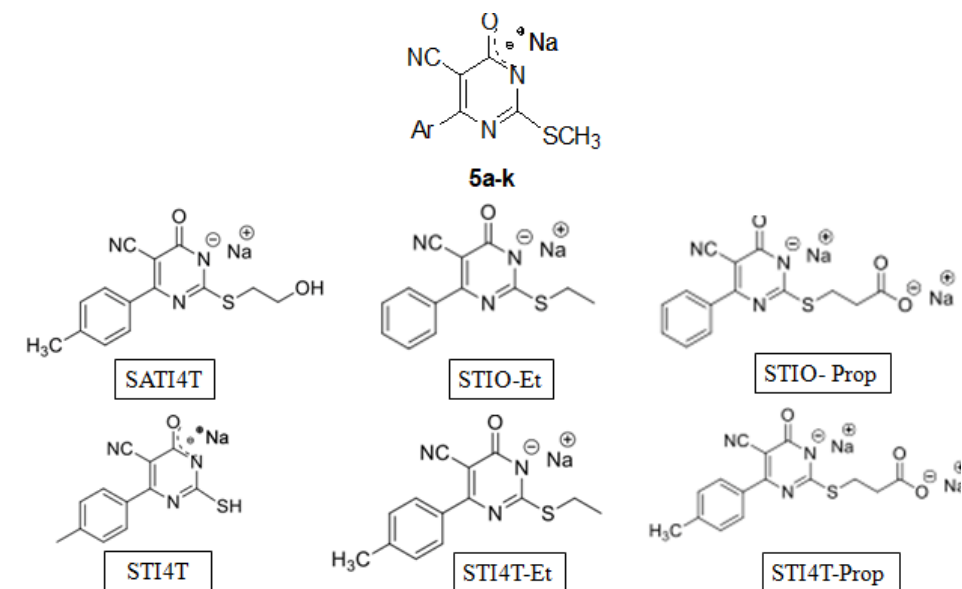
apresentou efeito significativo na manutenção da atividade, reduzindo de 76,50% de inibição para 11,64% para as pirimidinonas substituídas com o grupo toluil e reduzindo de 100% para 17,90% para as substâncias substituídas com o átomo de cloro. Pode ser observado ainda que o derivado halogenado é mais ativo que o derivado não halogenado, o que continuou indicando que o padrão de substituição com átomos de halogênio é importante para a manutenção da atividade, visto que a diferença em relação a primeira série de tiometilpirimidinonas e reside na ausência de um grupo metila (dados não publicados).

Para tentar entender melhor a influência do grupo substituinte em C-2 do anel da pirimidinona, foi sintetizada e testada uma série de 2-morfolino-pirimidinonas. Nesta série, o composto mais ativo foi a molécula 11j, substituída com dois átomos de cloro no anel aromático em C-6 do anel da pirimidinona (dados não publicados).. Foi vista também a possibilidade destes derivados pirimidínicos terem mecanismo de ação mista, podendo ter ação antagonista de receptores α_1 -adrenérgicos e ainda ação agonista de receptores do tipo α_2 , devido a sua similaridade estrutural com alguns agonistas já conhecidos, como a detomidina, medetomidina, dexmedetomidina e a clonidina (dados não publicados).

Assim, a série das tiometilpirimidinonas forneceu os melhores candidatos a fármacos e os melhores candidatos são aqueles substituídos com halogênios no anel aromático em C-6 e contendo grupos alquila substituídos no átomo de enxofre em C-2.

Tendo isso em vista, as moléculas estudadas nesta dissertação (figura 3) são derivadas da série tiometilpirimidionanas (Figura 2), com novas modificações pensadas a partir dos resultados citados anteriormente.

Figura 3. Compostos pirimidinônicos derivados da série 5 a-k.



Fonte: A Autora, 2022.

ANIMAIS

Foram utilizados ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus* var. albinus), com 2-3 meses de idade, pesando em torno de 250-320g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE e mantidos no Biotério do Centro Acadêmico da Vitória-UFPE. Estes animais receberam dieta padrão de biotério (Nuvilab®) e água *ad libitum*.

Todos os animais foram acondicionados em gaiolas apropriadas e mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclos claro/escuro, 12:12h) e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Os protocolos experimentais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco (protocolo nº 0072/2020).

ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* consiste no primeiro teste para avaliar a segurança do uso de qualquer material para fins biomédicos (International Standard Organization, ISO 10993). Sendo assim, análises sobre a viabilidade celular foram

realizadas para avaliar a função das células diante dos compostos em teste, detectável por produto de enzima específica que determina atividade vital: MTT.

O teste de MTT avalia a viabilidade celular por meio da enzima mitocondrial, a succinato desidrogenase. Trata-se de um teste colorimétrico, baseado no uso do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), o qual é reduzido apenas por mitocôndrias viáveis. A redução do MTT, de cor amarelada para o azul de formazana ocorre apenas em células viáveis, sendo sua densidade diretamente proporcional ao número de células presentes (Mosmann, 1983).

A fim de ter um controle mais rígido com relação ao uso de animais de laboratório, utilizamos cultura de células para avaliar se os compostos apresentam alguma toxicidade. Para isso, foram utilizadas as linhagens celulares A7r5 (músculo liso vascular de aorta torácica de embrião de rato) e HUVEC (células endoteliais provenientes da veia do cordão umbilical humano), oriundas do Banco de Células da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Tais linhagens celulares foram escolhidas para comparação dos efeitos nos estudos em artéria aorta de ratos.

As células foram cultivadas em garrafas plásticas para cultura de células (25cm² ou 75cm²), contendo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com soro fetal bovino 10%, penicilina 100 U/mL, estreptomicina 100 µg/mL, glutamina 2 mM; pH 7,4 à uma temperatura de 37 °C em atmosfera úmida (5% de CO₂), até a 15ª passagem, com uma taxa de repique de 1:4. O repique foi realizado a cada 4 ou 5 dias após as células atingirem 80% de confluência.

As células foram divididas em dois grupos, o controle negativo e o grupo teste. As células do controle negativo não receberam nenhuma aplicação de substâncias, mas estas passaram por todos os processos pelos quais os grupos experimentais passaram. Enquanto as células do grupo teste foram tratadas com 100 µmol/L dos compostos por 30min. Esta concentração e tempo de exposição foram escolhidos por terem sido utilizadas nos estudos de reatividade vascular em aorta de ratos.

Após as células atingirem a confluência estabelecida, foi realizada a depleção do soro fetal bovino (FBS 0% por 3-5h). Em seguida, foram incubados os compostos na concentração de 10⁻⁴ mol/L. Após 30 min de incubação com as moléculas teste, as células foram lavadas com PBS (1X) a 37 °C. As amostras foram incubadas na estufa por 3 horas a 37° C com o MTT (0.2 mL por poço, placa

de 96 poços). Transcorrido o tempo, a solução foi aspirada e o precipitado foi solubilizado com DMSO (100 μ L /poço). O volume de 100 μ L do poço da placa de 96 wells foi passado para uma nova placa de 96 poços (feito duplicata). O formazam solubilizado foi quantificado em leitor de ELISA (FlexStation 3 Multi-Mode Microplate Reader) com filtro de 550 nm. Os resultados foram expressos em absorbância de formazam por 1×10^6 células. Para este teste foi utilizado o Thiazolyl blue tetrazolium bromide MTT (Sigma-Aldrich M2128).

EXPERIMENTOS FUNCIONAIS

PREPARAÇÃO DA ARTÉRIA AORTA

A fim de verificar qual com composto apresentaria maior porcentagem de redução da contração induzida pela fenilefrina (agonista dos receptores α_1 -adrenérgicos), foi utilizada a artéria aorta de ratos.

Após serem anestesiados com isoflurano, os animais foram mortos por decapitação. A artéria aorta torácica foi isolada e foram removidos os tecidos conjuntivos e gordura. Em seguida, a artéria aorta foi cortada em anéis de 4 mm de comprimento e estes 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. 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 borbulhadas com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2), a 37°C. As respostas foram registradas em um sistema de aquisição (AVS).

Após montados, os anéis de aorta permaneceram numa tensão basal pré-estabelecida (1,5 g) durante uma hora, sendo lavadas a cada 15 minutos, para estabilização. Em seguida foi realizado o teste de viabilidade vascular, em que os anéis foram considerados viáveis quando contraíram ao menos 1 g após adição da Phe (0,1 $\mu\text{mol/L}$). Foram utilizados anéis sem o endotélio vascular, o qual foi removido mecanicamente, e a efetividade da remoção foi demonstrada pela ausência de relaxamento na presença da ACh (1 $\mu\text{mol/L}$) nos anéis pré-contraídos com a EC_{50} da fenilefrina (0,1 $\mu\text{mol/L}$).

EXPERIMENTOS EM AORTA

Foram construídas curvas concentração-efeito cumulativas para a fenilefrina (agonista dos receptores α_1 -adrenérgicos) na ausência e presença dos compostos (100 $\mu\text{mol/L}$) ou do antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos prazosina (100 $\mu\text{mol/L}$) utilizado como controle positivo, em anéis de artéria aorta sem endotélio.

A partir das curvas concentração-efeito obtidas, foram calculados o Efeito máximo (E_{max}) e o pEC_{50} , o qual corresponde ao logaritmo negativo da EC_{50} .

PREPARAÇÃO DO DUCTO DEFERENTE

Para a caracterização da atividade antagonista do composto sobre os receptores α_1 - adrenérgicos foi utilizado o ducto deferente por ser o modelo mais adequado para o estudo de receptores adrenérgicos, pois apresenta uma maior densidade de inervação simpática.

Após anestesiados com isoflurano, os animais foram mortos por decapitação. Os ductos deferentes (DD) foram identificados, isolados e dissecados dos tecidos conjuntivos. Em seguida foi isolada a sua porção epididimal, sendo esta fixada por meio das suas extremidades, sendo uma extremidade fixa à base da cuba e outra conectada a um transdutor de força para registro da tensão isométrica. Na cuba para órgãos isolados (10 mL) ficaram submersos solução de Tyrode modificada (em mM: NaCl 138,0; KCl 5,7; CaCl_2 1,8; NaHCO_3 15,0; NaH_2PO_4 0,36; e glicose 5,5). As porções epididimais dos DD foram mantidos à temperatura constante de 30°C, pH 7,4, borbulhadas com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2). Passaram por um período estabilização de 30 minutos na tensão de 0,5g, sendo esta tensão estabelecida após a realização de curvas de tensão, a fim de verificar qual melhor tensão basal a ser utilizada. Após a estabilização foram contraídos 3 a 4 vezes com noradrenalina (3 $\mu\text{mol/L}$) até a obtenção de contrações reproduzíveis. As respostas foram registradas em um sistema de aquisição (AVS Projetos, Brasil). Os experimentos foram realizados na presença de uma associação de inibidores contendo desipramina (0,1 $\mu\text{mol/L}$), corticosterona (10 $\mu\text{mol/L}$) e propanolol (0,1 $\mu\text{mol/L}$) com o objetivo de bloquear a captação neuronal e extraneuronal e antagonizar os adrenoreceptores β_2 , respectivamente.

PROTÓCOLOS PARA VERIFICAÇÃO DA AÇÃO DO COMPOSTO

Após o período de estabilização dos DD, foram realizados estímulos com noradrenalina (3 $\mu\text{mol/L}$) na presença e ausência do composto em concentrações crescentes (0,3; 1; 3; 10; 30; 100; 300 $\mu\text{mol/L}$) ou prazosina (0,001; 0,003; 0,01; 0,03; 0,1 0,3; 1; 3; 10; 10; 30 100; 300 nmol/L), que ficaram incubados por um período de 20 minutos em cada uma das concentrações juntamente com o coquetel de inibidores contendo desipramina (0,1 $\mu\text{mol/L}$), corticosterona (10 $\mu\text{mol/L}$) e propanolol (0,1 $\mu\text{mol/L}$).

A partir dos estímulos realizados com noradrenalina, foi calculado o pIC_{50} , que trata-se da potência antagonista em produzir 50% de inibição das contrações, e avaliado se, na presença do possível antagonista, houve redução da contração induzida pela noradrenalina, o que caracterizaria um antagonismo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de tensão isométrica obtidos nos experimentos no banho de órgãos foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M) de experimentos obtidos em diferentes animais.

As determinações da EC_{50} (concentração que produz 50% da resposta máxima), pEC_{50} (logaritmo negativo da concentração que produz 50% da resposta máxima), IC_{50} (concentração do antagonista que reduz em 50% o efeito máximo do agonista) e pIC_{50} (logaritmo negativo da concentração do antagonista que reduz em 50% o efeito máximo do agonista) foram realizadas utilizando-se o método de regressão não linear dos mínimos quadrados, utilizando-se o programa GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Corporation).

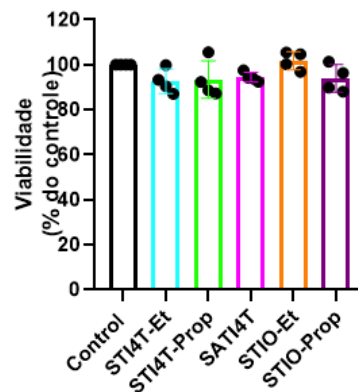
As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Corporation). A diferença entre os grupos foi verificada pelo ANOVA de uma via, seguida, quando necessário, pelo teste de Newman-Keuls. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre $< 5\%$.

6 RESULTADOS

ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

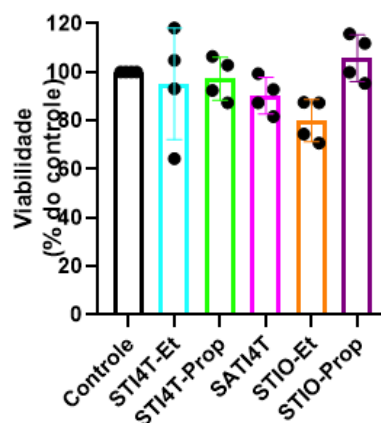
No ensaio de MTT, o percentual de viabilidade celular nas HUVECs variou entre 92,6 – 101,8% (figura 3). Já em células A7r5, foi observada uma variação na viabilidade celular entre 90,3 – 105,7 % (Figura 4). (Tabela 1)

Figura 4. Viabilidade celular (%) de HUVEC após 30 minutos de tratamento em ensaio de MTT com os compostos: STI 4T-Et, STI 4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$. As barras apresentam a média dos percentuais de células viáveis, n=4.



Fonte: A Autora, 2022.

Figura 5. Viabilidade celular (%) de células A7r5 após 30 minutos tratamento em ensaio de MTT com os compostos: STI 4T-Et, STI 4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$. As barras apresentam a média dos percentuais de células viáveis, n=4.



Fonte: A Autora, 2022.

Tabela 1- Percentual de viabilidade celular na presença de compostos tiometil-pirimidinônicos (100 µmol/L) nas linhagens celulares HUVEC e A7r5

Molécula	Porcentagem de viabilidade celular(%)	Porcentagem de viabilidade celular (%)
	HUVEC	A7r5
Controle	100 ± 0.00	100 ± 0.00
STI4T-ET	92.6 ± 2.71	105.38 ± 7.21
STI4T-Prop	93.4 ± 4.16	92.26 ± 4.40
SATI4T	94.4 ± 1.08	90.32 ± 3.78
STIO-ET	101.8 ± 2.01	80 ± 4.37
STIO-Prop	93.8 ± 3.06	105.7 ± 4.83

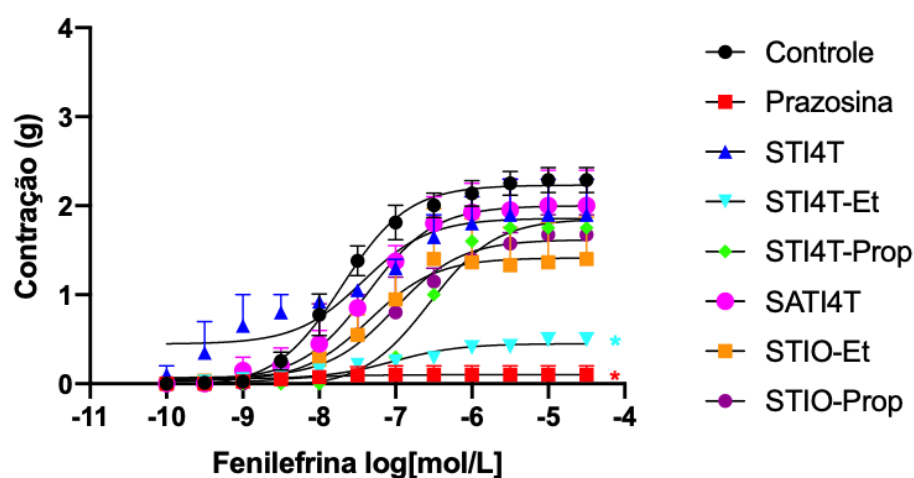
Fonte: A Autora, 2022.

EXPERIMENTOS FUNCIONAIS

EXPERIMENTOS EM ARTÉRIA AORTA

Finalizada a execução das curvas concentração-efeito cumulativas para fenilefrina, na ausência e presença dos compostos, em anéis de artéria aorta sem endotélio observou-se que o único composto capaz de reduzir o Emax da contração induzida pela fenilefrina foi o STI4T-Et, sendo essa redução equivalente a 78%, conforme ilustrado na figura 5 e tabela 2 (Controle: Emax=2,28 ± 0,14 g e pEC₅₀= 7,60± 0,21, n=8; + STI4T-Et: Emax= 0,50 ± 0,08 g e pEC₅₀= 6,86 ± 0,24, n=4, p <0,05.). Nenhum composto alterou o pEC₅₀ da fenilefrina.

Figura 6. Efeito dos compostos tiometil-pirimidinônicos sobre a contração induzida pela fenilefrina em aorta torácica de ratos. As curvas representam a resposta contrátil induzida pela fenilefrina na ausência e presença dos compostos STI4T, STI4T-Et, STI4T-Prop, SATI4T, STIO-Et, STIO-Prop ou prazosina na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$, em anéis sem endotélio. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média 2-5 n realizados em preparações de diferentes animais. * Diferença estatística em relação ao controle, ANOVA de uma via, seguida de Newman-Keuls, $p < 0,05$.



Fonte: A Autora, 2022.

Tabela 2- Contração induzida pela fenilefrina em aorta torácica de ratos na ausência ou na presença dos compostos tiometil-pirimidinônicos (100 $\mu\text{mol/L}$) ou do antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos (Prazosina, 100 $\mu\text{mol/L}$).

Molécula	Efeito máximo de contração induzido pela fenilefrina (g)	Porcentagem de inibição (%)
Controle	2.68 ± 0.17	-
prazosina	$0.00 \pm 0.00^*$	100.0
STI4T	2.6 ± 0.44	0
STI4T-ET	$0.5 \pm 0.08^*$	78
STI4T-Prop	1.75 ± 0.00	23
SATI4T	2.00 ± 0.40	13

STIO-ET	1.43 ± 0.49	37
STIO-Prop	1.67 ± 0.22	30

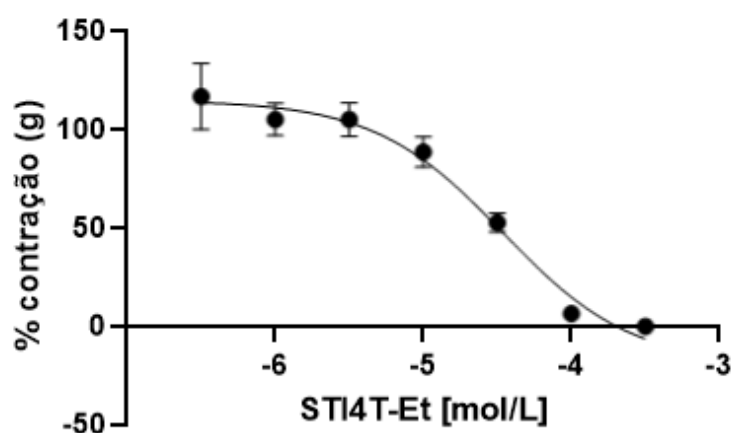
*diferença estatística em relação ao grupo controle (Phe, 0,1 $\mu\text{mol/L}$)

Fonte: A Autora, 2022.

EXPERIMENTOS EM DUCTO DEFERENTE

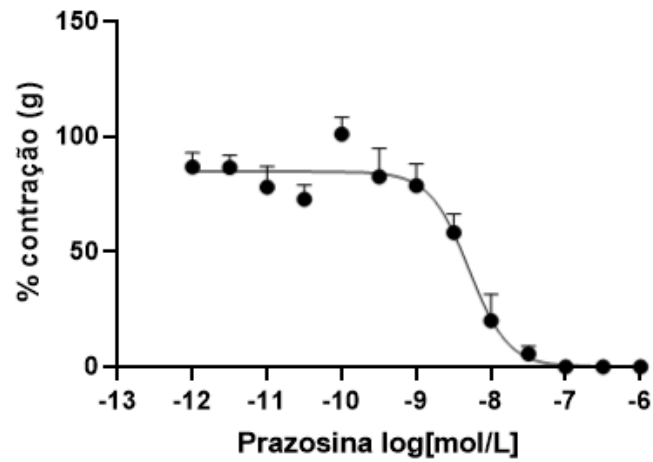
Em experimentos realizados em ductos deferentes, com estímulos de noradrenalina na presença de concentrações crescentes do STI4T-Et, observou-se que o composto induziu inibição da resposta à noradrenalina de forma dependente da concentração, abolindo a resposta contrátil à noradrenalina na concentração de 100 $\mu\text{mol/L}$ (figura 6) e com $\text{pIC}_{50} = 4.464 \pm 0.051$, $n=5$. A prazosina, controle positivo, também induziu este efeito de forma dependente da concentração, abolindo a resposta contrátil à noradrenalina na concentração de 100 nmol/L (figura 7) e com $\text{pIC}_{50} = 8.264 \pm 0.184$, $n=4$. Ainda, podemos verificar que o composto estudado apresenta uma menor potência que a prazosina (figura 8).

Figura 7. Efeito do STI4T-Et sobre a contração induzida pela noradrenalina em ducto deferente de ratos. O gráfico representa a resposta contrátil induzida pela noradrenalina na presença do STI4T-Et nas concentrações de 0,3; 1; 3; 10; 30; 100; 300 $\mu\text{mol/L}$. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de 5 n realizados em preparações de diferentes animais.



Fonte: A Autora, 2022.

Figura 8. Efeito da prazosina sobre a contração induzida pela noradrenalina em ducto deferente de ratos. O gráfico representa a resposta contrátil induzida pela noradrenalina na presença da Prazosina nas concentrações de 0,001; 0,003; 0,01; 0,03; 0,1 0,3; 1; 3; 10; 10; 30 100; 300 nmol/L. Os pontos representam média $\pm$ erro padrão da média de 4 experimentos realizados em preparações de diferentes animais.



Fonte: A Autora, 2022.

7 DISCUSSÃO

Os antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos são o tratamento de primeira linha para os sintomas do trato urinário inferior associados à hiperplasia benigna de próstata (CHESS-WILLIAMS, 2002). Além disso, são utilizados para a HAS, e, embora não sejam a primeira escolha para esta, são eficazes na redução da pressão arterial de indivíduos hipertensos e são bem toleráveis, embora induzam efeitos adversos, como tontura, dor de cabeça e astenia, além da hipotensão postural (principalmente com a prazosina devido à sua cinética desfavorável (KUBACKA et al., 2013).

A literatura traz que antagonistas do receptores α_1 -adrenérgicos estão associados a alguns efeitos citotóxicos, como o tratamento de camundongos com doxazosina aumenta apoptose em células próstaticas (YANG et al., 1997), bem como em células tumorais da próstata humana (FORBES et al., 2016). Além de outro estudo demonstrar ação citotóxica da doxazosina em cardiomiócitos (YANG et al., 2011). Assim, vê-se a necessidade de investigar a citotoxicidade de compostos candidatos à antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos.

A ISO (Organização Internacional para Padronização), que se trata de uma federação mundial de organismos de normalização nacionais, realiza a preparação de Normas Internacionais por meio de seus comitês técnicos. Em meio essa padronização, está a realização de testes de citotoxicidade, como ensaio de MTT (ISO 10993-5, 2009).

Os testes de citotoxicidade *in vitro* possuem uma ampla aplicabilidade, tendo seu uso na avaliação de diversos materiais. O ensaio de MTT, por exemplo, que consiste em verificar/medir a viabilidade celular por meio da sua atividade metabólica. O MTT amarelo (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio brometo) é reduzido enzimaticamente, em células viáveis, ao formazan azul-violeta. A quantidade de células viáveis está relacionada à intensidade da cor determinada por medidas fotométricas após o formazan ser dissolvido em álcool (ISO 10993-5, 2009)

O percentual de viabilidade celular tanto em HUVECs quanto em células A7r5 não foi inferior o 70%. Segundo a ISO, compostos que mantêm a viabilidade acima de 70% são considerados não citotóxicos, demonstrando que as moléculas

estudadas não possuem efeito citotóxico nas concentrações e nas linhagens celulares estudadas.

Das moléculas avaliadas na artéria aorta, a que apresentou melhor efeito foi a STI4T-Et, que teve a adição de dois carbonos ao anel de pirimidinona. Seu percentual de inibição da contração induzida pela fenilefrina em aorta de ratos foi de 78%. De forma distinta, Handzlik et al. (2008) verificou que compostos derivados arilpiperazinas alteraram a potência da fenilefrina em aorta de ratos, mas não o Emax.

Em estudo realizado por Van der Graaf et al., 1996, foi observado que sete antagonistas de α_1 -adrenoceptores em artéria aorta de ratos, tais quais tamsulosina, fentolamina, prazosina, WB-4101, 5-metilurapidil, espiperona e HV723, produziram inibição dependente da concentração das respostas contráteis da aorta à noradrenalina e à fenilefrina. Na concentração estudada em artéria aorta dos compostos (100 $\mu\text{mol/L}$), apenas a STI4T-Et reduziu de forma significativa o Emax da fenilefrina, assim é possível que em concentrações maiores, as demais moléculas possam inibir a contração induzida pela fenilefrina.

Em outro estudo realizado por Yamamoto e Koike (2001), observou-se que, em artéria de ratos, as repostas aos agonistas noradrenalina, adrenalina, fenilefrina e metoxamina foram antagonizadas de forma dependente da concentração pelos antagonistas BMY 7378, prazosina, 5-metilurapidil e WB 4101, o que sugere, mais uma vez, que o aumento das concentrações das outras moléculas avaliadas podem levar à inibição da contração induzida pela fenilefrina e, portanto, não pode ser descartada a possibilidade de serem antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos.

Tendo em vista os resultados da citotoxicidade e da reatividade em artéria aorta, o STI4T-Et foi escolhido para o prosseguimento do estudo.

Os receptores α_1 -adrenérgicos possuem um amplo interesse terapêutico, visto que participam de diferentes processos fisiológicos de extrema importância, como a contração do músculo liso, inotropismo e cronotropismo miocárdico e metabolismo hepático da glicose.

A fim de investigar mais a fundo o provável antagonismo do STI4T-Et sobre os receptores α_1 -adrenérgicos foram realizados estímulos com a noradrenalina na

presença de concentrações crescentes da molécula em ductos deferentes de ratos, uma vez que este tecido apresenta uma maior densidade de inervação simpática, para assim verificar qual concentração da molécula reduziria 50% do Emax da noradrenalina (pIC_{50}). Observou-se que na concentração de 300 $\mu\text{mol/L}$, a molécula aboliu a resposta do ducto deferente à noradrenalina, com $pIC_{50} = 4.464 \pm 0.051$.

Um estudo realizado por Lima et al. (2005) verificou o potencial antagonismo de um peptídeo isolado do gastrópode marinho *Conus tulipa*, conotoxina p-TIA, foi evidenciado que o mesmo antagonizou a contração induzida pela noradrenalina nas concentrações de 100, 300 nM e 1 μM em ducto deferente de ratos, com $pIC_{50} = 7.18 \pm 0.07$). Ainda neste trabalho, foram verificadas as pIC_{50} de outros antagonistas dos receptores alfa 1 adrenérgicos: prazosina ($pIC_{50} = 9.14 \pm 0.09$), BMY7378 ($pIC_{50} = 6.46 \pm 0.09$), e 5-metiluradipil ($pIC_{50} = 8.58 \pm 0.04$).

Em estudo que foram testadas as β -cloroetilaminas 1 (pIC_{50} : $\alpha_1A = 7.83 \pm 0.03$) e 2 (pIC_{50} : $\alpha_1A = 6.45 \pm 0.05$), sintetizadas por um grupo de pesquisa e estruturalmente relacionadas à fenoxibenzamina (antagonista alfa adrenérgico), mostraram que ambos os compostos mostraram antagonismo não superável dos três subtipos de receptores α_1 -adrenérgicos, dada a diminuição do Emax de concentração-efeito da noradrenalina. Tendo estas apresentando uma potência menor que outros antagonistas já conhecidos, como WB4101, 5MU, BMY7378, (+)-Cyclazosina, e RS17053 (BUCCIONI et al. 2009), assim como nosso composto apresentou uma potência menor em relação à prazosina.

Nesse sentido, Alsufyani e Docherty (2021) investigaram papéis relativos de α_1 -adrenoceptores em contrações para estimulação de baixa e alta frequência dos vasos deferentes de camundongos, e observaram a pIC_{50} das contrações, o RS100329 mostrou maior potência $pIC_{50} = 8.46$, com prazosina ligeiramente menos potente $= 8.05$ e BMY7378 com menos potência $= 6.58$, tal qual o STI4T-Et, que apresentou uma potência menor que a prazosina, 4.464 ± 0.051 .

Assim, verifica-se que o STI4T-Et é um provável antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos, e ainda vê-se que como outros estudos na literatura, o mesmo apresentou uma potência reduzida em relação a um antagonista já conhecido. Este composto também não foi citotóxico na concentração e nas linhagens celulares estudadas.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O STI4T-Et é um possível antagonista dos receptores α_1 -adrenérgicos e apresentou baixa toxicidade. Novos estudos podem ser realizados para caracterizar melhor esta atividade antagonista e excluir toxicidade.

Não se pode excluir a possibilidade de as outras moléculas também serem antagonistas dos receptores α_1 -adrenérgicos e, portanto, mais estudos podem ser realizados em concentrações mais altas das mesmas.

REFERÊNCIAS

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

<https://doi/pdf/10.1152/aiplegacy.1948.153.3.586>

ALSUFYANI, H.A; DOCHERTY, J.R. Roles for α_1 -adrenoceptors during contractions by electrical field stimulation in mouse vas deferens. **Korean J. Physiol. Pharmacol**, v. 25, n. 6, p. 525-532, 2021. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2021.25.6.525>

AVELLAR, M. C. W.; LÁZARI, M. F. M.; PORTO, C. S. Expression and function of G-protein-coupled receptors in the male reproductive tract. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 81, n. 3, p. 321–344, 2009.

ANDRADE, A. N. *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>.

BARTSCH, G. *et al.* Light microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. **Journal of Urology**, v. 122, n. 4, p. 487–491, 1979. [http://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)53216-4](http://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)53216-4)

BELAYNEH, M.; KOROWNYK, C. Treatment of lower urinary tract symptoms in benign prostatic hypertrophy with α -blockers. **Canadian Family Physician**, v. 62, n. 9, p. e523, 2016. [http://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)53216-4](http://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)53216-4)

BENNECHE, T. *et al.* Pyrimidinones as reversible Metaphase Arresting agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 28, p. 463-72, 1993. [https://doi.org/10.1016/0223-5234\(93\)90014-6](https://doi.org/10.1016/0223-5234(93)90014-6)

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

Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. **ISO 10993-5**. Third edition 2009-06-01.

BOER, C. *et al.* Alpha-1-adrenoceptor stimulation induces nitric oxide release in rat pulmonary arteries. **Journal of Vascular Research**, v. 36, n. 1, p. 79–81, 1999. <https://doi.org/10.1159/000025628>

BOYLE, P.; NAPALKOV, P. The epidemiology of benign prostatic hyperplasia and observations on concomitant hypertension. **Scandinavian Journal of Urology and nephrology**, v. 168, p. 7-12, 1995.

BUCCIONI, M. *et al.* Identification of α_1 -adrenoceptor subtypes involved in contraction of young CD rat epididymal vas deferens. **European Journal of**

Pharmacology, v. 602, p. 388-394, 2009.

BURT, R. P.; CHAPPLE, C. R.; MARSHALL, I. Evidence for a functional α 1A-(α 1C-) adrenoceptor mediating contraction of the rat epididymal vas deferens and an α 1B-adrenoceptor mediating contraction of the rat spleen. **British journal of pharmacology**, v. 115, n. 3, p. 467-475, 1995. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb16356.x>

BYLUND, D. B. Subtypes of alpha 1-and alpha 2-adrenergic receptors. The **FASEB journal**, v. 6, n. 3, p. 832-839, 1995. <https://doi.org/10.1096/fasebj.6.3.1346768>

CAINE, M.; RAZ, S.; ZEIGLER, M. Adrenergic and Cholinergic Receptors in the Human Prostate, Prostatic Capsule and Bladder Neck. **British Journal of Urology**, v. 47, n. 2, p. 193–202, 1975. [http://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)53216-4](http://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)53216-4)

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Advanced Organic Chemistry. Structure and Mechanisms.3 .ed. **Plenum Publishing Corporation**, 1990.

CHESS-WILLIAMS, R. The use of α -adrenoceptor antagonists in lower urinary tract disease. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 3, n. 2, p. 167-172, 2002. <http://dx.doi.org/10.1517/14656566.3.2.167>

COTECCHIA, S. The alpha1-adrenergic receptors: Diversity of signaling networks and regulation. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 30, p. 410–419, 2010. <https://dx.doi.org/10.3109%2F10799893.2010.518152>

DAY, H. E. W. et al. Distribution of α (1a)-, α (1b)- and α (1d)-adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 13, n. 2, p. 115–139, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0891-0618\(97\)00042-2](https://doi.org/10.1016/S0891-0618(97)00042-2)

DOCHERTY, J. R. The pharmacology of α 1 -adrenoceptor subtypes. **European Journal of Pharmacology**, v. 855, p. 305-320, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.04.047>

DU, L.; LI, M. Modeling the Interactions Between α 1-Adrenergic Receptors and Their Antagonists. **Current Computer Aided-Drug Design**, v. 6, n. 3, p. 165–178, 2010. <https://doi.org/10.2174/157340910791760082>

ESLER, M. The sympathetic system and hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 13, n. 6, p. 99–105, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(00\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(00)00225-9)

FABER, J.E., YANG, N., AND XIN, X. Expression of alpha-adrenoceptor subtypes by smooth muscle cells and adventitial fibroblasts in rat aorta and in cell culture. **Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**. Ther., v. 298, p.441–52, 2001.

FALCÃO, E.P. S.; MELO, S.J. Anel pirimidínico e sua importância na busca por

novos fármacos, uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**. v. 8 e 9, p. 85-106, 2011/2012.

FALCÃO, E.P.S. *et al.* Synthesis and antiinflammatory activity of 4-amino-2-aryl-5-cyano-6-{3- and 4-(Nphthalimidophenyl)} pyrimidines. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 41, p. 276-282, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.09.009>

FELCZAK, K. *et al.* 6-Substituted and 5,6-Dissubstituted derivatives of uridine: stereoselective, synthesis, interaction with uridine phosphorylase, and in vitro antitumor activity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 38, p. 1720-1728, 1996. <https://doi.org/10.1021/jm950675q>

FORBES, A. *et al.* Relative Cytotoxic Potencies and Cell Death Mechanisms of α_1 -Adrenoceptor Antagonists in Prostate Cancer Cell Lines. **The Prostate**, v. 76, p. 757-766, 2016.

FREDRIKSSON, R. *et al.* The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. **Molecular Pharmacology**, v. 63, n. 6, p. 1256-1272, 2003. <https://doi.org/10.1124/mol.63.6.1256>

FRISHMAN, W. H.; EISEN, G.; LAPSKER, J. Terazosin: A New Long-Acting α_1 -Adrenergic Antagonist for Hypertension. **Medical Clinics of North America**, v. 72, n. 2, p. 441-448, 1988. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)30778-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)30778-7)

GOETZ, A. S. *et al.* BMY 7378 is a selective antagonist of the D subtype of α_1 -adrenoceptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 272, n. 2-3, p. 5-6, 1995. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(94\)00751-R](https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)00751-R)

GÓMEZ-ZAMUDIO, J. *et al.* Evidence for the Use of Agonists to Characterize α_1 -Adrenoceptors in Isolated Arteries of the Rat. In **proceedings-western pharmacology society**, v. 45, p.159-160, 2002.

GOSLING, J.; CHILTON, C. The anatomy of the bladder, urethra, and pelvic floor. In: *Urodynamics: Principles, Practice, and Applications*. Edited by A. Mundy, T. Stephenson, and A. Wein. Churchill Livingstone: London, p. 3-13, 1984. *apud* MALLOY, *et al.* Alpha1-adrenergic receptor subtypes in human detrusor. **The Journal of urology**, v. 160, n. 3 Part 1, p. 937-943, 1998.

VAN DER GRAAF, P. H.; SHANKLEY, N.P.; BLACK, J. W.; Analysis of the activity of α_1 -adrenoceptor antagonists in rat aorta. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, p. 299-310, 1996.

HAYES, J. M.; GRAHAM, R. M.; O'CONNEL, B. P. Prazosin in Hypertension. **British Medical Journal**, v. 4, n. 5936, p. 108, 1974. <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5936.108-c>

HIEBLE, J. P.; RUFFOLO, R. R. Possible Structural and Functional Relationships between Imidazoline Receptors and α 2-Adrenoceptors. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 763, n. 1, p. 8–21, 1995. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1995.tb32387.x>

HIEBLE, J.P. Adrenoceptor subclassification: an approach to improved cardiovascular therapeutics. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v.74, p. 163–171, 2000.

HO, S.L.; HONNER, V.; DOCHERTY, J.R. Investigation of the subtypes of α 2-adrenoceptor mediating prejunctional inhibition in rat atrium and cerebral cortex. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 357, p. 634–639, 1998. *apud* DOCHERTY, J. R. The pharmacology of α 1 -adrenoceptor subtypes. **European Journal of Pharmacology**, v. 855, p. 305-320, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.04.047>

HOFFMAN, B. B. *et al.* In *Goodman & Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics*. .10 .ed., cap. 10, Nova York, EUA, 2001.

HANDZLIK, J. *et al.* Synthesis, α 1-adrenoceptor antagonist activity, and SAR study of novel arylpiperazine derivatives of phenytoin. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 11, p. 5982–5998, 2008.

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**, v. 270, n. 39, p. 23189-23195, 1995. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.39.23189>

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**. v. 270, n. 23, p. 189-195, 1995.

ITOH, Y. *et al.* Examination of α 1 adrenoceptor subtypes in the human ureter. **International Journal of Urology**, v. 14, n. 8, p. 749–753, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2007.01812.x>

JEKELL, A.; KALANI, M.; KAHAN, T. The effects of α 1-adrenoceptor blockade and angiotensin converting enzyme inhibition on central and brachial blood pressure and vascular reactivity: the doxazosin–ramipril study. **Heart and Vessels**, v. 32, n. 6, p. 674–684, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00380-016-0924-9>

JENSEN, B. C. *et al.* Functional α 1B adrenergic receptors on human epicardial coronary artery endothelial cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 382, n. 5–6, p. 475–482, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00210-010-0558-x>

KAMIKIHARA, S. Y. *et al.* Differential distribution of functional α 1-adrenergic receptor subtypes along the rat tail artery. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 314, n. 2, p. 753–761, 2005. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.087502>

KENNY, B. A. et al. Characterization of an α_{1D} -adrenoceptor mediating the contractile response of rat aorta to noradrenaline. **British Journal of Pharmacology**, v. 115, n. 6, p. 981–986, 1995. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb15907.x>

KENNY, B. A. et al. Evaluation of the pharmacological selectivity profile of α_1 adrenoceptor antagonists at prostatic α_1 adrenoceptors: Binding, functional and in vivo studies. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, n. 4, p. 871–878, 1996. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb15480.x>

KOBAYASHI, S. et al. Gene expressions and mechanical functions of α_1 -adrenoceptor subtypes in mouse ureter. **World Journal of Urology**, v. 27, n. 6, p. 775–780, 2009. <https://doi.org/10.1007/s00345-009-0396-y>

KOSHIMIZU, T. A. et al. Recent advances in α_1 -adrenoceptor pharmacology. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 98, n. 2, p. 235–244, 2003. [http://doi.org/10.1016/S0163-7258\(03\)00033-0](http://doi.org/10.1016/S0163-7258(03)00033-0)

KUBACKA, M. et al. The hypotensive activity and α_1 -adrenoceptor antagonistic properties of some aroxyalkyl derivatives of 2-methoxyphenylpiperazine. **European Journal of Pharmacology**, v. 698, n. 1–3, p. 335–344, 2013. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.10.025>

KYNCL, J. J. Pharmacology of terazosin. **The American Journal of Medicine**, v. 80, n. 5, s. 2, p. 12–19, 1986. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(86\)90846-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(86)90846-6)

KYPRIANOU, N. Doxazosin and terazosin suppress prostate growth by inducing apoptosis: Clinical significance. **Journal of Urology**, v. 169, n. 4, p. 1520–1525, 2003. <http://doi.org/10.1097/01.ju.0000033280.29453.72>

LANDS, A. et al. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. **Nature**, v. 214, n.5088, p. 597–598, 1967. <https://doi.org/10.1038/214597a0>

LANGER, S. Z. Presynaptic regulation of catecholamine release. **Biochemical Pharmacology**, v.23, n. 13, p. 1793–1800, 1974. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(74\)90187-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(74)90187-7)

LANGLEY-EVANS, S.C; JACKSON, A.A. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. **Clinical Science**, v. 86, n. 2, p. 217–222. <https://doi.org/10.1042/cs0860217>

LANGLEY-EVANS, S. C.; WELHAM, S. J. M.; JACKSON, A. A. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. **Life Sciences**, v. 64, n. 11, p. 965–974, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00022-3)

LEPOR, H. Alpha blockers for the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Reviews Urology**, v. 8, n. 4, p. 419–429, 1991.

LEPOR, H. et al. Laboratory assessment of terazosin and α_1 -blockade in

prostatic hyperplasia. **Urology**, v. 32, n. 6, p. 21–26, 1988.

LEPOR, H. et al. Localization of the alpha 1A-Adrenoceptor in the Human Prostate. **The Journal of Urology**, v. 154, n. 6, p. 2096–2099, 1995.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)66704-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)66704-1)

LIMA, V. et al. Differential antagonism by conotoxin U-TIA of contractions mediated by distinct $\alpha 1$ -adrenoceptor subtypes in rat vas deferens, spleen and aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 508, p. 183-192, 2005.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **Ciba Foundation Symposium**, v.156, p.38-50, 1991.

MALLOY, B. J. et al. $\alpha 1$ -Adrenergic receptor subtypes in human detrusor. **Journal of Urology**, v. 160, n. 3 I, p. 937–943, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)62836-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)62836-2)

MARONA, H. et al. Synthesis, α -adrenoceptors affinity and $\alpha 1$ - adrenoceptor antagonistic properties of some 1,4-substituted piperazine derivatives. **Pharmazie**, v. 66, n. 10, p. 733–739, 2011.

MARTI, D. et al. Correlation between mRNA levels and functional role of $\alpha 1$ -adrenoceptor subtypes in arteries: Evidence of $\alpha 1L$ as a functional isoform of the $\alpha 1A$ -adrenoceptor. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 289, n. 5 58-5, p. 1923–1932, 2005.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00288.2005>

MARTÍNEZ-SALAS, S. G. et al. $\alpha 1A$ -Adrenoceptors predominate in the control of blood pressure in mouse mesenteric vascular bed. **Autonomic and Autacoid Pharmacology**, v.27m n.3, p. 137-142, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1474-8673.2007.00403.x>

MARTÍNEZ-SALAS, S. G. et al. $\alpha 1D$ -Adrenoceptor regulates the vasopressor action of $\alpha 1A$ -adrenoceptor in mesenteric vascular bed of $\alpha 1D$ -adrenoceptor knockout mice. **Autonomic and Autacoid Pharmacology**, v. 31, n. 3–4, p. 64–71, 2011.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-8673.2011.00468.x>

MCMILLEN, I. C.; ADAM, C. L.; MÜHLHÄUSLER, B. S. Early origins of obesity: Programming the appetite regulatory system. **Journal of Physiology**, v. 565, n. 1, p. 9–17, 2005. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.081992>

MCMULLEN, S.; LANGLEY-EVANS, S. C. Maternal low-protein diet in rat pregnancy programs blood pressure through sex-specific mechanisms. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1 57-1, p. 85–90, 2005. <https://doi.org/10.1152/ajprequ.00435.2004>

MICHELOTTI, G. A.; PRICE, D. T.; SCHWINN, D. A. $\alpha 1$ -adrenergic receptor regulation: Basic science and clinical implications. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 88, n. 3, p. 281–309, 2000. <https://doi.org/10.1016/S0163->

[7258\(00\)00092-9](#)

MINNEMAN, K.P. Alpha 1-adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates, and sources of cell Ca^{2+} . **Pharmacological Reviews**, v. 40, p. 87-119, 1988.

MORITA, T. et al. Function and distribution of autonomic receptors in canine ureteral smooth muscle. **Neurourology and Urodynamics**, v. 13, n. 3, p. 315-321, 1994. [https://doi.org/10.1002/1520-6777\(1994\)13:3<315::AID-NAU1930130313>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1520-6777(1994)13:3<315::AID-NAU1930130313>3.0.CO;2-G)

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

NASU, K. et al. Quantification and distribution of $\alpha 1$ -adrenoceptor subtype mRNAs in human prostate: Comparison of benign hypertrophied tissue and non-hypertrophied tissue. **British Journal of Pharmacology**, v. 119, n. 5, p. 797-803, 1996. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb15742.x>

NASU, K. et al. Quantification and distribution of $\alpha 1$ -adrenoceptor subtype mRNAs in human proximal urethra. **British Journal of Pharmacology**, v. 123, n. 7, p. 1289-1293, 1998. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701731>

NIIYA, K. et al. 2-(N'-Alkylidenehydrazino) adenosines: Potent and Selective Coronary Vasodilators. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 4557-4561, 1992.

NOJIMOTO, F. D. et al. The tricyclic antidepressants amitriptyline, nortriptyline and imipramine are weak antagonists of human and rat α_{1B} -adrenoceptors. **Neuropharmacology**, v. 59, n. 1-2, p. 49-57, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.03.015>

NOURIAN, Z. et al. The antagonistic effect of antipsychotic drugs on a HEK293 cell line stably expressing human α_{1A} -adrenoceptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 596, n. 1-3, p. 32-40, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.08.014>

PAPAY, R. et al. Localization of the mouse $\alpha 1A$ -adrenergic receptor (AR) in the brain: $\alpha 1AAR$ is expressed in neurons, GABAergic interneurons, and NG2 oligodendrocyte progenitors. **Journal of Comparative Neurology**, v. 497, n. 2, p. 209-222, 2006. <https://doi.org/10.1002/cne.20992>

PERONI, A. et al. Distribuzione dei sottotipi recettoriali $\alpha 1$ nella vescica umana maschile e femminile. **Urologia**, v. 72, n. 1, p. 10-13, 2005.

PIASCIK, M. T.; KUSIAK, J. W.; BARRON, K. W. $\alpha 1$ -Adrenoceptor subtypes and the regulation of peripheral hemodynamics in the conscious rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 186, n. 2-3, p. 273-278, 1990. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(90\)90443-A](https://doi.org/10.1016/0014-2999(90)90443-A)

PIASCIK, M. T.; PEREZ, D. M. $\alpha 1$ -Adrenergic receptors: New insights and directions.

Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 298, n. 2, p. 403–410, 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**, v. 275, n. 3, p. 1583-1589, 1995.

GOLAN, D.E; TASHIJAN, A.H.J; ARMSTRONG, E.K; ARMSTRONG, A.W. **Princípios da Farmacologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. P. 10.

PROUDMAN, R. G. W.; PUPO, A. S.; BAKER, J. G. The affinity and selectivity of α -adrenoceptor antagonists, antidepressants, and antipsychotics for the human α_{1A} , α_{1B} , and α_{1D} -adrenoceptors. **Pharmacology Research and Perspectives**, v. 8, n. 4, p. 1–16, 2020. <https://doi.org/10.1002/prp2.602>

PUPO, A. S. et al. Recent updates on GPCR biased agonism. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 49–57, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.031>

RAMIREZ, M. T. et al. The MEKK-JNK pathway is stimulated by α_1 -adrenergic receptor and *ras* activation and is associated with in vitro and in vivo cardiac hypertrophy. **Journal of Biological Chemistry**. 272:14057–61, 1997.

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.

RINALDI, J. et al. Desnutrição protéica materna: Efeitos no desenvolvimento da próstata e doenças em adultos. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 9, n.4, p. 361-37, 2018. <https://doi.org/10.1017/S2040174418000168>

ROSS, M. G.; DESAI, M. Gestational programming: Population survival effects of drought and famine during pregnancy. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1 57-1, p. 25–33, 2005.

SALOMONSSON, M. et al. α_1 -adrenoceptor subtypes on rat afferent arterioles assessed by radioligand binding and RT-PCR. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 281, n. 1 50-1, p. 172–178, 2001. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2001.281.1.F172>

SALVI, S. S. α_1 -Adrenergic hypothesis for pulmonary hypertension. **Chest**, v. 115, n. 6, p. 1708–1719, 1999.
Sanbe, A., Tanaka, Y., Fujiwara, Y., Tsumura, H., Yamauchi, J., Cotecchia, S., Koike, K., Tsujimoto, G., and Tanoue, A. (2007). α_1 -adrenoceptors are required for normal male sexual function. *Br J Pharmacol* 152, 332-340.

SATO, S. et al. Tamsulosin potently and selectively antagonizes human recombinant $\alpha_{1A/1D}$ -adrenoceptors: Slow dissociation from the α_{1A} -adrenoceptor May account for

selectivity for α_{1A} -adrenoceptor over α_{1B} -adrenoceptor subtype. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, n. 1, p. 72–77, 2012. <https://doi.org/10.1248/bpb.35.72>

SCHWINN, D. A.; ROEHRBORN, C. G. α_1 -Adrenoceptor subtypes and lower urinary tract symptoms. **International Journal of Urology**, v. 15, n. 3, p. 193–199, 2008.

SHAPIRO, E. et al. The relative proportion of stromal and epithelial hyperplasia is related to the development of symptomatic benign prostate hyperplasia. **Journal of Urology**, v. 147, n. 5, p. 1293–1297, 1992. [http://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)37546-8](http://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)37546-8)

SIGALA, S. et al. Alpha 1 adrenoceptor subtypes in human urinary bladder: Sex and regional comparison. **Life Sciences**, v. 76, n. 4, p. 417–427, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.09.008>

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, s. 3, 2016. DOI: 10.5935/abc.20160151

STARKE, K. Comparison of the effects of clonidine on pre-and postsynaptic adrenoceptors in the rabbit pulmonary artery. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 285, n. 2, p. 133-150, 1974.

STEARNS, G. L.; SANDHU, J. S. The Impact of Medical and Surgical Treatment for Benign Prostatic Hypertrophy on Erectile Function. **Current Urology Reports**, v. 16, n. 11, p. 10–14, 2015. <http://doi.org/10.1007/s11934-015-0549-z>

STEERS, W. D.; KIRBY, R. S. Clinical ease of using doxazosin in BPH patients with and without hypertension. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 8, n. 2, p. 152–157, 2005. <http://doi.org/10.1038/sj.pcan.4500787>

STRINGFELLOW, D.A. Antineoplastic properties of pyrimidinone interferon inducers. **Advances in Enzyme Regulation**. v. 19, p. 335-348, 1981.

SZÉLL, E. A. et al. Smooth muscle and parasympathetic nerve terminals in the rat urinary bladder have different subtypes of α_1 adrenoceptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 130, n. 7, p. 1685–1691, 2000. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703475>

TATEMACHI, S. et al. α_1 -adrenoceptor subtype selectivity and organ specificity of silodosin (KMD-3213). **Yakugaku Zasshi**, v. 126, p. 209–216, 2006. *apud* YAMADA, S.; ITO, Y. α_1 -Adrenoceptors in the Urinary Tract. *apud* ANDERSSON, K.E.; MICHEL, M. C. **Urinary Tract**. Springer Science & Business Media, p. 283-306, 2011. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-16499-6>

TESTA, R. et al. Characterization of α_1 -adrenoceptor subtypes in prostate and prostatic urethra of rat, rabbit, dog and man. **European Journal of Pharmacology**, v. 249, n. 3, p. 307–315, 1993. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(93\)90527-O](https://doi.org/10.1016/0014-2999(93)90527-O)

TORRENS, C. et al. Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular dysfunction induced by protein restriction. **Hypertension**, v. 47, n. 5, p. 982–987, 2006.

TROPIA, F. C. et al. Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 4, n. 2, p. 99–107, 2001. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2001.11747354>

WALDEN, P. D. et al. Localization of mRNA and receptor binding sites for the $\alpha(1a)$ -adrenoceptor subtype in the rat, monkey and human urinary bladder and prostate. **Journal of Urology**, v. 157, n. 3, p. 1032–1038, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)65136-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)65136-X)

YAMAMOTO, Y.; KATSUO, K. Characterization of α_1 -adrenoceptor-mediated contraction in the mouse thoracic aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 424, p. 131-140, 2001.

YANG, G. et al. Transforming growth factor-1 induced prostate reconstitutions: induction of prostate apoptosis by doxazosin. **Prostate**, v., p. 157–163, 1997.

YANG, Y. et al. Prazosin induces p53-mediated autophagic cell death in H9C2 cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, v. 384, p. 209–216, 2011. DOI: 10.1007/s00210-011-0657-3

ZHOU, L.; VARGAS, H. M. Vascular α_1D -adrenoceptors have a role in the pressor response to phenylephrine in the pithed rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 305, n. 1–3, p. 173–176, 1996. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(96\)00229-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(96)00229-4)

ANEXO A



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de BioCiências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8842
cbcs@ufpe.br

Recife, 02 de março de 2021

Ofício nº 79/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Alice Valença Araújo**
Centro Acadêmico de Vitória (CAV)
processo nº **0072/2020**

Certificamos que a proposta intitulada **"Avaliação da atividade antagonista de compostos contendo o anel de pirimidinona sobre os receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos e a influência da restrição proteica em suas respostas** Centro", registrado com o nº **0072/2020** sob a responsabilidade da **Prof. 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 23/02/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/03/2021 a 20/03/2024
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogêneo /Camundongos heterogêneo
Nº de animais	126
Peso/idade	200-300g (Ratos heterogêneo) 35-45g/ (Camundongos heterogêneo) 3-2 meses
Sexo	Macho (92) e Fêmea (34)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia – Recife - UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Centro Acadêmico de Vitória (CAV).

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
-Presidente CEUA/UFPE
SUAPE 2345691