

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS (CIPHARMA)

**ATIVIDADE CARDIOVASCULAR *IN VIVO* DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *LYCHNOPHORA TRICHOCARPHA* SPRENG**

DANIELLE CRISTIANE CORREA DE PAULA

Ouro Preto – MG – Brasil
2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS (CIPHARMA)**

**ATIVIDADE CARDIOVASCULAR *IN VIVO* DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *LYCHNOPHORA TRICHOCARPHA* SPRENG**

DANIELLE CRISTIANE CORREA DE PAULA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Química e Farmacologia de Substâncias Bioativas

**Orientadora: Profa Dr^a Andrea Grabe Guimarães
Co-orientadora: Profa Dr^a Dênia Antunes Saúde Guimarães**

**Ouro Preto – MG - Brasil
Janeiro de 2012**

DEDICO ESTE TRABALHO

A Deus, que sempre esteve na frente de todo esse trabalho.

Aos meus pais Wilson e Vera Lúcia, pelo amor incondicional, incentivo e cuidado com minha educação.

Às minhas irmãs, Ana e Paola, meus exemplos de esforço e determinação.

Aos meus tios e primos, pelo conforto e amor.

Ao Maurício, pela cumplicidade e companheirismo.

Muito obrigada. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu força e me guiou em todos os momentos.

À minha orientadora, Profa. Andrea Grabe Guimarães, pela oportunidade de sua orientação, paciência e principalmente confiança no meu trabalho. Pelo bom exemplo de seriedade e competência.

À co-orientadora, Profa. Dênia Saúde Antunes Guimarães, pela orientação e participação imprescindível no trabalho.

Ao professor Homero Nogueira Guimarães e ao Adriano pelo desenvolvimento e manutenção do sistema de aquisição de dados, viabilizando os experimentos.

Aos professores do Laboratório de Farmacologia Experimental, Carla Penido, Neila Barcellos e Romulo Leite pela disposição em ajudar.

Aos colaboradores Profa. Cláudia Carneiro, equipe do LAPAC, Roney, Cássio e Adão, pela disponibilização de equipamentos e esclarecimentos durante este trabalho.

Aos membros da banca, Profa. Elaine Amaral Leite e Profa. Neila Barcellos, pela disponibilidade em contribuir com este trabalho.

À Bruna, pelos diversos momentos de alegria e pela partilha nos momentos de angústia.

À minha irmã de mestrado, Mariana, que tornou os momentos mais divertido e menos árduo.

Ao Wilson pela dedicação e cuidado no manejo dos animais.

Aos alunos do Laboratório de Farmacologia Experimental, pelo auxílio precioso nos experimentos e na análise dos dados, Luan e Rubens, e principalmente pela amizade, em especial Alessandra, Eduardo e Kamila. E aos demais pelo bom ambiente de trabalho: Ana Carolina, Carolina, Cíntia, Gisele, Hebert, Isabela, Juliana, Liviane, Wallace. E aos amigos que passaram pelo laboratório e acompanharam desde a iniciação científica: Gustavo, Kelly, Kemile, Luciana, Miguel, Nívea, Priscila e Tâmara.

Às colegas de mestrado pela ótima convivência: Ana Paula, Juliana e Leidiane.

Às amigas da República Carpe Diem que mesmo longe estiveram presentes.

A todas as instituições que possibilitaram a conclusão deste trabalho.

“A mente avança até o ponto onde pode chegar,
mas depois passa para uma dimensão superior,
sem saber como lá chegou.
Todas as grandes descobertas realizaram esse salto”.

Albert Einstein

RESUMO

As *Lychnophoras*, plantas nativas do Brasil, pertencem à família Asteraceae e são largamente utilizadas pela população como analgésicos e anti-inflamatórios, sob a forma de extratos. O presente trabalho teve por objetivo principal a investigação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* do extrato etanólico bruto da espécie *Lychnophora trichocarpha* Spreng. O extrato de *L. trichocarpha* foi preparado com as partes aéreas da planta, administrado por via oral em dose única de 1,5 g/kg e avaliado até 5 horas após sua administração. Os animais foram anestesiados com tiopental sódico e foram avaliados a pressão arterial (PA) e o eletrocardiograma na derivação DII (ECG DII). O extrato aumentou de maneira significativa os valores da PA, sendo os aumentos máximos observados na PAS de 29 % e na PAD de 36 % 3,5 horas após sua administração. Considerando que o extrato induziu aumento da PA até 5 horas após sua administração, foi realizado tratamento agudo I.V. com fármacos anti-hipertensivos de diferentes mecanismos de ação (atenolol, captopril e prazosina) em grupos distintos, a fim de caracterizar o mecanismo de ação *in vivo* do extrato sobre a PA. As reduções máximas da pressão foram observadas após administração de prazosina, sendo 32 e 38 % para PAS e PAD, respectivamente. Para a obtenção e caracterização de um potencial modelo de doença cardiovascular, foi utilizado a inibição da síntese de óxido nítrico (NO). Para isso, os animais foram tratados com *L-NAME* 60mg/kg por 7 dias e mantidos por 6 meses. Ao final de 6 meses após o final do tratamento, os animais foram então anestesiados com quetamina/xilazina e foram avaliados a PA, ECG (DII), pressão no ventrículo esquerdo (PVE), análise hematológica e bioquímica de creatinina e ureia e histologia cardíaca dos animais tratados previamente e do grupo sem tratamento. Na análise do ECG, intervalos PR, QT e QTc estavam reduzidos no grupo que recebeu o tratamento prévio. O dado mais relevante foi obtido na análise histológica cardíaca, em que os animais tratados com *L-NAME* apresentaram número de núcleos celulares reduzido, acompanhado de aumento da deposição de colágeno. A lactona sesquiterpênica eremantolida C, isolada do extrato etanólico de *L. trichocarpha*, também foi avaliada quanto à ação cardiovascular na dose de 10 mg/kg por via I.V. e aumentou a PAS, PAD e PVE_{máx} (27 %) até 4 minutos, diferente da digitoxina 0,3 mg/kg que manteve o aumento desses níveis de 1 a 2 horas após sua administração I.V. Na avaliação da potencial atividade cardioprotetora da eremantolida C os animais

anestesiados receberam estimulação simpática com NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração da eremantolida C 10 mg/kg. Foram avaliados a PA, FC, intervalo QT e QTc. Os resultados mostraram que apesar de não ser observado diferença significativa após a administração da eremantolida C as alterações causadas pela NA foram mais discretas. Assim, pode-se concluir que o extrato de *L. trichocarpa* por via oral apresenta toxicidade cardíaca que parece ocorrer com a contribuição do sistema nervoso simpático periférico em nível vascular; que o modelo de inibição da síntese do NO utilizado se mostrou com poucas alterações e que para a eremantolida C a atividade cardiovascular é discreta.

ABSTRACT

The *Lychnophora*, native plants from Brazil, belonging to the Asteraceae family and are widely used by the population as analgesics and anti-inflammatory, as extracts. This study was aimed to investigate the *in vivo* cardiovascular effects of crude ethanolic extract of the species *Lychnophora trichocarpha* Spreng. The extract of *L.trichocarpha* was prepared with the aerial parts of the plant, administered orally as a single dose of 1.5 g/kg and evaluated up to 5 hours after administration. The animals were anesthetized with pentobarbital sodium and were evaluated arterial pressure (AP) and electrocardiogram (DII ECG). The extract significantly increased AP and the maximum response observed was 29 % for SBP and 36 % for DBP at 3.5 hours after extract administration. Thus, I.V. acute treatment with antihypertensive agents of different mechanisms of action (atenolol, captopril and prazosin) was used in order to characterize the *in vivo* mechanism of action of the extract on AP. The maximum pressure reductions were observed after prazosin administration, 32 and 38 % for SBP and DBP, respectively. In order to validate and to characterize a potential cardiovascular disease model by inhibiting nitric oxide (NO), animals were treated with *L-NAME* 60mg/kg for 7 days and were under observation for six months. After this time, it was evaluated AP, ECG (DII), left ventricular pressure (LVP), hematological and biochemical analysis of urea and creatinine and cardiac histology of anesthetized animals. The PR, QT and QTc intervals of ECG were reduced in animals treated with *L-NAME*. Both groups, control and treated with the NO synthesis inhibitor, showed the values of hematocrit and platelets reduced. The most relevant observation occurred on cardiac histological analysis: animals treated with *L-NAME* had reduced number of cell nucleus, and additionally collagen deposition was increased in this group. The eremantolida C sesquiterpene lactone isolated from the ethanolic extract of *L. trichocarpha* at a dose of 10 mg/kg increased the SAP, DAP and PVE_{max} up to 4 minutes administration, unlike digitoxin 0.3 mg/kg which maintained the increased levels of 1 to 2 hours after administration I.V. The evaluation the potential cardioprotective activity of eremantolida C in anesthetized animals showed that eremantolida C 10 mg/kg was able to make the sympathetic stimulation with NA 1, 3 and 10 µg/kg more discreet, in AP, HR, QT and QTc, although there was not significant difference. Thus, it can be concluded that the oral administration of single dose of *L. trichocarpha* extract can be cardiotoxic, due to hyperactivity of the sympathetic nervous system at the peripheral vascular level; that the NO inhibition induce alterations are very weak after 6 months and that the cardiovascular effects of eremantolida C are not yet clear.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da Eremantolída C.....	7
Figura 2: Fotografias de <i>L. trichocarpha</i> : aspecto geral da planta e flores.....	11
Figura 3: Exemplo dos sinais obtidos em um experimento.....	14
Figura 4: Indicação dos parâmetros obtidos a partir dos sinais de: ECG na derivação DII (A), PA (B) e PVE (C).....	15
Figura 5: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da atividade cardiovascular do extrato etanólico de <i>L. trichocarpha</i>	16
Figura 6: Representação esquemática do protocolo experimental para caracterização mecanismo de alteração da PA provocado pelo extrato etanólico bruto de <i>L. trichocarpha</i>	17
Figura 7: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar a atividade cardiovascular da eremantolida C.	17
Figura 8: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar a potencial atividade cardioprotetora da eremantolida C.	18
Figura 9: Valores absolutos de PAS, PAD e FC 1 a 5 horas após a administração oral do extrato etanólico de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg ou veículo.....	22
Figura 10: Valores absolutos do intervalos do ECG: PR, QRS, QT e QTc de 1 a 5 horas após a administração oral do extrato etanólico de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg ou veículo.....	23
Figura 11: Valores absolutos de PAS de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina.....	25
Figura 12: Valores absolutos de PAD de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina.....	26
Figura 13: Valores absolutos de FC animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina	27
Figura 14: Valores absolutos do intervalo PR do ECG de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina.	27
Figura 15: Valores absolutos do intervalo QRS do ECG de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina	28
Figura 16: Valores absolutos do intervalo QT do ECG de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina	29

Figura 17: Valores absolutos do intervaloQTc do ECG de animais tratados previamente com extrato de <i>L. trichocarpa</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol, captopril ou prazosina.	30
Figura 18: Valores absolutos de PAS, PAD, FC e DP do grupo controle e do grupo tratado previamente com <i>L-NAME</i>	31
Figura 19: Valores absolutos de PVE máx e PDVDF do grupo controle e do grupo tratado com <i>L-NAME</i>	32
Figura 20: Valores absolutos do intervalo PR, QT e QTc e complexo QRS do grupo controle e do grupo tratado com <i>L-NAME</i>	33
Figura 21: Valor absoluto do peso corporal, peso cardíaco úmido, e da relação entre o peso cardíaco e corporal do grupo controle e do grupo tratado com <i>L-NAME</i>	33
Figura 22: Número médio de núcleos celulares dos grupos controles e dos grupos tratados com <i>L-NAME</i>	36
Figura 23: Valor médio da área de colágeno dos grupos controles e dos grupos tratados com <i>L-NAME</i>	37
Figura 24: Fotomicrografia de cortes histológicos do ventrículo esquerdo pertencentes ao grupo controle (A e C) e tratados previamente com <i>L-NAME</i> (B e D).....	38
Figura 25: Variação percentual da PAS de animais sem tratamento prévio e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	38
Figura 26: Variação percentual da PAD de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	42
Figura 27: Variação percentual da FC de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	43
Figura 28: Variação percentual da PVE máx de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	44
Figura 29: Variação percentual da PVEDF de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	45
Figura 30: Variação percentual do DP de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	46
Figura 31: Variação percentual do intervalo PR de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	47
Figura 32: Variação percentual do complexo QRS de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	48

Figura 33: Variação percentual do intervalo QT de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	49
Figura 34: Variação percentual do intervalo QTc de animais sem tratamento e de animais tratados com <i>L-NAME</i>	50
Figura 35: Valores absolutos de PAS, PAD e FC do grupo controle após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg.....	51
Figura 36: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do grupo controle após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg.....	54
Figura 37: Valores absolutos de PAS, PAD e FC do grupo tratado com <i>L-NAME</i> após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg.....	54
Figura 38: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do grupo tratado com <i>L-NAME</i> após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg.....	55

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Parâmetros hematológicos obtidos nos grupos controle e tratados com <i>L-NAME</i>	34
Tabela II: Parâmetros bioquímicos obtidos nos grupos controle e tratados com <i>L-NAME</i>	35
Tabela III: Média dos valores absolutos de PAS, PAD e FC de 1 a 5 horas após administração oral do veículo ou extrato etanólico <i>L.trichocarpha</i>	76
Tabela IV: Valores absolutos de PR, QRS, QT e QTc de 1 a 5 horas após administração oral do veículo ou extrato etanólico <i>L.trichocarpha</i>	77
Tabela V: Valores absolutos da PAS, PAD e FC de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	78
Tabela VI: Valores absolutos do intervalo PR e complexo QRS do ECG de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	79
Tabela VII: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do ECG de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	80
Tabela VIII: Variações percentuais da PAS, PAD e FC de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	81
Tabela IX: Variações percentuais do intervalo PR e complexo QRS do ECG de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	82
Tabela X: Variações percentuais dos intervalo QT e QTc, de animais tratados com extrato de <i>L.trichocarpha</i> 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina	83
Tabela XI: Valores absolutos de PAS de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	84
Tabela XII: Valores absolutos de PAD de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	85
Tabela XIII: Valores absolutos de FC de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	86
Tabela XIV: Valores absolutos de PVE _{máx} de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	87
Tabela XV: Valores absolutos de PVEDP de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	88
Tabela XVI: Valores absolutos de DP de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	89

Tabela XVII: Valores absolutos do intervalo PR do ECG de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	90
Tabela XVIII: Valores absolutos do complexo QRS do ECG de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina ..	91
Tabela XIX: Valores absolutos do complexo QT do ECG de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	92
Tabela XX: Valores absolutos do complexo QTc do ECG de animais controle e tratados previamente com <i>L-NAME</i> antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina	93
Tabela XXI: Média dos valores absolutos dos parâmetros cardiovasculares do grupo controle	94
Tabela XXII: Média dos valores absolutos dos parâmetros cardiovasculares do grupo <i>L-NAME</i>	95
Tabela XXIII: Média das variações percentuais dos parâmetros cardiovasculares do grupo controle	96
Tabela XXIV: Média das variações percentuais dos parâmetros cardiovasculares do grupo <i>L-NAME</i>	96

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Duplo produto
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECG	Eletrocardiograma
FC	Frequência cardíaca
HA	Hipertensão arterial
IC	Insuficiência cardíaca
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
IP	Intraperitoneal
IV	Intravenosa
L-NAME	Metil éster N ^w -nitro-L-arginina
OMS	Organização Mundial de Saúde
NA	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PE	Polietileno
PVE _{máx}	Pressão sistólica no ventrículo esquerdo
PVE	Pressão no ventrículo esquerdo
PVEDF	Pressão diastólica final no ventrículo esquerdo
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SUS	Sistema Único de Saúde
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	01
2-OBJETIVOS	04
2.1-Objetivo geral	04
2.2- Objetivos específicos	04
3-REVISÃO DA LITERATURA	05
3.1- Produtos naturais	05
3.2- O gênero <i>Lychnophora</i>	06
3.3- Lactonas sesquiterpênicas e eremantolida C	06
3.4- Óxido nítrico e sistema cardiovascular	08
4-MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1- Material Vegetal	11
4.1.2- Coleta, secagem e moagem	11
4.2- Preparo do extrato etanólico de <i>L. trichocarpha</i>	11
4.3- Isolamento do composto eremantolida C	12
4.4- Preparo das soluções	12
4.5- Animais experimentais	12
4.6- Procedimentos cirúrgicos, obtenção e análise dos sinais cardiovasculares	13
4.7- Protocolos experimentais	16
4.8- Inibição <i>in vivo</i> da síntese de óxido nítrico	18
4.8.1- Avaliação Hematológica	18
4.8.2- Avaliação Bioquímica	18
4.8.3- Avaliação Histopatológica	19
4.9- Análise estatística	20
5- RESULTADOS	21
5.1- Avaliação dos efeitos <i>in vivo</i> do extrato etanólico bruto de <i>L. trichocarpha</i>	21
5.2- Caracterização do possível mecanismo de ação <i>in vivo</i> sobre a pressão arterial do extrato etanólico bruto de <i>L. trichocarpha</i>	24
5.3- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese de óxido nítrico	32

5.3.1- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese de óxido nítrico quanto a parâmetros hemodinâmicos e do ECG	32
5.3.2- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese de óxido nítrico quanto a parâmetros hematológicos e bioquímicos	34
5.3.3- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese de óxido nítrico quanto a peso cardíaco	35
5.3.4- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese de óxido nítrico quanto a parâmetros histológicos	36
5.4- Avaliação dos efeitos cardiovasculares <i>in vivo</i> em animais controle e submetidos previamente à inibição da síntese de óxido nítrico	39
5.4.1- Avaliação dos efeitos cardiovasculares <i>in vivo</i> da eremantolida C em animais controle e submetidos previamente à inibição da síntese de óxido nítrico por hiperatividade simpática	51
6- DISCUSSÃO	55
6.1- Avaliação dos efeitos <i>in vivo</i> do extrato etanólico bruto da espécie <i>Lychnophora trichocarpha</i> e caracterização do mecanismo de ação sobre a pressão arterial	55
6.2- Caracterização dos efeitos <i>in vivo</i> de inibição da síntese do óxido nítrico	57
6.3- Avaliação dos efeitos cardiovasculares <i>in vivo</i> da eremantolida C em animais normotensos e submetidos previamente à inibição da síntese do óxido nítrico	61
7- CONCLUSÕES	65
8- REFERÊNCIAS	66
9- ANEXOS	77

1-INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004) as doenças cardiovasculares são responsáveis por cerca de 17 milhões de óbitos em todo o mundo, sendo os países em desenvolvimento os mais afetados. Dentre os mais importantes fatores de risco para as causas das doenças cardiovasculares destacam-se alimentação inadequada, sedentarismo e tabagismo, além de outros determinantes como a pobreza e o estresse (OMS, 2004).

No Brasil, em 2005, as doenças cardiovasculares representaram 32% das causas de óbito (OMS, 2007). Em 2009, estudo do Ministério da Saúde apontou queda de 20,5% nas mortes por doenças cardiovasculares no período de 1990 a 2006, principalmente aquelas causadas por eventos cerebrovasculares. O estudo afirma ainda que essa redução se deve ao maior nível de instrução da população, assim como políticas de prevenção à saúde, como promoção de alimentação saudável e o estímulo à atividade física. Apesar da melhoria, se medidas adequadas não forem adotadas, a OMS estima que em 2030 as doenças cardiovasculares levem a óbito quase 23,6 milhões de pessoas em todo o mundo (OMS, 2004).

A Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) relatou que, no ano de 2007, as doenças cardiovasculares representaram a terceira causa de internações no Sistema Único de Saúde (SUS), sendo a insuficiência cardíaca (IC) a causa mais frequente. No Brasil, a principal etiologia da IC é a cardiopatia isquêmica crônica associada à hipertensão arterial. Apesar dos avanços científicos e tecnológicos, a incidência da IC tem aumentado no Brasil e no mundo (ver SCHOCKEN *et al.*, 2008). Além disso, os procedimentos e tratamentos da IC, incluindo diagnóstico, estratificação de risco, tratamento clínico farmacológico e não farmacológico ainda apresentam limitações (SBC, 2007).

Os glicosídeos cardíacos são compostos de origem natural tradicionalmente utilizados para o tratamento de IC, como a digoxina, digitoxina e ouabaína (RAHIMTOOLA & TAK, 1996). Recentemente, outras aplicações foram sugeridas para estes compostos, como atividades antiviral (SU *et al.*, 2008; BERTOL, 2011) e antitumoral (PRASSAS *et al.*, 2011). Por outro lado, efeitos adversos e intoxicação por digitálicos, incluindo alterações no eletrocardiograma (ECG) e comprometimento da função renal (ERDEI *et al.*, 2006) são comuns mesmo durante seu uso correto e cauteloso.

Produtos naturais são uma fonte rica de pesquisa de novos medicamentos, na busca de fármacos mais seguros e eficazes. Segundo a Organização Mundial de Saúde, desde os anos 90 o uso da medicina tradicional, plantas medicinais e extrativos vegetais, aumentou no mundo inteiro. Em alguns países em desenvolvimento, 80% da população depende da medicina tradicional para cuidados primários de saúde e, dentre países desenvolvidos, 85% utiliza plantas ou preparações destas (BRASIL 2006a - Decreto nº 5.813) como a principal forma de tratamento (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005; CARLINI *et al.*, 2006; AGRA *et al.*, 2007; BIAVATTI *et al.*, 2007).

Apesar dos grandes avanços observados na medicina moderna nas últimas décadas, as plantas medicinais continuam sendo utilizadas e estima-se que, cerca de 25% a 30% dos agentes terapêuticos são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005). O Brasil possui rica biodiversidade em seus principais biomas: Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Caatinga. Tal biodiversidade no entanto, ainda é pobremente explorada (VEIGA-JUNIOR, 2008). A seleção de uma planta para estudos farmacológicos é um passo importante e a estratégia mais comum é o estudo das plantas como utilizadas na medicina popular, processo conhecido como etnofarmacologia (RATES, 2001; ALBUQUERQUE & HANAZAKI, 2006). Aproximadamente 20% das plantas do mundo ou seus extratos já foram submetidos a algum teste farmacológico ou biológico (SUFFREDINI *et al.*, 2004).

Lychnophoras são plantas nativas do Brasil com ocorrência nos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia (CUNHA *et al.*, 1995). Largamente usadas e comercializadas, as *Lychnophoras* pertencem à família Asteraceae, a qual tem sido estudada pela diversidade de metabólitos secundários apresentados por suas espécies (BREMER, 1994). Dentre esses metabólitos secundários destacam-se os monoterpenos, diterpenos, triterpenos, sesquiterpenos (como as lactonas sesquiterpênicas), além de poliacetilenos, flavonoides, ácidos fenólicos, benzofuranos e cumarinas. (ver GOUVEA, 2010).

Estudos farmacológicos confirmaram atividades de algumas espécies, como anti-inflamatória para extratos de *L. ericoides* (CERQUEIRA, 1987; BORSATO *et al.*, 2000), além de analgésica (SANTOS *et al.*, 2005) e antinociceptiva (GUZZO *et al.*, 2008). Para *L. pinaster* e *L. trichocarpha*, foram relatadas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória (GUZZO *et al.*, 2008).

Segundo PHILLIPSON (1999), a atividade terapêutica desejada pode ser normalmente encontrada no extrato bruto do que em um único princípio ativo isolado. Os extratos brutos das plantas apresentam uma ampla variedade de substâncias que, adequadamente isoladas e caracterizadas em ensaios farmacológicos, podem dar origem a protótipos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos (MYLES, 2003). No entanto, deve-se fazer um uso terapêutico desses extratos brutos de maneira racional e adequada, pois apenas um pequeno grupo de substâncias possui suas potencialidades farmacológicas determinadas e existe um longo caminho na busca do conhecimento destas substâncias (DI STASI, 1995).

A lactona sesquiterpênica, eremantolida C, foi isolada de *Lychnophora trichocarpha* Spreng e é estruturalmente semelhante aos produtos naturais terpenoides com ação cardiotônica: lanatosídeo C, digoxina e digitoxina. O anel presente nos cardiotônicos é essencial para a atividade farmacológica destas substâncias, como demonstrado em alguns trabalhos (LANGER, 1981; FRAGA & BARREIRO, 1996).

Apesar das terapias farmacológicas existentes para a IC serem demonstradas, os pacientes ainda sofrem com os efeitos colaterais (CHENG & NAYAR, 2009). Diante disso e da importância dos produtos naturais para a promoção da saúde e da potencial utilização de biomoléculas como protótipos de novos fármacos, a necessidade de explorar novas estratégias permanece constante. Por isso, a proposta de estudar o possível efeito da atividade cardiovascular do extrato etanólico da *L. trichocarpha* e da eremantolida C é de grande relevância.

2-OBJETIVOS

2.1- Objetivo Geral:

Avaliar a atividade do extrato etanólico da espécie *Lychnophora trichocarpha* Spreng. sobre o sistema cardiovascular *in vivo* em ratos Wistar.

2.2- Objetivos Específicos

1-Avaliar os efeitos *in vivo* do extrato etanólico bruto da espécie *Lychnophora trichocarpha* administrado por via oral em ratos Wistar em dose única sobre a pressão arterial e eletrocardiograma;

2-Characterizar o possível mecanismo de ação *in vivo* sobre a pressão arterial do extrato etanólico bruto da espécie *Lychnophora trichocarpha*

3-Characterizar os efeitos *in vivo* , ocorridos após 6 meses da inibição da síntese do óxido nítrico quanto a parâmetros do ECG, hemodinâmicos, hematológicos, bioquímicos e histológicos;

4-Avaliar os efeitos cardiovasculares *in vivo* da eremantolida C, isolada do extrato etanólico de *Lychnophora trichocarpha*, em animais normotensos e submetidos previamente à inibição da síntese do óxido nítrico.

3-REVISÃO DA LITERATURA

3.1- Produtos naturais

Na área de fármacos e medicamentos, as plantas medicinais e os extrativos vegetais são considerados de grande relevância para a pesquisa e o desenvolvimento de fármacos, não só pelo uso diretamente de seus constituintes como agentes terapêuticos, mas também como precursores para a síntese de compostos farmacologicamente ativos (OMS, 1998).

Há interesse crescente em plantas como fonte de medicamentos (RATES, 2001) propondo modificações estruturais para produzir substâncias potencialmente mais ativas e mais seguras, ou ainda, para produção de medicamentos exclusivamente à base dos extratos vegetais puros, como os medicamentos fitoterápicos (SCHENKEL *et al.*, 2001). Para isto, a atividade farmacológica desses extratos deve ser definida, bem como os compostos responsáveis por tal atividade (HOSTETTMANN *et al.*, 2003).

Deve-se ressaltar que os países em desenvolvimento são detentores de rica biodiversidade e, em se tratando de espécies vegetais, abrigam 67% das espécies do mundo (BRASIL, 2006b - Portaria nº 971). Neste contexto, são relevantes o interesse e as pesquisas buscando atividades farmacológicas de plantas encontradas no Brasil e utilizadas por sua população (VEIGA-JUNIOR & PINTO, 2005; LIMA, 2006; DICKEL, 2007; SCHMIDT, 2009). Alguns produtos tiveram sua origem com estudos de plantas brasileiras (REFSIO *et al.*, 2005), sendo ainda poucos aqueles que chegaram ao seu uso clínico (SOARES *et al.*, 2006; TAVARES *et al.*, 2006). A partir desses estudos e de informações etnofarmacológicas sobre as propriedades anti-inflamatórias da *Cordia verbenacea* foi ensejado o desenvolvimento do medicamento de uso tópico Acheflan[®] (REFSIO *et al.*, 2005), sendo os constituintes ativos: alfa-humuleno e trans-cariofileno, presentes no óleo essencial.

O Brasil é considerado o país campeão de megadiversidade devido a sua riqueza extraordinária de flora e fauna (IBAMA, 2007). Parte dessa riqueza está presente de forma significativamente em Minas Gerais, fruto de sua vasta superfície, clima, relevo e de seus recursos hídricos, que propiciam o aparecimento de uma cobertura vegetal rica e diversa, agrupada em três grandes biomas: a Mata Atlântica, o Cerrado e a Caatinga.

3.2- O gênero *Lychnophora*

O gênero *Lychnophora* faz parte da tribo *Lychnophorinae* (subtribo *Vernoniaeae*, *Asteraceae*) (BOHLMANN & JAKUPOVIC, 1990) e é conhecido na medicina popular brasileira pelo uso de várias espécies no tratamento de contusões, reumatismo, feridas, coceira e picada de inseto, como analgésicos e anti-inflamatórios (CERQUEIRA *et al.*, 1987). As *Lychnophoras* foram objeto de estudo fitoquímico (SAÚDE, 1994), fornecendo terpenoides, esteroides e flavonoides como constituintes principais (BORELLA *et al.*, 1992), sendo as lactonas sesquiterpênicas consideradas os marcadores químicos deste gênero. Acerca de suas atividades biológicas e farmacológicas, os metabólitos secundários dessas espécies têm sido objetos de outros estudos. Foram avaliadas as atividades antimicrobiana (MIGUEL *et al.*, 1996; SAÚDE-GUIMARÃES *et al.*, 1998; MACIEL, 2002), antitumoral (LÊ QUESNE *et al.*, 1978; SAÚDE, 1994), citotóxica (HERZ & GOEDKEN, 1982; CANALLE *et al.*, 2001), antioxidante (CHICARO *et al.*, 2004; KANASHIRO *et al.*, 2004), antinociceptivo (BORSATO *et al.*, 2000) e anti-inflamatória (GOBBO-NETO *et al.*, 2005).

As espécies do gênero *Lychnophora* são popularmente conhecidas como “arnicas”, pertencentes à família *Asteraceae* que compreende sessenta e oito espécies restritas ao cerrado brasileiro (SEMIR, 1991; ROBINSON, 1999). Essa família é uma importante fonte de lactonas sesquiterpênicas, constituintes que apresentam atividades biológicas já demonstradas (MACRAE & TOWERS, 1984). A coleta indiscriminada pela população tem causado uma diminuição sensível das *Lychnophoras*, aumentando o risco de extinção dessas espécies (IBAMA, 2007).

As plantas medicinais adquirem importância como agente terapêutico e, por isso, sua segurança e eficácia devem ser comprovadas para que se faça um uso seguro. Estudos de toxicidade são necessários para a avaliação das espécies desse gênero, largamente utilizadas pela população, já que o uso popular não é suficiente para validar eticamente seus usos como medicamentos eficazes e seguros (LAPA *et al.*, 2004).

3.3- Lactonas sesquiterpênicas e eremantolida C

Lactonas sesquiterpênicas são terpenoides constituídos de anel lactônico de cinco membros, na maioria das vezes α - β -insaturado. Sua produção pode estar associada ao

comportamento de proteção contra os predadores, devido às características alergênicas e de sabor amargo (BUCHANAN *et al.*, 2000). As lactonas sesquiterpênicas representam um grande e diverso grupo de produtos de origem natural, representando aproximadamente 3000 compostos, conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas, tais como antitumoral (HANSON *et al.*, 1953; KUPCHAN *et al.*, 1971; RODRIGUEZ *et al.*, 1976); antibacteriana (GIESBRECHT *et al.*, 1990; BARRERO *et al.*, 1995; GÖREN *et al.*, 1992 e 1996); antimalárica (FRANÇOIS *et al.*, 1996); tripanossomicida (CHIARI *et al.*, 1996; OLIVEIRA *et al.*, 1996); esquistossomicida (VICHNEWSKI *et al.*, 1976); inibidora da alimentação de insetos (PICMAN & TOWERS, 1983); anti-inflamatória (ABAD *et al.*, 1994) e cardiotônica (ROBLES *et al.*, 1995).

As lactonas sesquiterpênicas do tipo furanoeliangolídeos são originadas dos heliangolídeos e são frequentemente encontradas nas espécies da subtribo *Lychnophorinae*, entre elas as espécies do gênero *Lychnophora*, nativas do Brasil (BOHLMANN & JAKUPOVIK, 1990).

A lactona sesquiterpênica, eremantolida C, cuja estrutura química está apresentada na figura 1, foi isolada de *Lychnophora trichocarpa* Spreng (Asteraceae), (SAÚDE, 1994; SAÚDE-GUIMARÃES *et al.*, 1998) com rendimentos de 0,2 %, em relação à planta seca. Esta substância foi testada, *in vitro*, pelo *National Cancer Institute* (NCI, Bethesda, Maryland, USA) e apresentou atividade em 8 tipos de neoplasias e em 39 linhagens de células tumorais humanas, dentre 60 linhagens avaliadas (SAÚDE-GUIMARÃES, 1998).

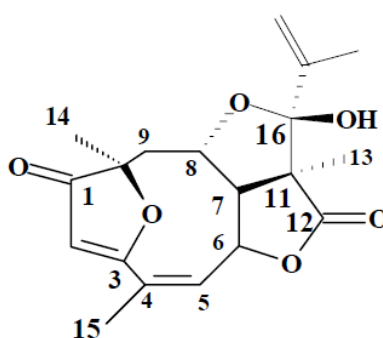


Figura 1: Estrutura química da Eremantolída C
Fonte: FERRARI, 2008.

A atividade antibacteriana da eremantolida C foi avaliada nas bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus*, e Gram-negativas *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*, utilizando a técnica de difusão em meio sólido. *B. subtilis* apresentou sensibilidade ao composto e *M. luteus* não foi sensível. As bactérias Gram-negativas não foram sensíveis à substância testada (SAÚDE-GUIMARÃES *et al.*, 2002).

A eremantolida C, assim como as lactonas sesquiterpênicas de maneira geral, possuem anel lactônico estruturalmente semelhantes aos dos produtos naturais terpenoides com ação cardiotônica, lanatosídeo C, digoxina e digitoxina. Estudos mostraram a importância da relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica desses derivados glicosídeos. Foi constatado que há três centros responsáveis pela atividade cardíaca: a hidroxila no carbono 3, a hidroxila com orientação β no carbono 14, e um anel lactônico insaturado (FAWAZ, 1963).

A semelhança do anel presente nos cardiotônicos aos dos produtos naturais terpenoides despertou interesse e levou à realização de estudos prévios com a eremantolida C. Os resultados desses estudos demonstraram segurança desse composto em ratos apresentando hipertensão arterial (HA) como fator de risco para a IC. Indicaram ainda a maior segurança terapêutica da eremantolida C em relação aos digitálicos, uma vez que a maior dose utilizada da eremantolida C, 20 mg/kg, não induziram ao óbito de camundongos (DE PAULA *et al.*, 2006).

Robles *et al.*, (1995) demonstraram que a helenalina, uma lactona sesquiterpênica obtida de *Arnica montana* L. (Asteraceae), apresentou efeito inotrópico positivo em fibra do átrio e músculos papilares do ventrículo esquerdo do coração de cobaia. Demonstraram ainda que helenalina aumentava o AMPc pela inibição da fosfodiesterase, aumentando a contratilidade do miocárdio. Esse achado possibilitou um avanço na terapêutica das doenças cardiovasculares utilizando este tipo de substância.

3.4- Óxido nítrico e sistema cardiovascular

Desde a descoberta do óxido nítrico (NO), na década de 80, uma série de funções importantes lhe tem sido atribuídas, demonstrando sua importância como molécula sinalizadora. Desde então, o crescente número de estudos sobre o NO e seus metabólitos permitiu que fossem sendo progressivamente entendidas algumas de suas principais funções

biológicas: participação no sistema imunológico, neurotransmissão, vasodilatação. No endotélio vascular tem função vasodilatadora fisiológica, responsável pela manutenção do fluxo sanguíneo tecidual e controle do extravasamento tecidual. Atua como inotrópico negativo levando ao aumento da dilatação diastólica, sem influenciar os índices de contratilidade miocárdica (HARE & COLLUC *et al.*, 1995).

A inibição da síntese do NO em ratos, modelo amplamente utilizado, gera importantes alterações no sistema cardiovascular, principalmente HA, decorrente da vasoconstrição generalizada, e alterações da função e morfologia cardíaca. Sakuma *et al.* (1992) mostraram que a sintase neuronal do óxido nítrico tem papel relevante na modulação do controle noradrenérgico da pressão arterial (PA), sugerindo que um decréscimo pode resultar no aumento da atividade do sistema nervoso simpático e da PA (ANDERSTAM, 1997), contribuindo para a instalação do quadro de HA. Dados epidemiológicos demonstram que as doenças cardiovasculares representam um dos maiores problemas de saúde pública, com elevada incidência no mundo ocidental, acometendo tanto países do primeiro mundo como também os países em desenvolvimento (MACKAY & MENSAH, 2004). Como reflexo desses dados no Brasil, a IC foi a principal causa dos atendimentos de emergência cardiovascular do SUS entre 1998 e 2000 (LESSA, 2001).

Baseados nessas evidências, acerca das consequências da inibição da síntese do NO no coração, foi utilizado no presente trabalho a inibição da síntese do NO pelo *L*-NAME avaliada 6 meses após o final da inibição, a fim de se padronizar um modelo para o estudo de substâncias cardioprotetoras.

A inibição do NO pode ser obtida pelo uso de análogos da *L*-arginina, precursores do NO, como o metil éster N^w-nitro-*L*-arginina (*L*-NAME), entre outros (PALMER *et al.*, 1988a e b; REES *et al.*, 1990; MOORE *et al.*, 1990; ver BUXTON *et al.*, 1993). O *L*-NAME causa redução inespecífica das sintases de NO no coração, rim e cérebro, o que leva a um aumento na pressão arterial sistólica (PAS), causando hipertrofia da aorta e do ventrículo esquerdo e fibrose deste (SIMKOA *et al.*, 2004). A inibição aguda de NO causa necrose do miocárdio, provavelmente induzidos pelo aumento da PA e redução do fluxo sanguíneo (MORENO *et al.*, 1997).

Moreno *et al.* (1995), utilizando o tratamento crônico com *L*-NAME em ratos como modelo de HA associado a alterações cardíacas, demonstraram que a atividade do sistema

renina angiotensina, observada através da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), é importante para o desenvolvimento da HA e hipertrofia cardíaca. Katoh *et al.* (1998) avaliaram a expressão do RNA-mensageiro para receptores AT₁ da angiotensina após inibição crônica da síntese do NO por administração de *L-NAME in vivo* e observaram que tais receptores estavam suprarregulados na fase inicial da inibição, o que provavelmente contribuiu para as modificações inflamatórias observadas.

Utilizando o estudo estereológico em ratos submetidos à inibição crônica da síntese do NO pelo *L-NAME* por 15 semanas, foi observada hipertrofia dos miócitos, que compromete sua função, associada à fibrose intersticial, com aumento de deposição de fibronectina e colágeno tipo III, e fibrose perivascular, sem variações importantes na microcirculação (GOMES-PESSANHA *et al.*, 1999). O comprometimento dessa função é considerado característica de cardiomiopatias provenientes de vários tipos de morbidades, tais como IC, isquemia, hipertensão e diabetes (WOLD *et al.*, 2005; YE *et al.*, 2003).

Por apresentar tais características, o modelo de inibição da síntese do NO se mostra satisfatório para o estudo associado à anormalidade da função endotelial. Há evidências de que a função endotelial pode refletir o efeito de fatores de risco e, assim, servir como medidor global da saúde vascular (VITA *et al.*, 2002).

4-MATERIAIS E MÉTODOS

4.1- Material Vegetal

4.1.2- Coleta, secagem e moagem

As partes aéreas da *Lychnophora trichocarpha* Spreng (figura 2) foram coletadas em outubro de 2005 (3 kg), no município de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, e a exsicata depositada no Herbarium do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas (ICEB), sob o número de referência 20635, UFOP, Ouro Preto, MG, Brasil. O material vegetal foi mantido em estufa a 30° C por quinze dias. Após a completa secagem, o material foi pulverizado em moinho de facas.

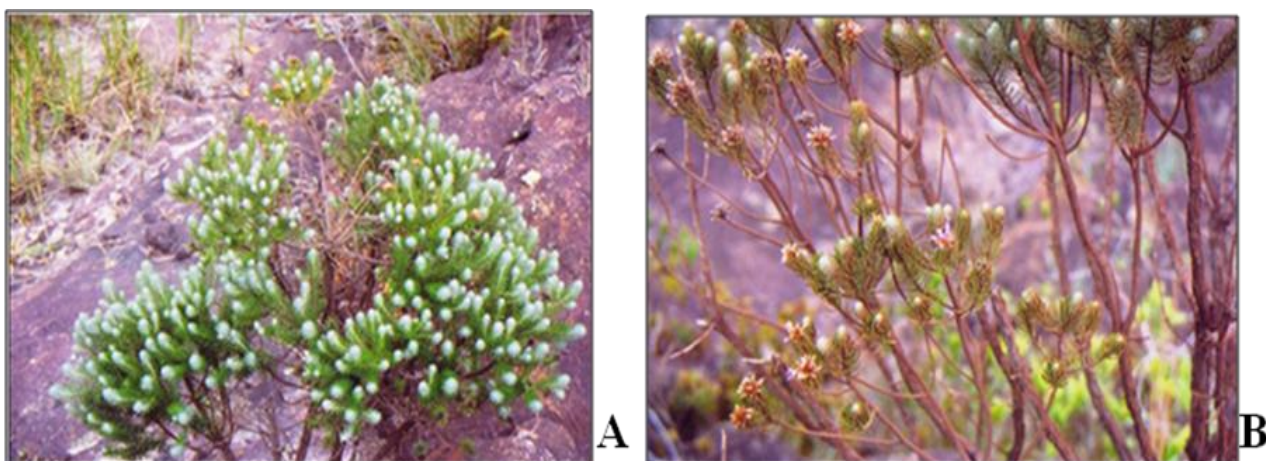


Figura 2: Fotografias de *L. trichocarpha*: (A) aspecto geral da planta e (B) flores. Fonte: FERRARI, 2008.

4.2- Preparo do extrato etanólico de *L. trichocarpha*

O material vegetal foi extraído com etanol por maceração, por 30 dias. Após o completo esgotamento do material vegetal o solvente foi eliminado por evaporação a pressão reduzida, levando à obtenção de 69 g de extrato etanólico bruto.

4.3- Isolamento do composto eremantolida C

A eremantolida C (sólido branco, ponto de fusão 194° - 195° C, acetato de etila) foi isolada do extrato etanólico de *L. trichocarpha*, de acordo com metodologia descrita por Saúde-Guimarães, 1998, e fornecida pela Profa. Dênia A. Saúde Guimarães, do Laboratório de Plantas Mediciniais, Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. A estrutura química da eremantolida C foi elucidada através de espectrometrias no IV, EM, RMN de ¹H e de ¹³C e por comparação com dados espectrométricos registrados na literatura (LÊ QUESNE *et al.*, 1978; SAÚDE-GUIMARÃES *et al.*, 1998).

4.4- Preparo das soluções

O extrato bruto da *L. trichocarpha* foi solubilizado em capriol (Gattefosé):água destilada (6,5:3,5) para preparo da solução na concentração de 100 mg/ml, para a administração oral.

A eremantolida C foi solubilizada em 1 % de dimetilsulfóxido (DMSO) (Impex), 1 % de Tween 80 (Synth) e água purificada (Millipore). Esta preparação foi diluída em solução de glicose 5 % (Fisher Scientific) imediatamente antes da administração intravenosa (I.V.), obtendo-se uma solução final na concentração de 2,25 mg/ml.

O *L*-NAME (Sigma Aldrich) foi solubilizado em água purificada (Millipore) para obtenção de uma solução de 15 mg/ml, para administração intraperitoneal (I.P.).

A solução de digitoxina (Merck) foi preparada na concentração de 0,25 mg/l em água purificada (Millipore), para administração I.V.

Os fármacos utilizados para a caracterização da atividade cardiovascular do extrato foram preparados nas concentrações de 5 mg/ml para o atenolol (Sigma Aldrich), 10 mg/ml para o captopril (Sigma Aldrich) e 1 mg/ml para a prazosina (Sigma Aldrich), todos para administração I.V.

A noradrenalina (NA) foi preparada em três concentrações diferentes: 1,5 µg/ml, 4,5 µg/ml e 15 µg/ml em água purificada (Millipore), para administração I.V.

4.5- Animais experimentais

Todos os procedimentos *in vivo* do presente estudo foram aprovados Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFOP, sob o número 2010/64.

Foram utilizados ratos Wistar machos (250 a 300 g), fornecidos pelo Centro de Ciência Animal (CCA) da UFOP. Os animais foram mantidos sob ciclo de 12 horas claro/escuro recebendo água e ração (Nuvilab®) *ad libitum*. Para os experimentos em que a administração das soluções foi realizada por via oral, os animais foram mantidos em jejum por um período de oito a doze horas antes dos experimentos, com acesso livre apenas à água. Para o tratamento com *L-NAME*, foram utilizados ratos Wistar machos (150 a 180 g) os quais foram mantidos no CCA da UFOP até o momento dos experimentos.

4.6- Procedimentos cirúrgicos, obtenção e análise dos sinais cardiovasculares

Nos experimentos realizados para a avaliação da atividade do extrato etanólico de *L. trichocarpa* os animais foram anestesiados com tiopental sódico (Cristália) 60 mg/kg (30 mg/ml) e nos demais experimentos os animais receberam quetamina (Syntec)/xilazina (Agener União) (1,00 /0,14 g/kg), ambos administrados I.P. Após a anestesia ter alcançado a profundidade necessária, os animais foram traqueostomizados utilizando-se um tubo de polietileno (PE) e deixados sob respiração espontânea.

Após assepsia e tricotomia da região inguinal esquerda, foi realizada uma pequena incisão para exposição do feixe femoral. Para obtenção dos sinais da PA e para a administração I.V. das soluções, foram inseridos catéteres na artéria e veia femorais, para registro da PA e administração das soluções dos fármacos ou veículos, respectivamente. Os catéteres foram confeccionados unindo-se por aquecimento 5,0 cm de tubo PE10 a 15,0 cm de tubo PE50, preenchidos com solução salina e ocluídos por agulhas 25x7 cortadas. A extremidade distal do catéter arterial foi acoplada a um transdutor de pressão *TruWave®* (Edwards Lifescience, Canadá) para aquisição do sinal de PA.

Nos procedimentos para a mensuração da pressão do ventrículo esquerdo (PVE) do coração, a artéria carótida comum direita foi isolada a partir da incisão dorsal cervical e um microtransdutor (Mikro-Tip® Catheter Transducer, modelo SPR407, Millar Instruments, Houston, USA) foi introduzido via carótida até o interior do ventrículo esquerdo.

O sinal do ECG foi obtido utilizando-se como sensores agulhas hipodérmicas de aço inoxidável inseridas no tecido subcutâneo. As agulhas foram inseridas nos membros superior direito e esquerdo e no inferior esquerdo com o objetivo de mensurar a diferença de potencial relativa às três derivações: derivação DI, DII e DIII, mostradas na figura 3.

Os sensores de ECG e os transdutores de PA e PVE foram acoplados a um sistema condicionador que forneceu sinais em tempo real a uma frequência de 1200 Hz, processados por uma placa conversora analógico-digital (DaqBoard/2001, EUA).



Figura 3: Exemplo dos sinais obtidos em um experimento.

Os registros digitais dos experimentos foram convertidos utilizando-se o software Matlab 7.0 (MathWorks, EUA) e analisados por inspeção visual com o auxílio do software WinDaq (DATAQ Instruments, EUA). Foram selecionados segmentos de 2 segundos em instantes determinados pelos protocolos experimentais, os quais foram gravados para posterior obtenção dos parâmetros cardiovasculares. A análise dos registros do ECG foi realizada por inspeção visual e foram avaliados os seguintes parâmetros: intervalos QT, RR, PR e complexo QRS do ECG e correção do intervalo QT pelo índice de Fridericia (1920): $QTc = QT/(RR)^{1/3}$, os quais estão representados na figura 4.

Onda P – Primeira onda do ECG normal, corresponde à despolarização atrial, que inicia-se no átrio direito e se estende ao átrio esquerdo;

Intervalo PR – Intervalo de tempo mensurado entre o início da onda P e o início do complexo QRS e representa o intervalo compreendido entre o começo da despolarização atrial e ventricular;

Complexo QRS – Compreende as deflexões produzidas durante a despolarização dos ventrículos;

Intervalo QT – Corresponde à sístole elétrica total ventricular, compreendendo o tempo desde a despolarização até a repolarização dos ventrículos direito e esquerdo, e inclui o complexo QRS, o segmento ST e a onda T;

Intervalo RR – Parâmetro determinante da frequência cardíaca (FC) e representa o intervalo entre duas ondas R adjacentes.

A partir do sinal da PA foram extraídos os parâmetros de PAS e diastólica (PAD). A partir do sinal de PVE foram extraídos os parâmetros pressão sistólica máxima no ventrículo esquerdo ($PVE_{máx}$), pressão diastólica final no ventrículo esquerdo (PVEDF) (figura 4), mensurada imediatamente antes do início da próxima sístole, e duplo produto (DP), calculado através da fórmula $DP = PAS \times FC$. O DP é um índice indireto e não invasivo de consumo de oxigênio pelo miocárdio amplamente utilizado na clínica. Este índice exibe estreita correlação entre níveis elevados alcançados durante o esforço físico e estresse emocional, e o aparecimento de episódios de isquemia do miocárdio em pacientes com obstrução de coronárias.

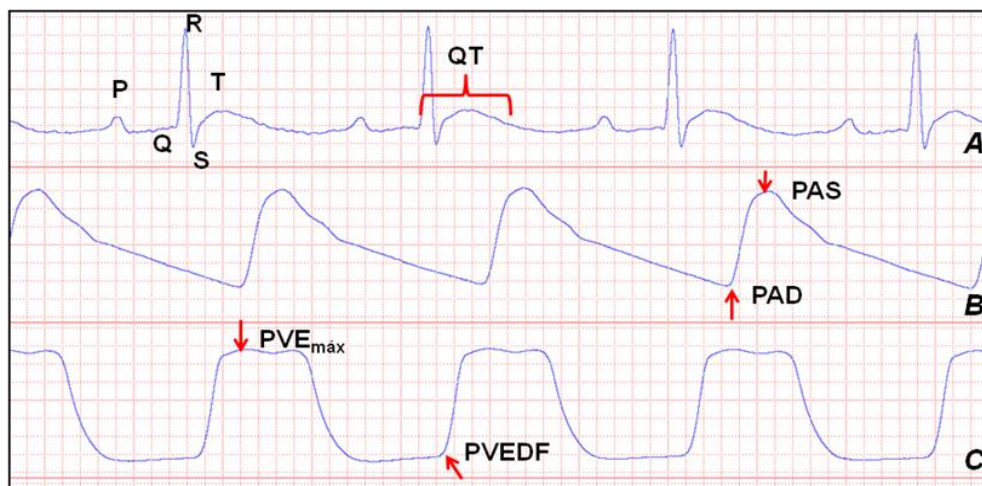


Figura 4: Indicação dos parâmetros obtidos a partir dos sinais de: ECG na derivação DII (A), PA (B) e PVE (C).

Ao final dos experimentos, ainda sob efeito do anestésico, os animais receberam por via I.V. uma solução saturada de cloreto de potássio, seguida de pneumotórax.

4.7- Protocolos experimentais

4.7.1- Avaliação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpha*: foi realizada após a administração oral única na dose de 1,5 g/kg ou veículo nos animais. Trinta minutos após a administração, os animais foram anestesiados e submetidos aos procedimentos cirúrgicos. O registro dos parâmetros cardiovasculares (ECG e PA) foi obtido por um período de até 5 horas após a administração do extrato ou veículo (figura 5).



Figura 5: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da atividade cardiovascular do extrato etanólico de *L. trichocarpha*.

4.7.2- Caracterização do mecanismo de ação *in vivo* sobre a pressão arterial do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpha*: foi realizada pela administração oral única na dose de 1,5 g/kg e após 3,5 h os animais foram anestesiados e submetidos aos procedimentos cirúrgicos. Quatro horas após a administração do extrato os animais divididos em 3 grupos, tiveram os sinais cardiovasculares (ECG e PA) obtidos por 5 minutos (controle) e receberam por via I.V. os fármacos atenolol 5 mg/kg (STTEG *et al.*, 2007), captopril 10 mg/kg (ILIEVA *et al.*, 2006) ou prazosina 1 mg/kg (AZEVEDO *et al.*, 2011). Os sinais cardiovasculares foram obtidos por 60 minutos após a administração dos fármacos, ou seja, até 5 h após a administração do extrato (figura 6).

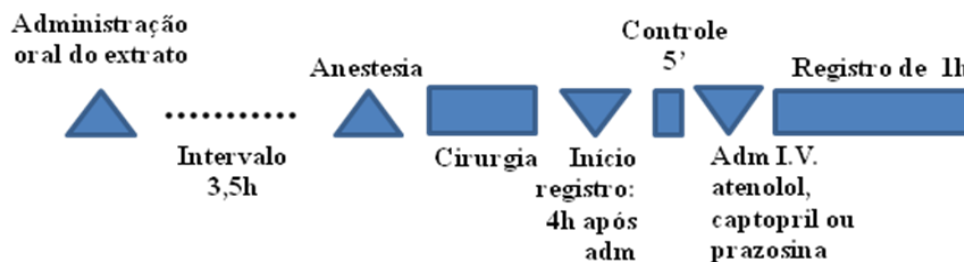


Figura 6: Representação esquemática do protocolo experimental para caracterização mecanismo de alteração da PA provocado pelo extrato etanólico bruto de *L. trichocarpa*

4.7.3- Atividade cardiovascular da eremantolida C: foi avaliada pela administração I.V. nas doses de 3 e 10 mg/kg ou veículo. Os animais foram anestesiados e submetidos aos procedimentos cirúrgicos. O registro dos parâmetros cardiovasculares (ECG, PA e PVE) foi obtido por um período controle de 5 minutos e por 2 horas após a administração da eremantolida C. O mesmo protocolo foi realizado para o fármaco padrão, a digitoxina na dose de 0,3 mg/kg. Os experimentos foram realizados nos grupos de animais normais e previamente tratados com *L*-NAME (figura 7). Ao final dos experimentos todos os animais tiveram sangue total coletado para as análises hematológicas e bioquímicas. Após eutanásia os animais tiveram o coração coletado para as análises histológicas.

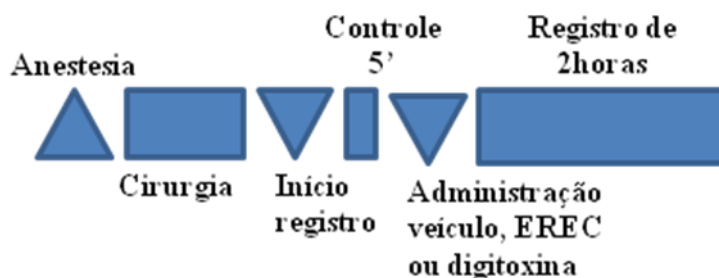


Figura 7: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar a atividade cardiovascular da eremantolida C.

4.7.4- Atividade da eremantolida C em animais submetidos à hiperatividade simpática: os animais foram anestesiados e submetidos aos procedimentos cirúrgicos. Após registro controle foi administrado doses de NA 1, 3 e 10 μ g/kg por via I.V. *in bolus* com intervalos de

15 minutos entre as doses. Os animais receberam então eremantolida C (10 mg/kg) I.V. e nos tempos 15 minutos e 60 minutos após, foram repetidas as administrações de NA. Os experimentos foram realizados nos grupos de animais normais e previamente tratados com *L*-NAME (Figura 8).

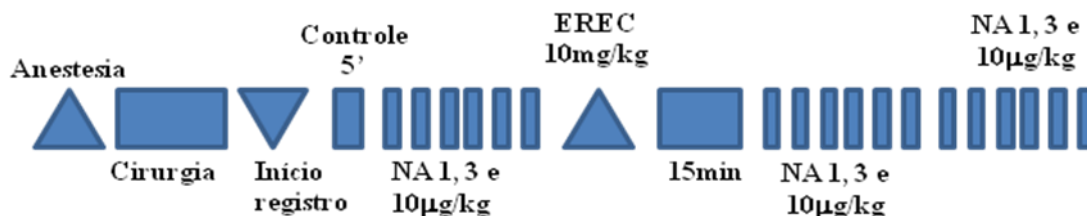


Figura 8: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliar a potencial atividade cardioprotetora da eremantolida C.

4.8- Inibição *in vivo* da síntese de óxido nítrico

Animais Wistar machos normotensos (150 a 180 g) foram tratados com *L*-NAME, um inibidor inespecífico da síntese do NO, 60 mg/kg por 7 dias via I.P. Após 7 dias de tratamento com *L*-NAME, os animais foram mantidos em observação por 6 meses, e ao final deste período foram realizados os experimentos. Os animais para o grupo controle foram mantidos pelo mesmo período de 6 meses e nas mesmas condições até o dia do experimento. Todos os animais foram pesados imediatamente antes do início dos experimentos.

4.8.1- Avaliação Hematológica

A avaliação dos parâmetros hematológicos foram realizadas no Laboratório de Pesquisas Clínicas, CiPharma, UFOP. Foram coletadas amostras de sangue total em tubo contendo 10 µl heparina sódica (5.000 UI/ml) e a análise realizada logo após sua obtenção.

Os parâmetros hematológicos avaliados incluíram contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos (total e diferencial) e contagem de plaquetas, utilizando-se analisador automatizado (VET2800-MINDRAY, Brasil), com exceção para a contagem diferencial de leucócitos. A contagem diferencial foi realizada pela análise de esfregaço sanguíneo corado com corante panótica rápida (Instant Prov), em

microscópio óptico Olympus CX 21 do Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) UFOP. As lâminas foram confeccionadas no momento da coleta das amostras de sangue.

4.8.2- Avaliação Bioquímica

As análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas no LAPAC, UFOP. O procedimento para a coleta de sangue foi o mesmo descrito no item anterior, porém sem anticoagulante, para a obtenção de soro. O soro foi obtido pela centrifugação do sangue total a 3000 rpm por 15 minutos e após a separação foi congelado a -18° C até o momento da análise.

Foram avaliados os parâmetros bioquímicos creatinina e ureia para avaliação da atividade renal. As quantificações foram realizadas espectrofotometricamente utilizando-se analisador automatizado (Airone 200) e kits diagnósticos (Bioclin).

4.8.3- Avaliação Histopatológica

As análises histológicas dos corações foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia, NUPEB, UFOP. Os órgãos dos animais foram removidos após obtenção dos parâmetros cardiovasculares e coleta de sangue, lavados com solução de NaCl 0,9 % (p/v), pesados (peso úmido) e fixados em formaldeído (Synth Brasil) 10 % (v/v) tamponado (pH 7,2), com o objetivo de preservar a morfologia e a composição do tecido até a confecção das lâminas.

Os órgãos foram submetidos à desidratação com concentrações crescentes de álcool (alcoóis 70, 80, 90 e absoluto), deixando os tecidos imersos por um período de 20 minutos em cada concentração. Os mesmos foram posteriormente diafanizados em banhos de 10 minutos de xilol, a fim de tornar o tecido translúcido. Foi feita a inclusão dos tecidos em parafina, utilizando dois banhos de parafina para sua penetração nos vasos e espaços intercelulares. Foram confeccionados blocos de parafina de cada animal em quatro cortes longitudinais para o coração. Os blocos de parafina foram submetidos à microtomia obtendo-se dois cortes seriados com 4 µm de espessura cada um. As lâminas foram coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE) e pelo Tricrômico de Masson.

As avaliações dos cortes histológicos foram realizadas utilizando-se objetiva de 40 X do microscópio Olympus BX50, pentaocular localizado na Escola de Farmácia, UFOP. A fotodocumentação foi realizada no Laboratório Multiusuários do NUPEB, UFOP utilizando-

se a objetiva de 40 X do microscópio Leica, DM5000, acoplado a microcâmara Leica DFC340 FX e o programa Leica Application Suite (Versão 2.4.0 R1). Para a análise das imagens obtidas foi utilizado o programa Leica QWin V3.

Os núcleos celulares e a área do colágeno foram mensurados em 20 imagens aleatórias (área total percorrida igual a $7,5 \times 10^4 \mu\text{m}^2$) obtidas das lâminas coradas pela HE e Tricômico de Masson, respectivamente, por fragmento cardíaco avaliado.

4.9- Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m.) e as diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$. Os parâmetros foram analisados por One-way ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni ou t de *student*. Como ferramenta para as análises estatísticas foi utilizado o software GraphPad Prism® 5.0 (GraphPad Software, EUA).

5- RESULTADOS

5.1- Avaliação *in vivo* dos efeitos do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpha* sobre a PA, FC e ECG

A administração oral do extrato etanólico de *L. trichocarpha* na dose 1,5 g/kg causou aumentos significativos nos valores de PAS e PAD em relação ao grupo que recebeu apenas o veículo (PAS 110 e PAD 74 mmHg, respectivamente – tabela III em anexo). Foram observadas tais alterações nos tempos 1,5 e 2 horas e de 3 às 5 horas. Os valores máximos observados foram de 145 mmHg (29 %) para PAS e 103 mmHg (36 %) (figura 9 A) e para PAD 3,5 horas após a administração do extrato (figura 9 B).

Para a FC, a administração do extrato de *L. trichocarpha* causou aumento significativo em 3 horas, 4,5 horas e 5 horas após sua administração oral quando comparado ao grupo que recebeu apenas o veículo (figura 9 C), embora a FC máxima atingida pode ser considerada dentro de valores normais para esse parâmetro.

Para os parâmetros do ECG (complexo QRS, intervalos PR, QT e QTc) não foram observadas alterações significativas após a administração do extrato em nenhum dos tempos avaliados (figura 10).

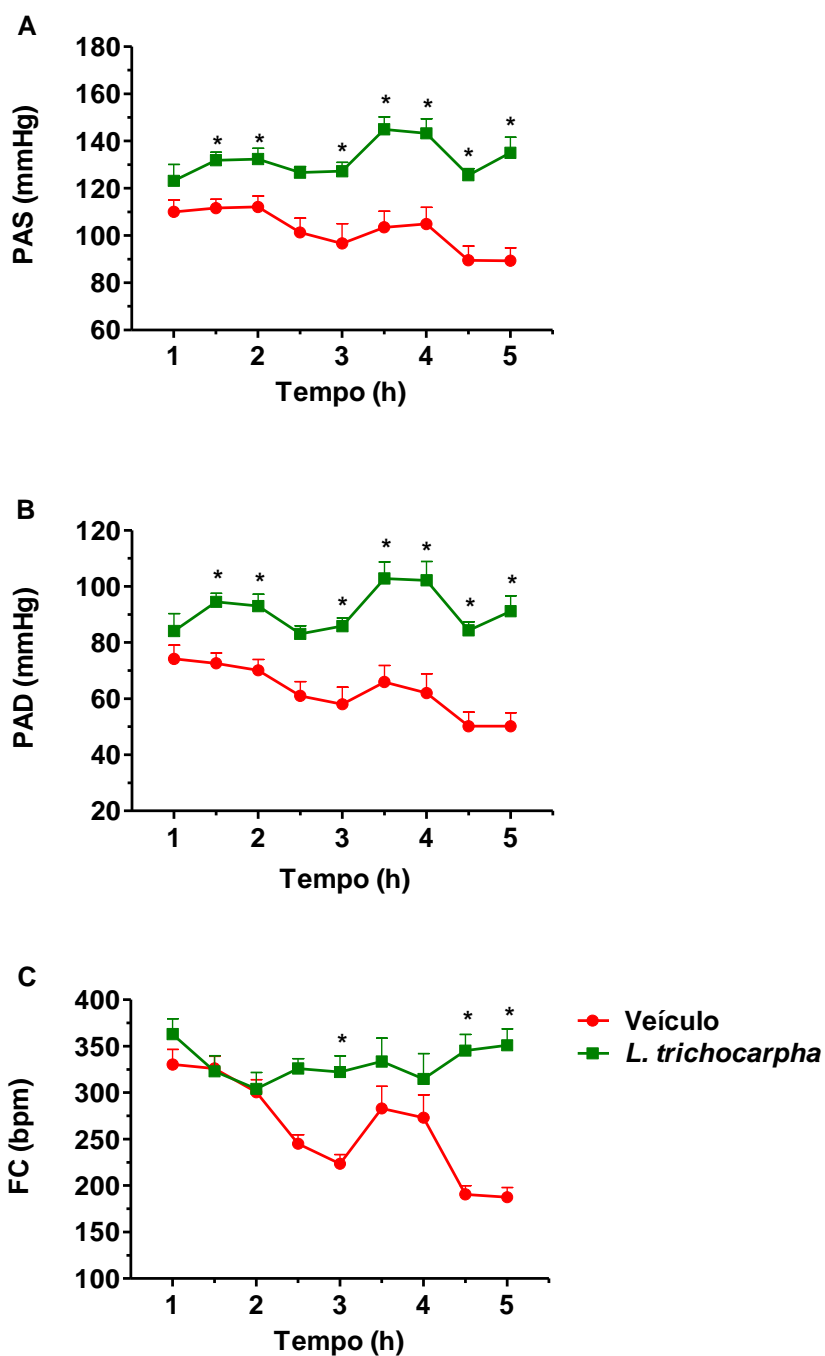


Figura 9: Valores absolutos de PAS, PAD e FC 1 a 5 horas após a administração oral do extrato etanólico de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg (n=6) ou veículo (n=6). * Diferença significativa em relação ao grupo tratado com veículo. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

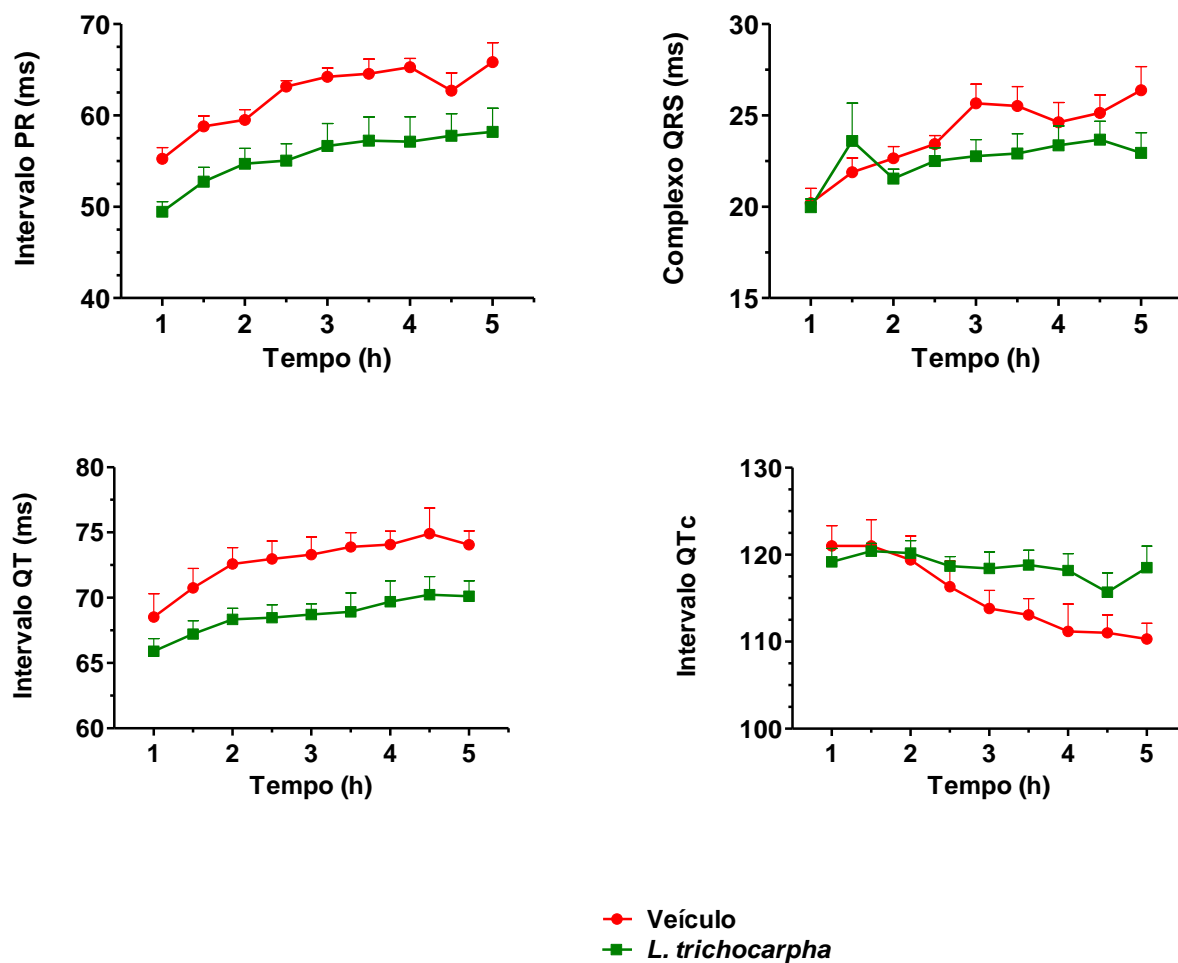


Figura 10: Valores absolutos dos intervalos do ECG: PR, QRS, QT e QTc de 1 a 5 horas após a administração oral do extrato etanólico de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg (n=6) ou veículo (n=6). * Diferença significativa em relação ao grupo tratado com veículo. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

5.2- Caracterização do possível mecanismo de ação *in vivo* sobre a pressão arterial do extrato etanólico bruto da espécie *Lychnophora trichocarpha*

A caracterização da atividade cardiovascular *in vivo* do extrato de *L. trichocarpha*, ou seja, do aumento da PA descrito no item anterior, foi realizada por 60 minutos a partir de 4 horas após a sua administração por via oral até 5 horas. Essa avaliação foi realizada tomando-se como base os valores imediatamente antes da administração dos fármacos.

À manipulação farmacológica para demonstrar o possível mecanismo de ação do aumento da PA induzido pelo extrato mostrou que o atenolol, um bloqueador β_1 -adrenérgico, reduziu 15 % da PAS em 1 minuto após sua administração (figuras 11) em relação ao tempo controle (159 mmHg) (tabela V em anexo). Como esperado, o atenolol reduziu significativamente a FC a partir de 2 minutos após sua administração até o final do experimento, sendo a redução máxima observada de 34 % em 45 minutos após sua administração (figura 13) quando comparado ao período controle (321 bpm) (tabela V em anexo).

O captopril, um inibidor da ECA, foi capaz de reduzir significativamente 24 % da PAS e 30 % da PAD no 1 minuto após sua administração em relação ao período controle (155 e 110 mmHg respectivamente) (tabela V em anexo). Não foram observadas diferenças significativas para FC (figura 13).

O efeito da prazosina, um α_1 -bloqueador adrenérgico, em reduzir a PA quando comparado ao período controle (PAS 163 e PAD 114 mmHg) (tabela V em anexo) foi o mais acentuado entre os fármacos utilizados, e ainda foi capaz de manter tal redução por todo o período avaliado, exceto para PAD em 60 minutos. Essa observação indica a hiperatividade simpática vascular como um componente responsável pelo aumento da PA induzido pela administração do extrato de *L. trichocarpha*. As reduções máximas observadas para PAS e PAD foram de 32 e 38 %, respectivamente, 1 minuto após sua administração.

Em relação aos parâmetros do ECG, não foram observadas alterações após administração de captopril e prazosina (figuras 14 a 16). O atenolol reduziu significativamente o intervalo QTc comparado imediatamente antes da sua administração (114,5) (tabela VII em anexo), efeito também esperado, já que houve redução da FC. A redução máxima desse índice foi de 10 % após 10, 30 e 40 minutos da administração do fármaco (figura 17).

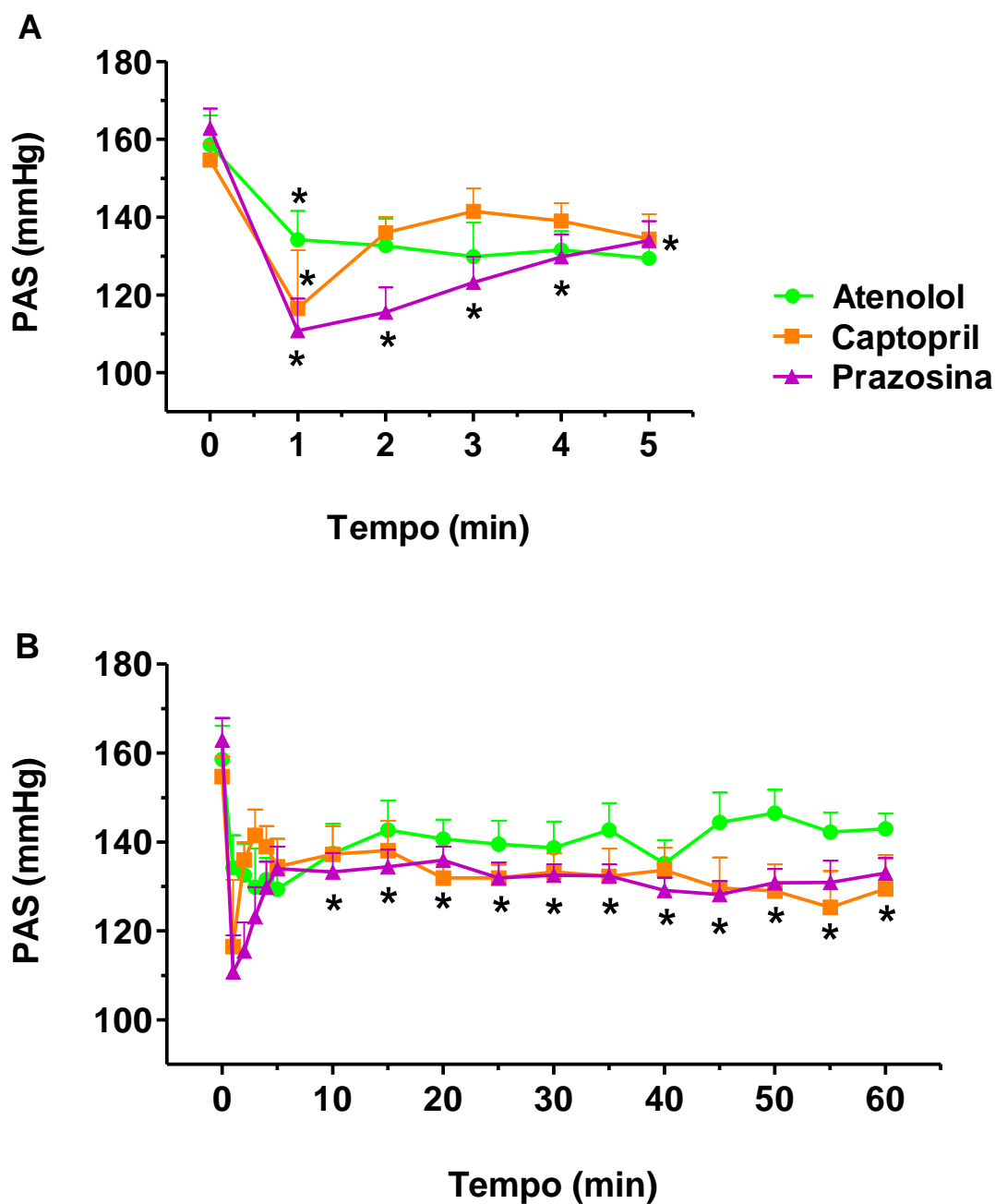


Figura 11: Valores absolutos de PAS de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao tempo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

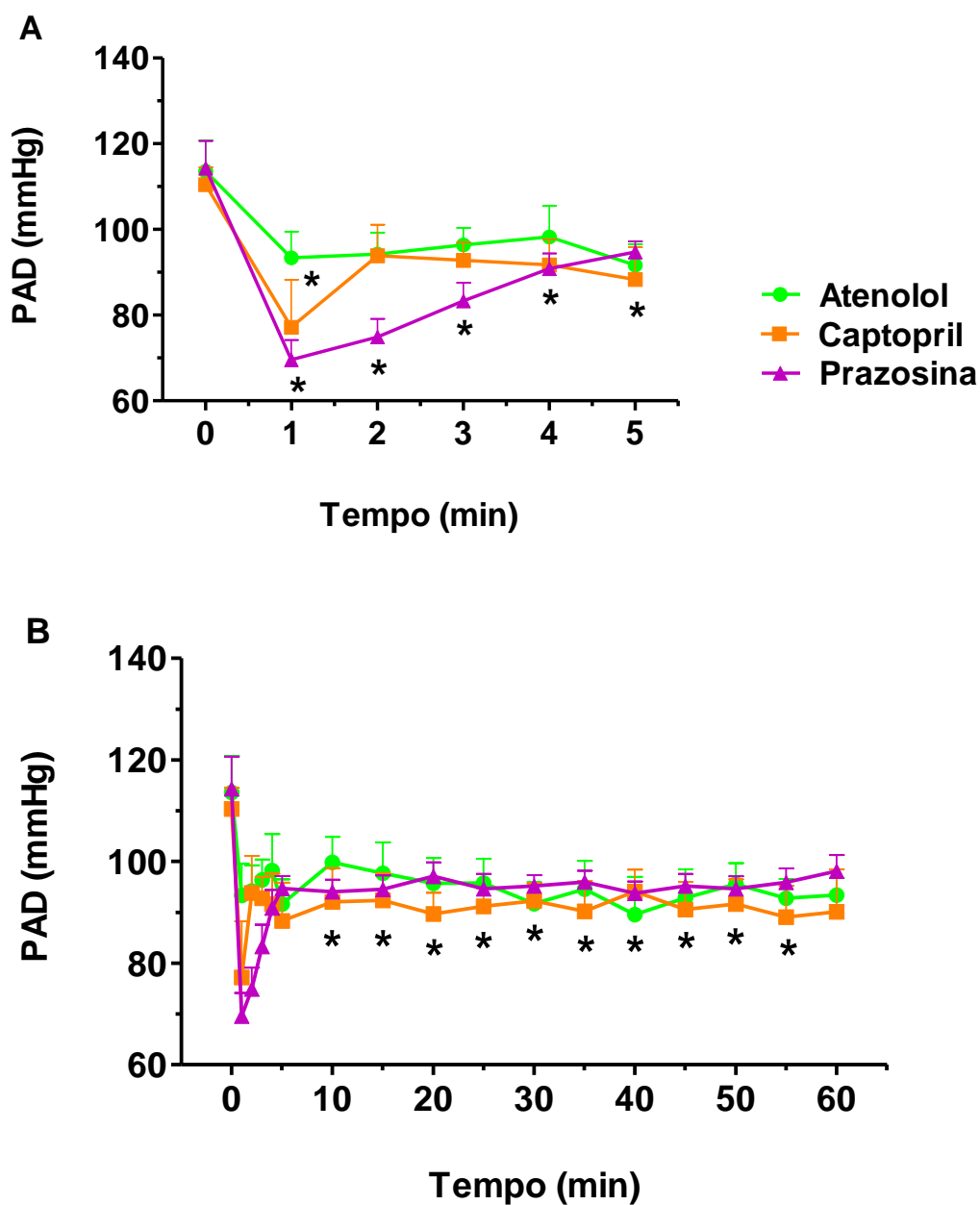


Figura 12: Valores absolutos de PAD de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa entre relação ao tempo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

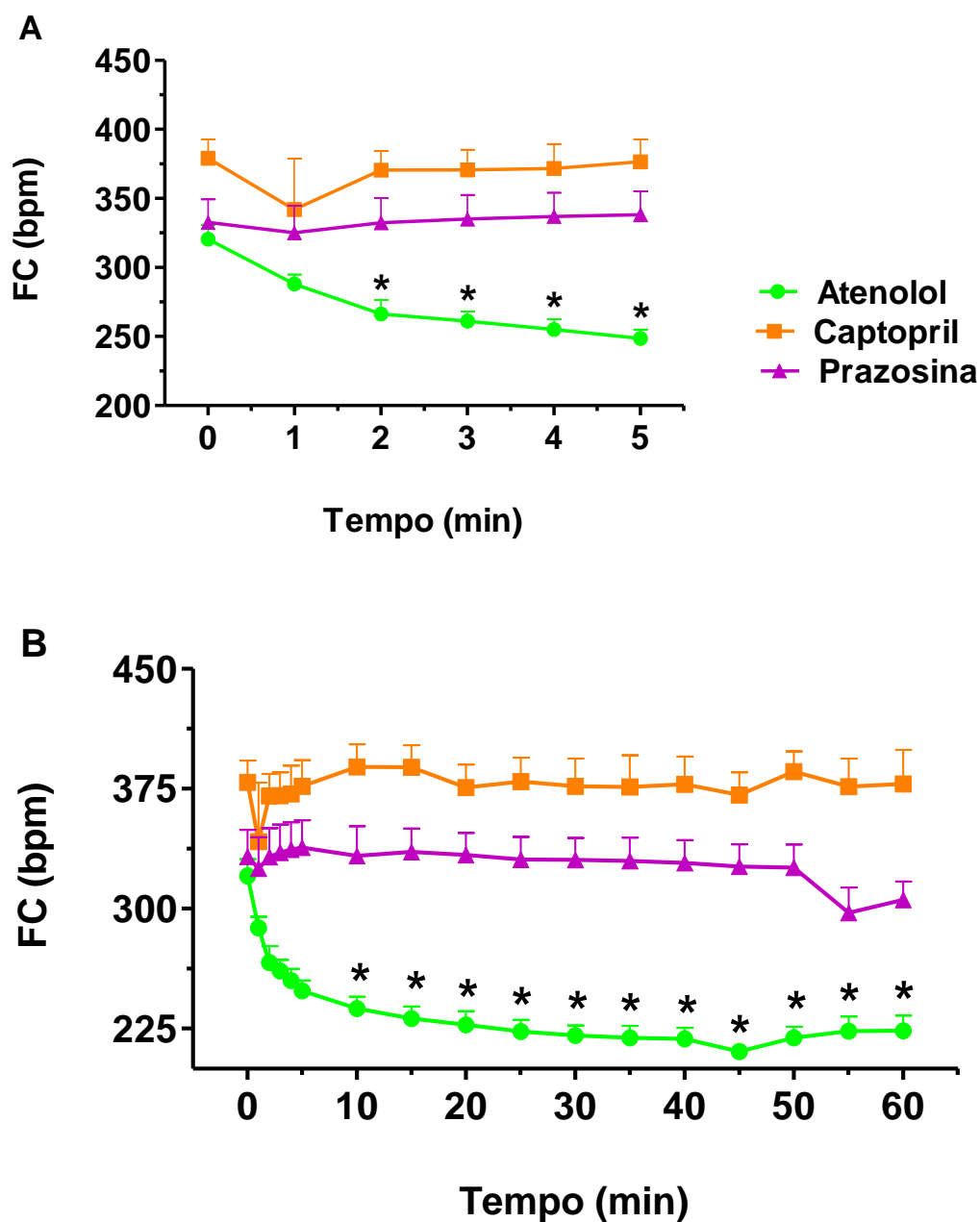


Figura 13: Valores absolutos de FC de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao tempo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

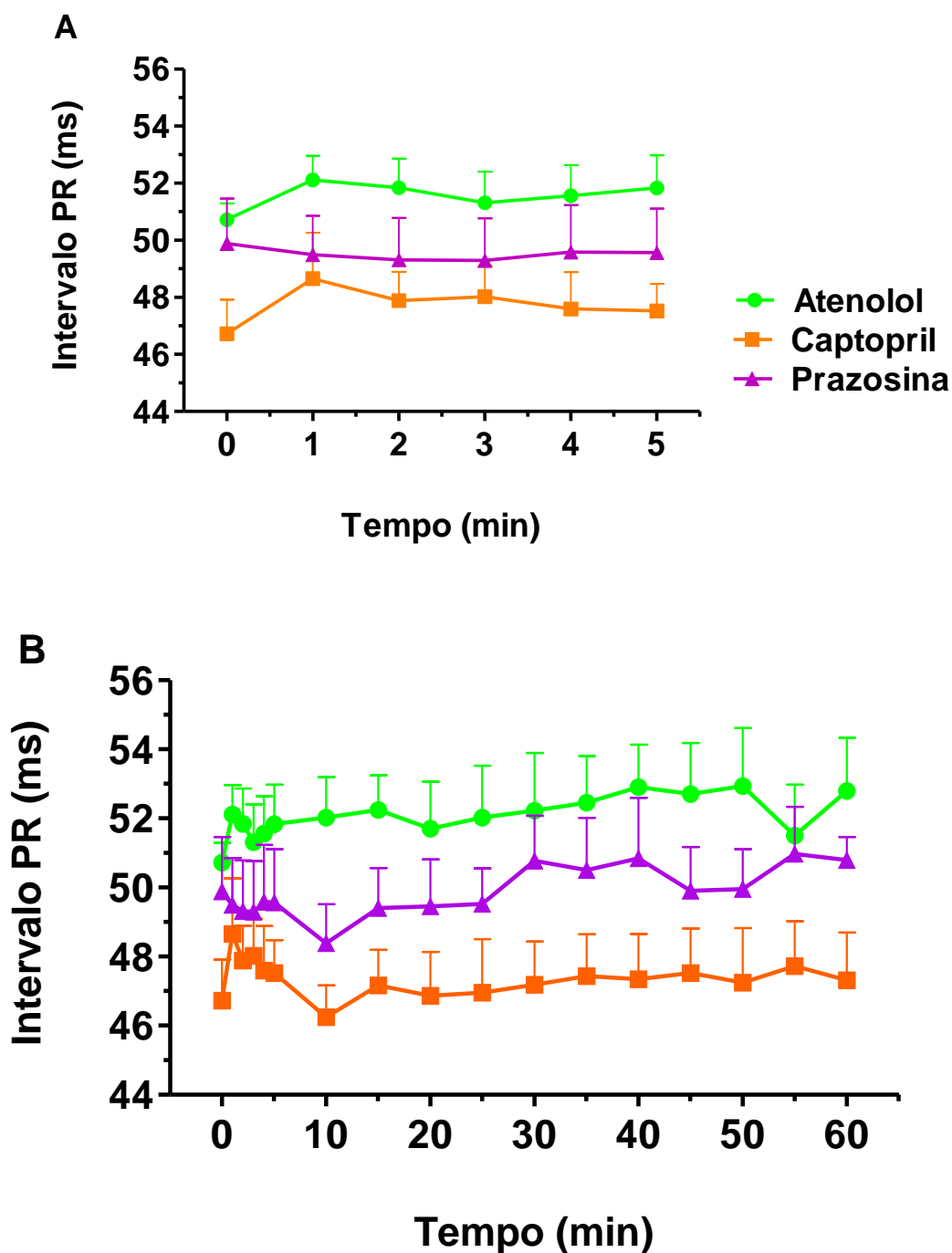


Figura 14: Valores absolutos do intervalo PR do ECG de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

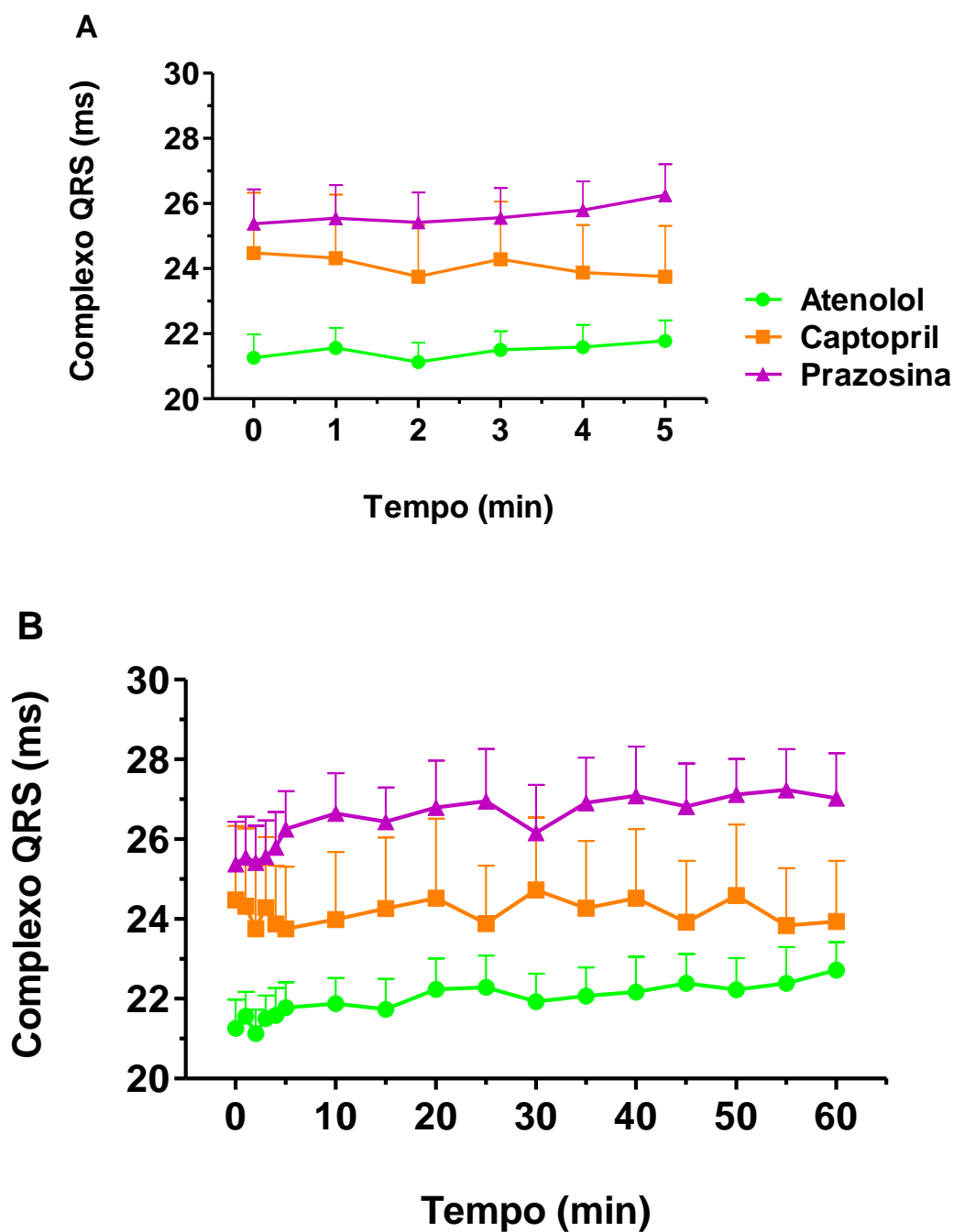


Figura 15: Valores absolutos do complexo QRS do ECG de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

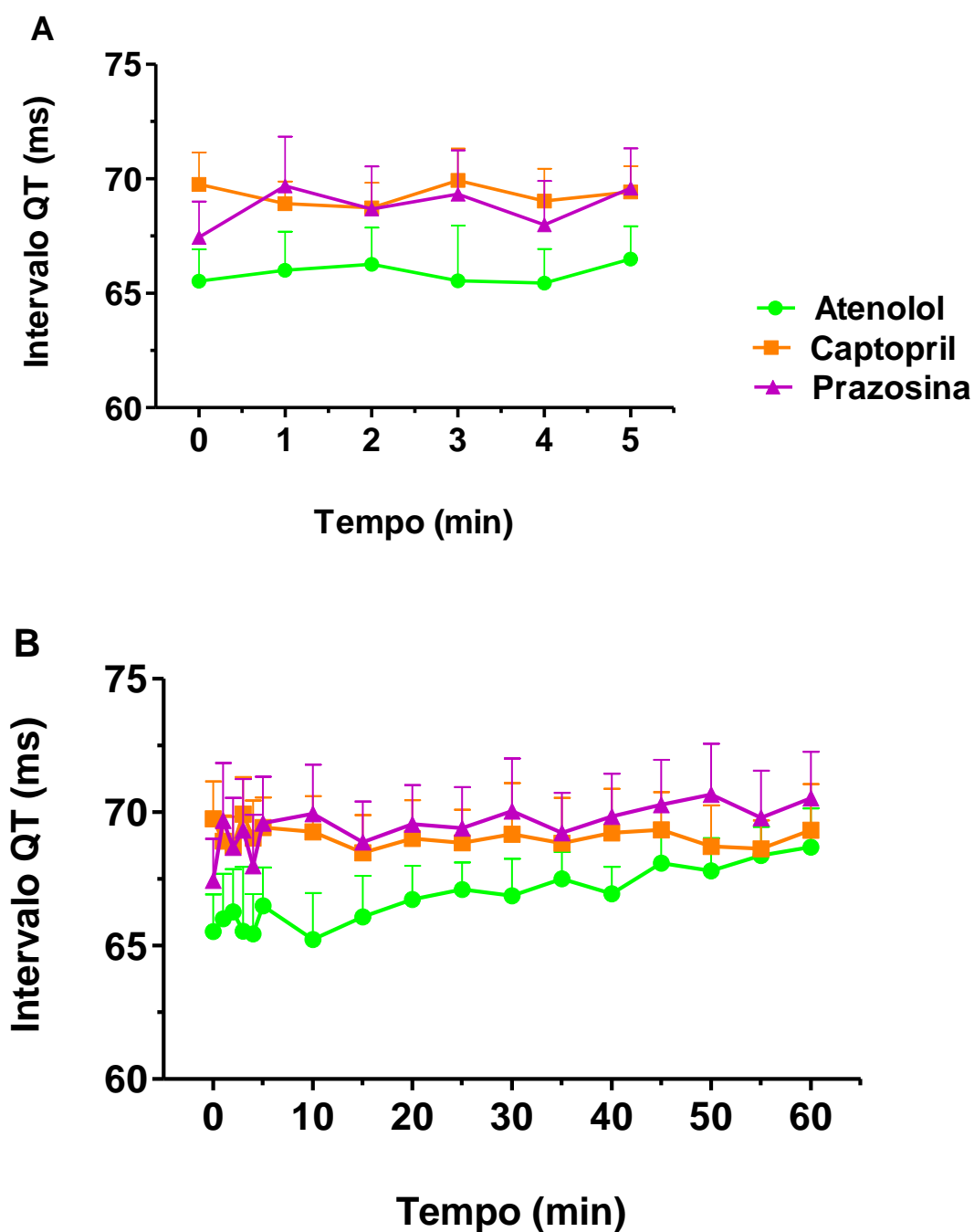


Figura 16: Valores absolutos do intervalo QT do ECG de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

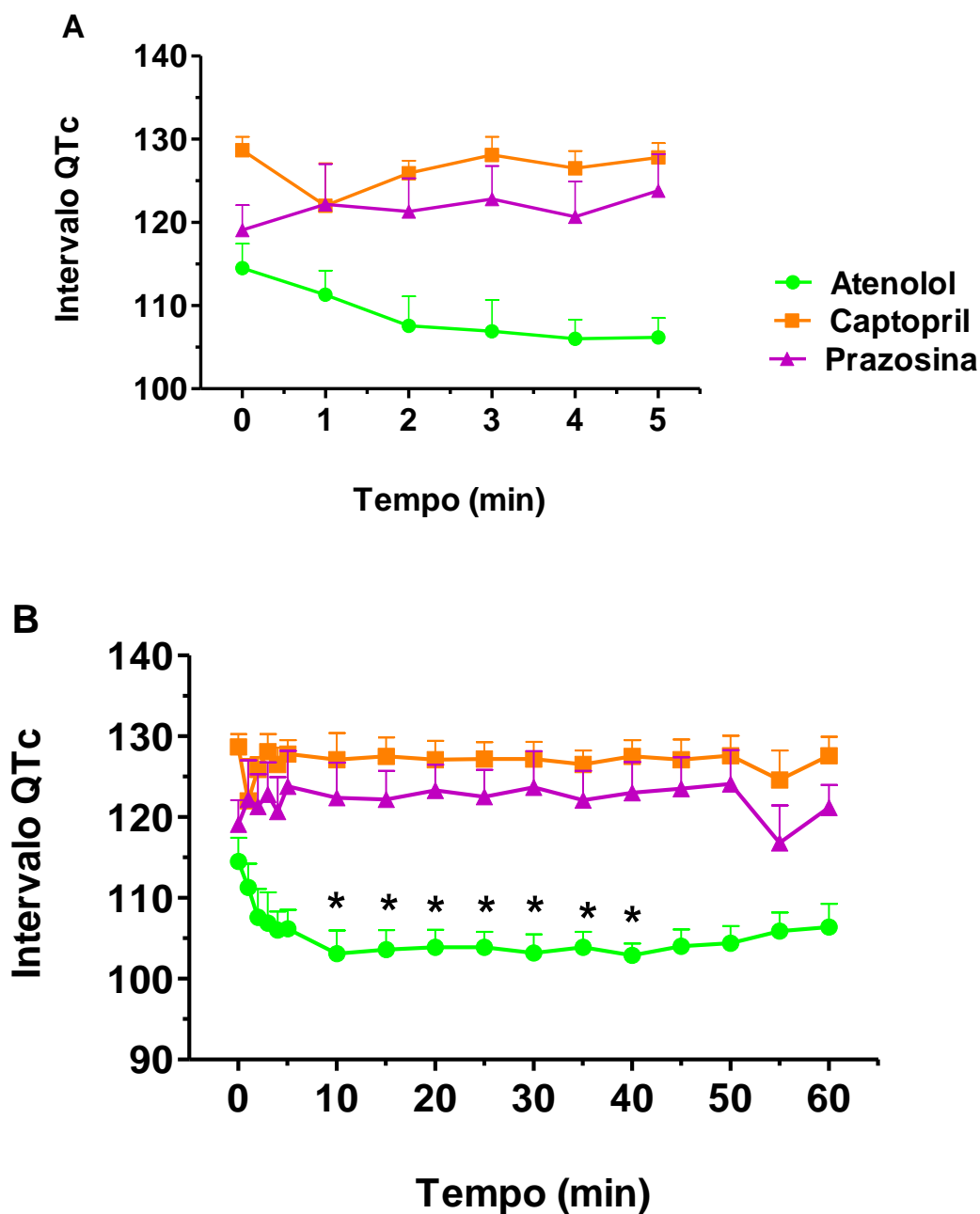


Figura 17: Valores absolutos do intervalo QTc do ECG de animais tratados previamente com extrato de *L. trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração I.V. de atenolol (n=6), captopril (n=6) ou prazosina (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação que corresponde ao tempo de 4 a 5 horas após a administração oral do extrato bruto de *L. trichocarpha*. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao tempo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

5.3- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico

5.3.1- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico quanto a parâmetros hemodinâmicos e do ECG

Para a avaliação hemodinâmica nos animais previamente tratados com *L-NAME*, um inibidor da síntese de NO, 6 meses após o final do tratamento, foram obtidos os parâmetros PAS, PAD, $PVE_{máx}$, PVEDF e DP e os intervalos do ECG na derivação DII. Não foram observadas alterações dos parâmetros PAS, PAD, FC e DP (figura 18), $PVE_{máx}$ e PVEDF (figura 19) e complexo QRS (figura 20). Para os intervalos PR, QT e QTc a inibição prévia da síntese do NO induziu a reduções significativas quando comparado ao grupo controle (figura 20).

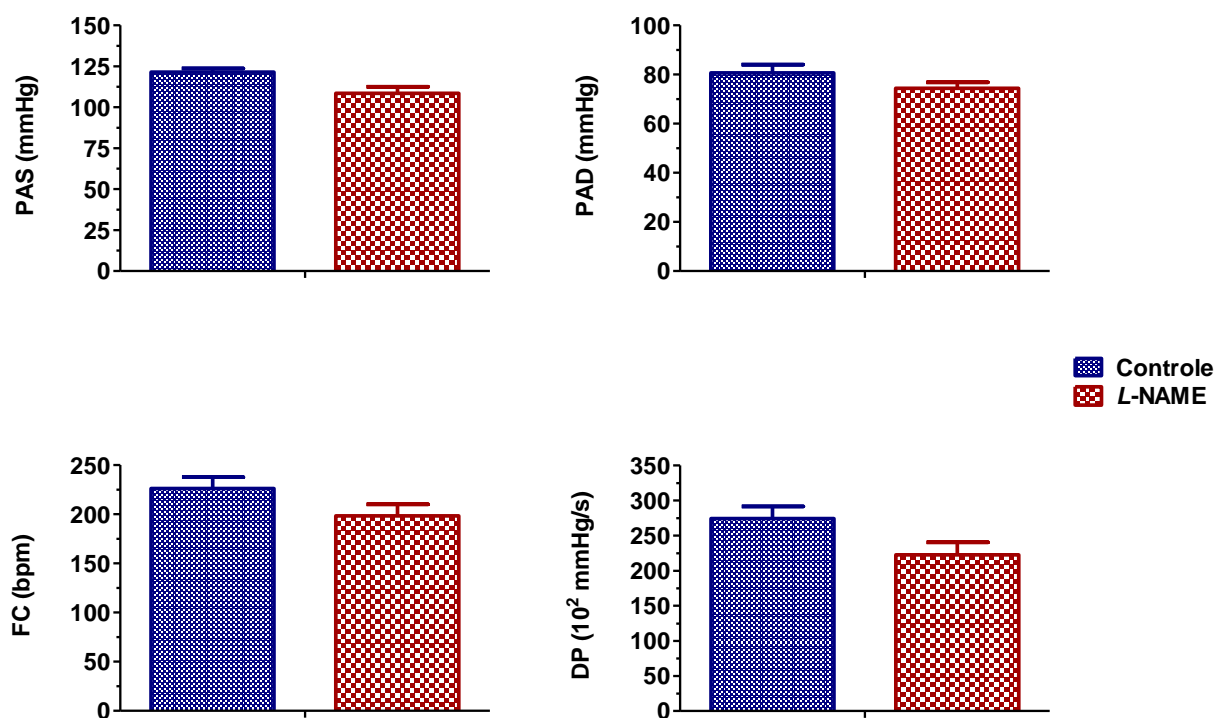


Figura 18: Valores absolutos de PAS, PAD, FC e DP do grupo controle (n=10) e do grupo tratado previamente com *L-NAME* (n=24). Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

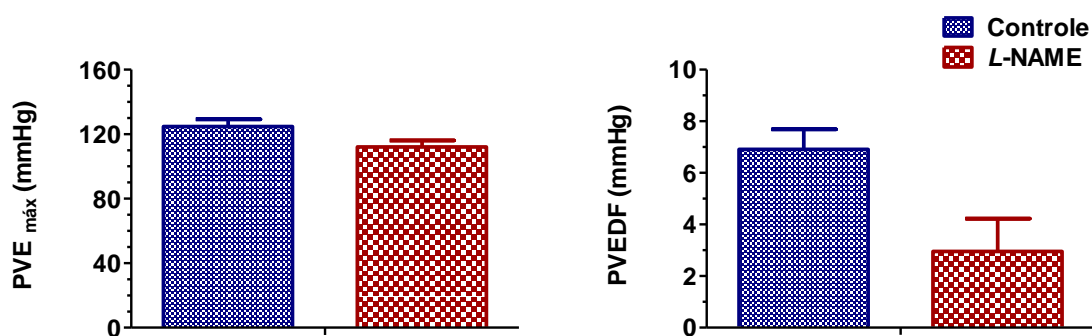


Figura 19: Valores absolutos de PVE_{máx} e PVEDF do grupo controle (n=8) e do grupo tratado com L-NAME (n=24). Os valores representam a média ± e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

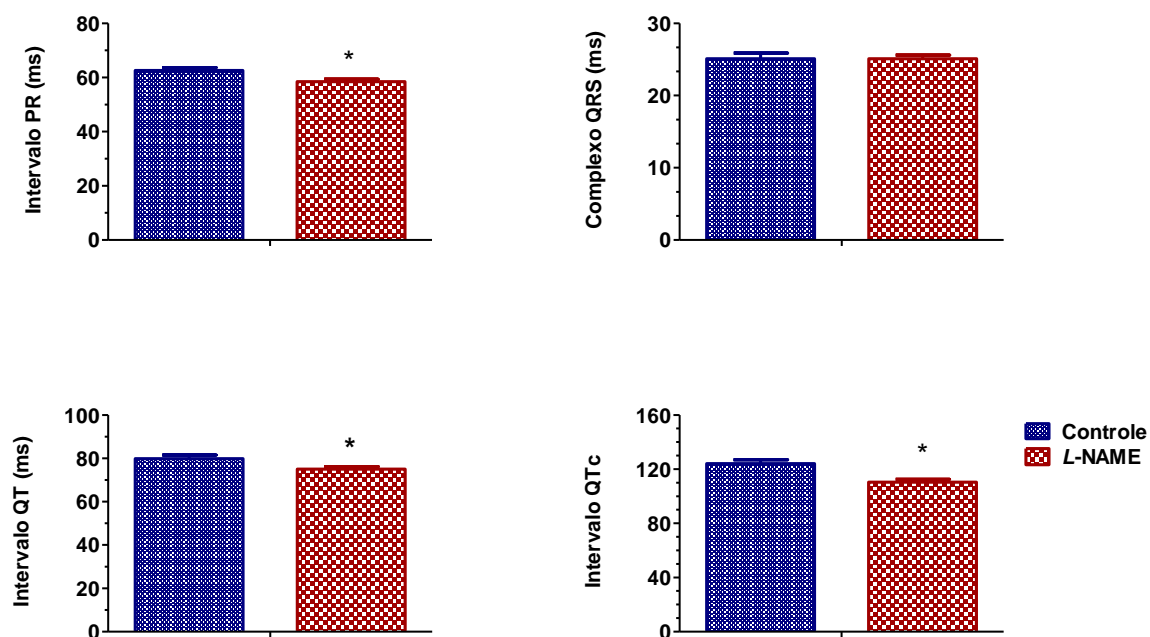


Figura 20: Valores absolutos do intervalo PR, QT e QTc e complexo QRS do grupo controle (n=10) e do grupo tratado com L-NAME (n=24). Os valores representam a média ± e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

5.3.2- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico quanto a parâmetros hematológicos e bioquímicos

Os parâmetros hematológicos obtidos estão apresentados na tabela I. Não foram observadas diferenças significativas no hemograma do grupo previamente tratado com o inibidor da síntese do NO quando comparado ao grupo controle, exceto para as plaquetas, para o qual foi observado redução no grupo previamente tratado.

Não foram observadas diferenças significativas na análise de creatinina e ureia entre os grupos (tabela II).

Tabela I: Parâmetros hematológicos obtidos nos grupos controle e tratados com *L*-NAME.

Parâmetros	Controle	<i>L</i> -NAME
Hemácia ($10^3/\text{mm}^3$)	$6,0 \pm 0,61$	$6,0 \pm 0,12$
Hemoglobina (g/dl)	$12,3 \pm 1,27$	$12,3 \pm 0,20$
Hematócrito (%)	$26,5 \pm 2,93$	$26,2 \pm 0,84$
Leucócitos Totais ($/\text{mm}^3$)	$6,7 \pm 1,08$	$7,9 \pm 0,66$
Linfócitos (%)	$66,8 \pm 5,09$	$72,3 \pm 5,13$
Neutrófilo (%)	$23,7 \pm 6,25$	$23,3 \pm 4,58$
Monócito (%)	$2,7 \pm 0,95$	$2,3 \pm 0,61$
Eosinófilo (%)	$1,0 \pm 1,03$	$1,3 \pm 0,95$
Bastonete (%)	$0,7 \pm 0,42$	$0,3 \pm 0,33$
Basófilo (%)	$0,0 \pm 0,00$	$1,0 \pm 0,45$
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	$258,9 \pm 30,62$	$226,7 \pm 14,55^*$

Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

Tabela II: Parâmetros bioquímicos obtidos nos grupos controle e tratados com *L*-NAME.

Parâmetros	Controle	<i>L</i> -NAME
Creatinina (mg/dl)	0,3 ± 0,04	0,3 ± 0,03
Ureia (mg/dl)	47,6 ± 3,71	45,5 ± 4,06

Os valores representam a média ± e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

5.3.3- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico quanto peso cardíaco úmido

Para a avaliação da possível hipertrofia cardíaca, os animais foram pesados no momento dos experimentos (peso final 6 meses após o término do tratamento) e ao final dos experimentos foram eutanasiados, o coração foi removido, sendo mensurado o peso úmido. Foi calculada a relação entre peso cardíaco e o peso corporal para os grupos controle e tratados com o inibidor da síntese do NO.

Foi observado que o peso corporal dos animais tratados com *L*-NAME foi significativamente maior que dos animais do grupo controle (figura 21 A). Apesar do menor peso corporal dos animais do grupo controle, estes mostraram peso cardíaco semelhante aos animais do grupo *L*-NAME (figura 21 B). Assim, a relação entre o peso cardíaco e peso corporal foi significativamente menor no grupo *L*-NAME (figura 21 C).

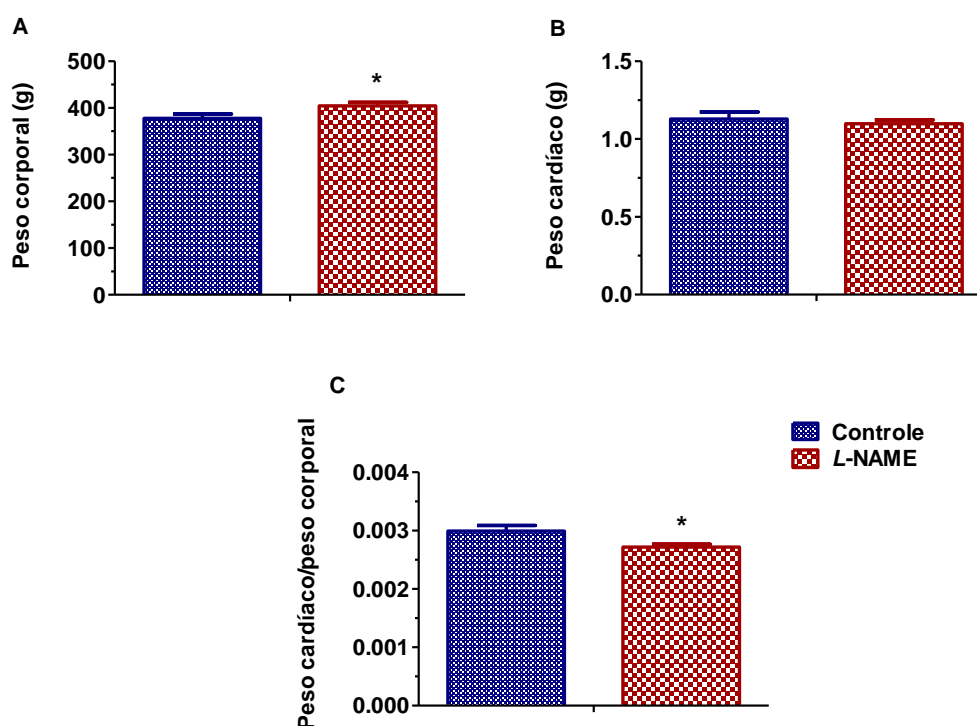


Figura 21: Valor absoluto do peso corporal (A), peso cardíaco úmido (B), e da relação entre o peso cardíaco e corporal (C) do grupo controle (n=10) e do grupo tratado com *L-NAME* (n=24). Os valores representam a média \pm e.p.m.* Diferença significativa em relação ao grupo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste t de *student*.

5.3.4- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico quanto a parâmetros histológicos

Para quantificação de possível processo inflamatório, foram capturadas 20 imagens do ventrículo esquerdo cardíaco corado pela HE. As imagens foram capturadas de forma aleatória e as células quantificadas, sendo os resultados expressos em números médios de núcleos celulares por grupo (figura 22). Foram observadas reduções significativas no número de núcleos celulares nos grupos tratados com *L-NAME* em relação ao grupo controle (figura 22 e 24). Também foram observadas reduções significativas do número de núcleos celulares dos animais *L-NAME* que receberam eremantolida C 3 mg/kg ou digitoxina 0,3 mg/kg em relação aos animais *L-NAME* que receberam salina (figura 22). Entre os animais do grupo controle não foram observadas diferenças significativas.

Para avaliação de possível fibrose, foram capturadas 20 imagens do ventrículo esquerdo cardíaco coradas pelo Tricrômico de Masson. As imagens foram capturadas de forma aleatória e os pixels com tons de azul foram selecionados para a criação de uma imagem binária e posterior cálculo da área total ocupada por colágeno, sendo os resultados expressos em área média de colágeno por grupo (figura 23). Foi observado aumento significativo na área de colágeno no grupo de animais tratados com *L*-NAME (figura 23 e 24) que receberam posteriormente digitoxina 0,3 mg/kg em relação aos grupos controles que receberam salina e eremantolida C 10 mg/kg (figura 23). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controles e em relação aos demais grupos tratados previamente com *L*-NAME.

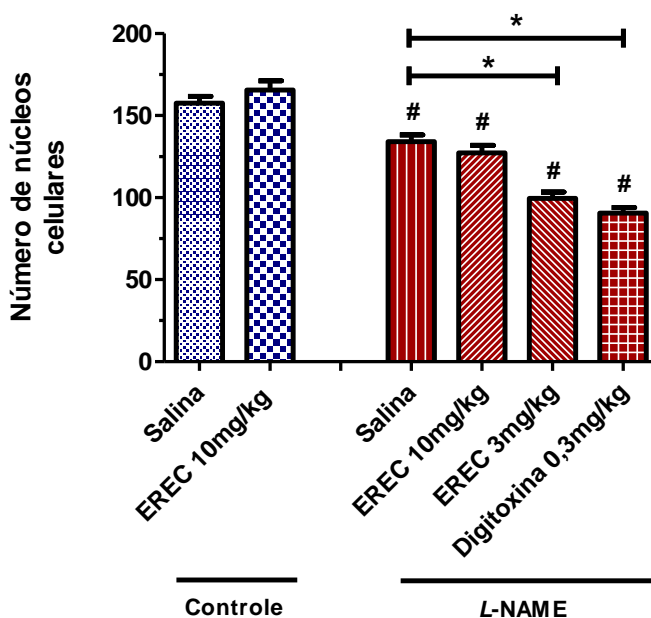


Figura 22: Número médio de núcleos celulares dos grupos controles (n=6) e dos grupos tratados com *L*-NAME (n=12). # Diferença significativa em relação aos grupos controle. * Diferença significativa entre os grupos tratados. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

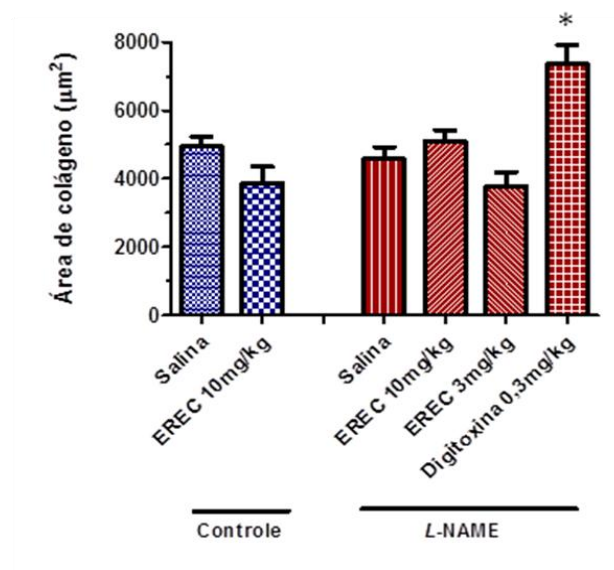


Figura 23: Valor médio da área de colágeno dos grupos controles (n=6) e dos grupos tratados com *L-NAME* (n=12). Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa entre relação aos demais grupos. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

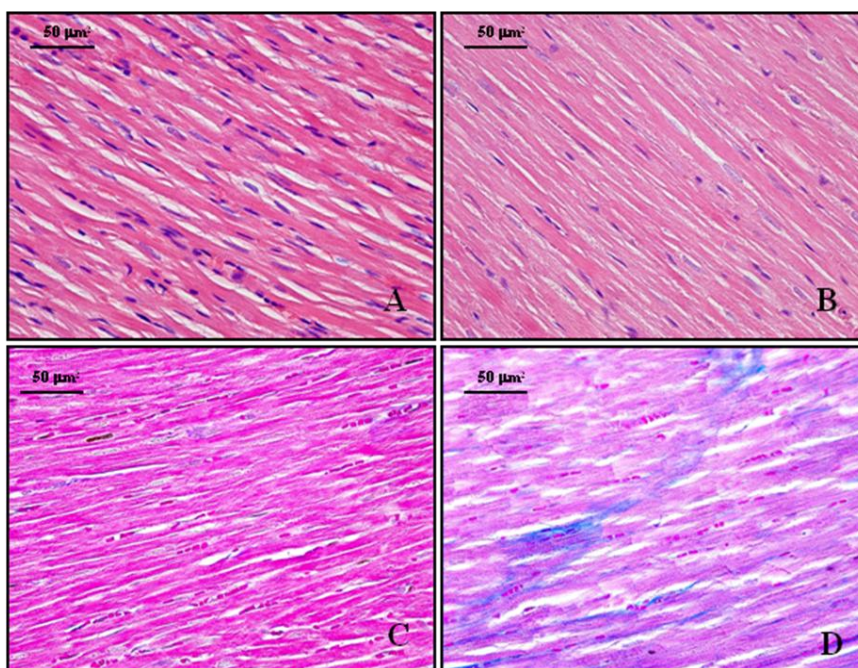


Figura 24: Fotomicrografia de cortes histológicos do ventrículo esquerdo pertencentes ao grupo controle (A e C) e tratados previamente com *L-NAME* (B e D). Observa-se maior número de núcleos celulares no grupo controle (A) e menor número de núcleos celulares no grupo tratado com *L-NAME* (B). Observa-se aumento de deposição de colágeno no grupo tratado com *L-NAME* (D) e menor deposição no grupo controle (C). A e B: Hematoxilina-Eosina. C e D: Tricromo de Masson, 40X, barra = $50\mu\text{m}^2$.

5.4- Avaliação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* da eremantolida C em animais controles e submetidos previamente à inibição da síntese de óxido nítrico

A administração de eremantolida C 10 mg/kg e digitoxina 0,3 mg/kg tiveram perfis de respostas semelhantes para PAS (figura 25) e PAD (figura 26) nos animais tratados com *L*-NAME, somente nos primeiros minutos após a administração I.V.

A administração de digitoxina 0,3 mg/kg nos animais tratados induziu ao aumento da PAS (95 mmHg-tabela XI em anexo) em 1 e 2 minutos quando comparado aos grupos: *L*-NAME salina e *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 25 A). Em relação ao grupo *L*-NAME salina esse aumento foi observado novamente 120 minutos após a administração e em relação ao grupo *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg novo aumento foi observado, a partir de 60 minutos até o final do experimento (figura 25 B). A administração de digitoxina 0,3 mg/kg também induziu aumento significativo da PAS (68 mmHg-tabela XII em anexo) nos animais tratados com *L*-NAME 120 minutos após sua administração em relação ao grupo *L*-NAME eremantolida C 10 mg/kg (figura 25 B). A administração de eremantolida C 10 mg/kg induziu ao aumento significativo da PAS (114 mmHg-tabela XI em anexo) em 1 e 2 minutos quando comparado aos grupos *L*-NAME salina e Controle eremantolida C 10 mg/kg e até 4 minutos quando comparado ao grupo *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 25 A).

O efeito da administração de digitoxina 0,3 mg/kg na PAD dos animais tratados foi semelhante nos minutos iniciais observado para PAS. Para o segundo aumento observado, em relação ao grupo *L*-NAME salina esse aumento foi em 100 e 120 minutos após a administração e em relação ao grupo *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg foi observado, a partir de 80 minutos até o final do experimento. A administração da eremantolida C 10 mg/kg para PAD (72 mmHg-tabela XII em anexo) foi observado aumento em 1 e 2 minutos quando comparado aos grupos *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg e 1, 2 e 4 minutos quando comparado ao grupo *L*-NAME salina (figura 26 B).

A administração de digitoxina 0,3 mg/kg nos animais tratados com *L*-NAME induziu ao aumento da FC (189 bpm-tabela XIII em anexo) de 80 a 120 minutos quando comparado ao grupo *L*-NAME salina e em 100 e 120 minutos quando comparado ao grupo *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 27 B). A administração da eremantolida C 10 mg/kg também aumentou a FC (151 bpm-tabela XII em anexo) dos animais tratados previamente com *L*-

NAME nos tempos 100 e 120 minutos, quando comparado com o grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg (figura 27 B).

A administração de digitoxina 0,3 mg/kg e eremantolida C 10 mg/kg nos animais tratados com *L*-NAME induziu ao aumento da $PVE_{máx}$ (tabela XIV em anexo) nos primeiros 2 minutos após a administração, quando comparado aos grupos: *L*-NAME salina e *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 28 A). Para a digitoxina novo aumento foi observado a partir de 60 minutos e se manteve até o final do experimento (figura 28 B). Para a administração de eremantolida C 10 mg/kg esse aumento foi observado até 4 minutos e em 1 minuto após sua administração foi observado um aumento significativo em relação ao grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg (figura 28 A). Não foram observadas diferenças na PVEDF entre os grupos em nenhum dos tempos avaliados (figura 29 A e B).

Para o DP, índice que avalia indiretamente o consumo de oxigênio pelo miocárdio, a digitoxina 0,3mg/kg induziu ao aumento significativo em 1 e 2 minutos após sua administração quando comparado ao grupo *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 30 A) e de 60 minutos até o final do experimento quando comparado aos grupos: *L*-NAME salina e *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 30 B). A eremantolida C nas doses avaliadas não induziu a alterações significativas nesse índice (figura 30).

Para os parâmetros do ECG, não foram observadas alterações significativas do intervalo PR e do complexo QRS (figura 31 e 32). Para o intervalo QT, foi observado um aumento em 1 e 2 minutos após a administração da eremantolida C 10 mg/kg nos animais tratados previamente com *L*-NAME quando comparados aos animais dos grupos: *L*-NAME salina e *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 33 A). Para o índice QTc, a digitoxina provocou aumento significativo nos animais tratados com *L*-NAME a partir de 60 minutos até o final do experimento em relação ao grupo *L*-NAME salina (figura 34 B). Esse aumento foi significativo em 80 e 120 minutos em relação ao grupo *L*-NAME eremantolida C 10 mg/kg e de 80 a 120 minutos em relação a *L*-NAME eremantolida C 3 mg/kg (figura 34 B). Não foram observadas diferenças significativas para esse índice em nenhum dos grupos que recebeu eremantolida C 10 mg/kg.

Para os grupos de animais controle (Controle salina e Controle eremantolida C 10 mg/kg), ou seja, sem tratamento prévio, não foram observadas alterações significativas em nenhum dos parâmetros avaliados. O mesmo aconteceu com os grupos que receberam

tratamento prévio com inibidor da síntese de NO, *L-NAME* salina e *L-NAME* eremantolida C 3 mg/kg. Em nenhum dos parâmetros cardiovasculares a administração da eremantolida C na menor dose avaliada, 3 mg/kg, foi capaz de induzir alterações significativas nos grupos avaliados (tratado previamente com *L-NAME*).

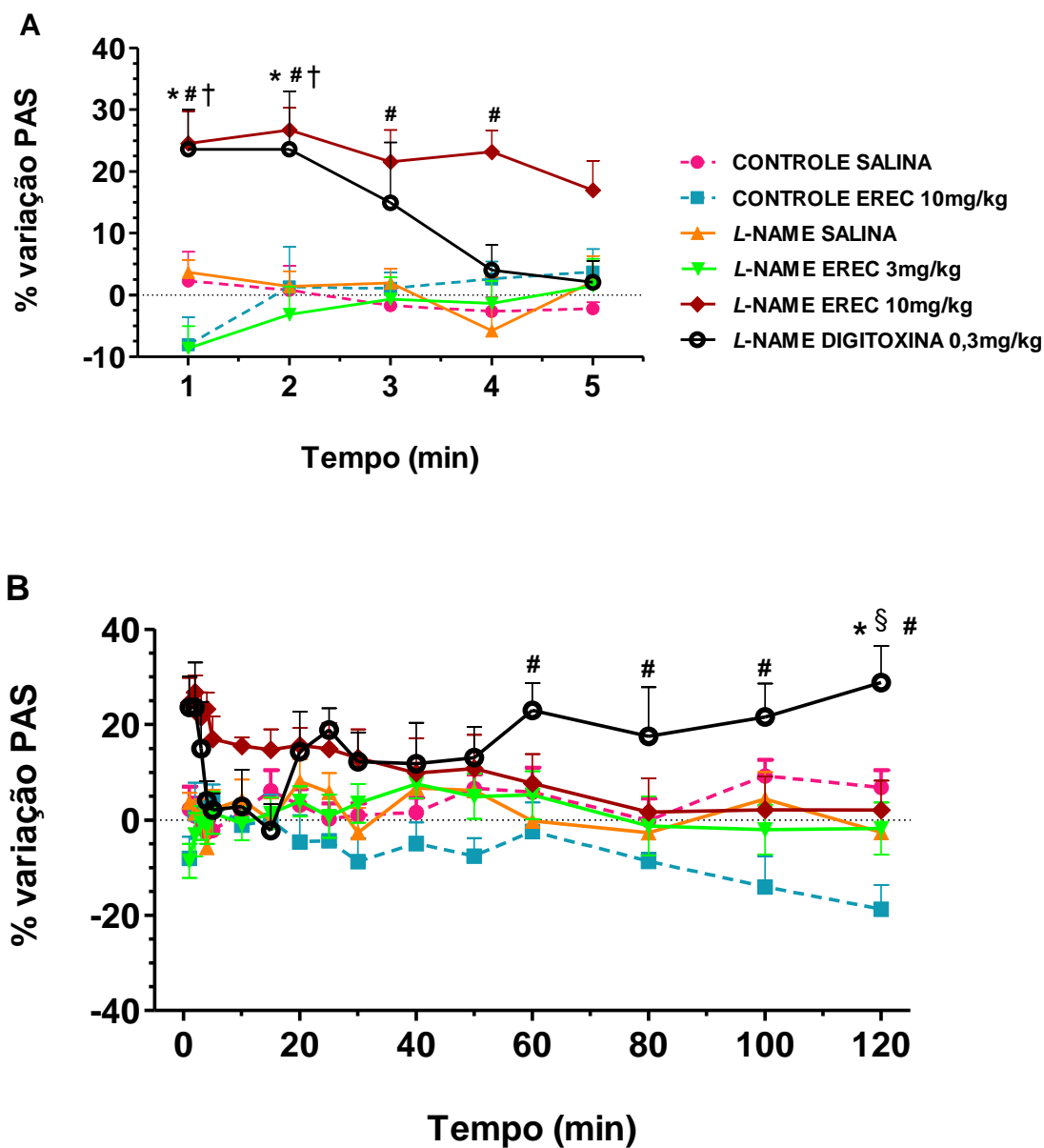


Figura 25: Variação percentual da PAS de animais sem tratamento prévio até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=5) ou eremantolida C (EREC) 10 mg/kg (n=5) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. § Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 10 mg/kg. † Diferença significativa em relação ao grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

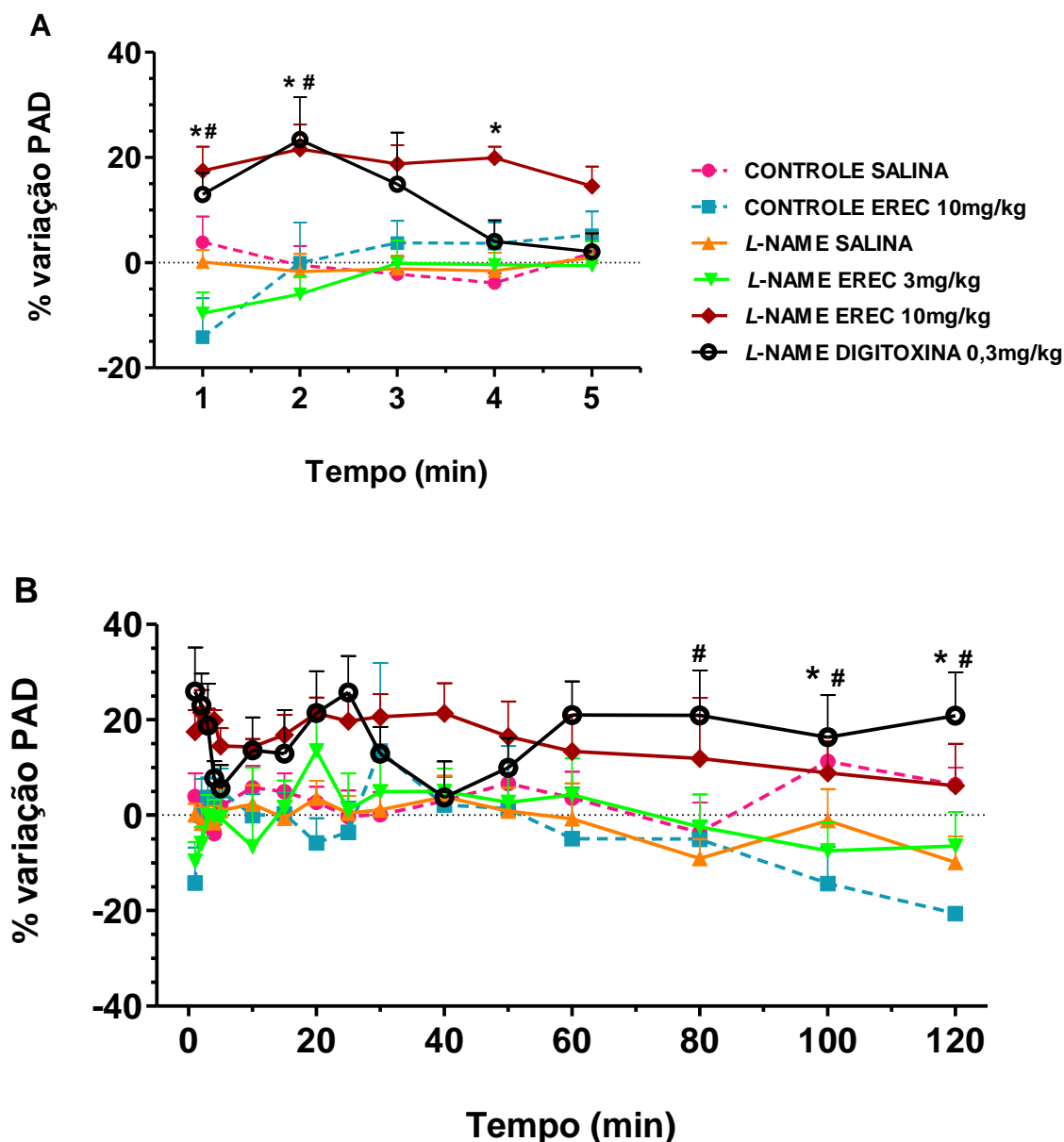


Figura 26: Variação percentual da PAD de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=5) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=5) e de animais tratados com L - NAME até 120 minutos após administração de salina, eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). Em destaque, os 5 minutos iniciais após a administração. (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

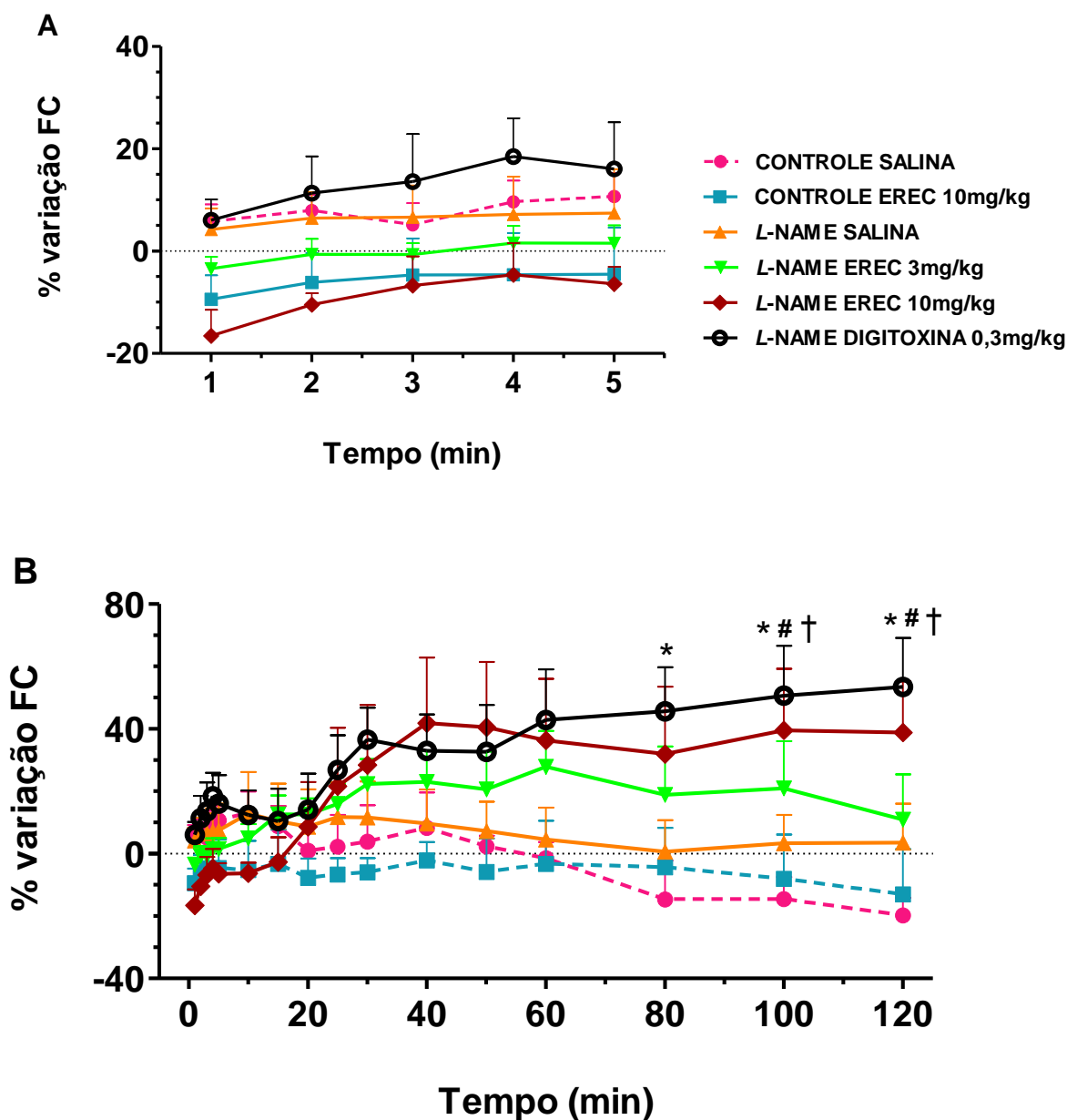


Figura 27: Variação percentual da FC de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina, eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. † Diferença significativa em relação ao grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg. P < 0,05 – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

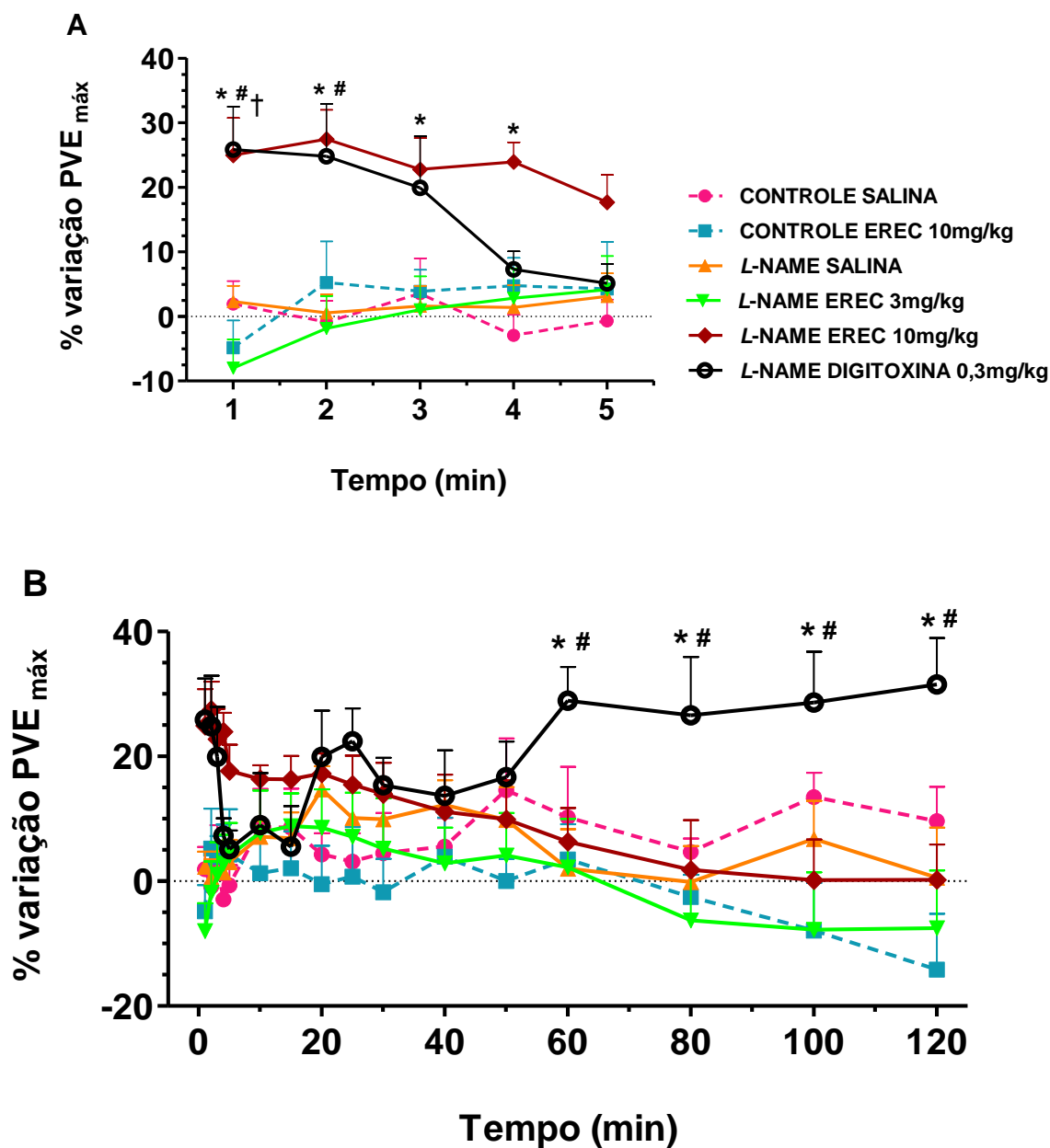


Figura 28: Variação percentual da PVE_{máx} de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo tratado com L-NAME após a administração de salina. # Diferença significativa em relação ao grupo tratado após administração de eremantolida C 3 mg/kg. † Diferença significativa em relação ao grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg. P < 0,05 – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

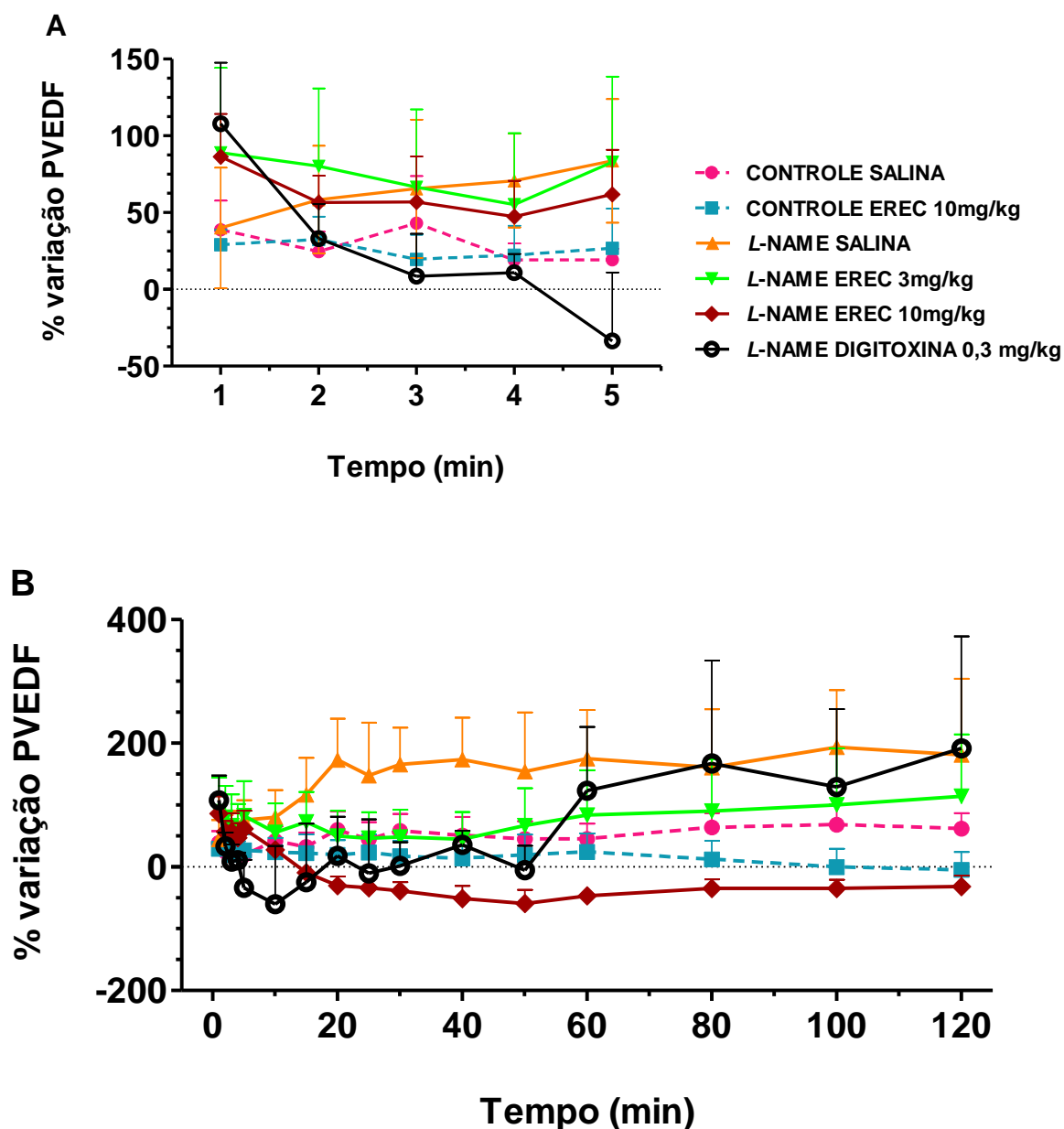


Figura 29: Variação percentual da PVEDF de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

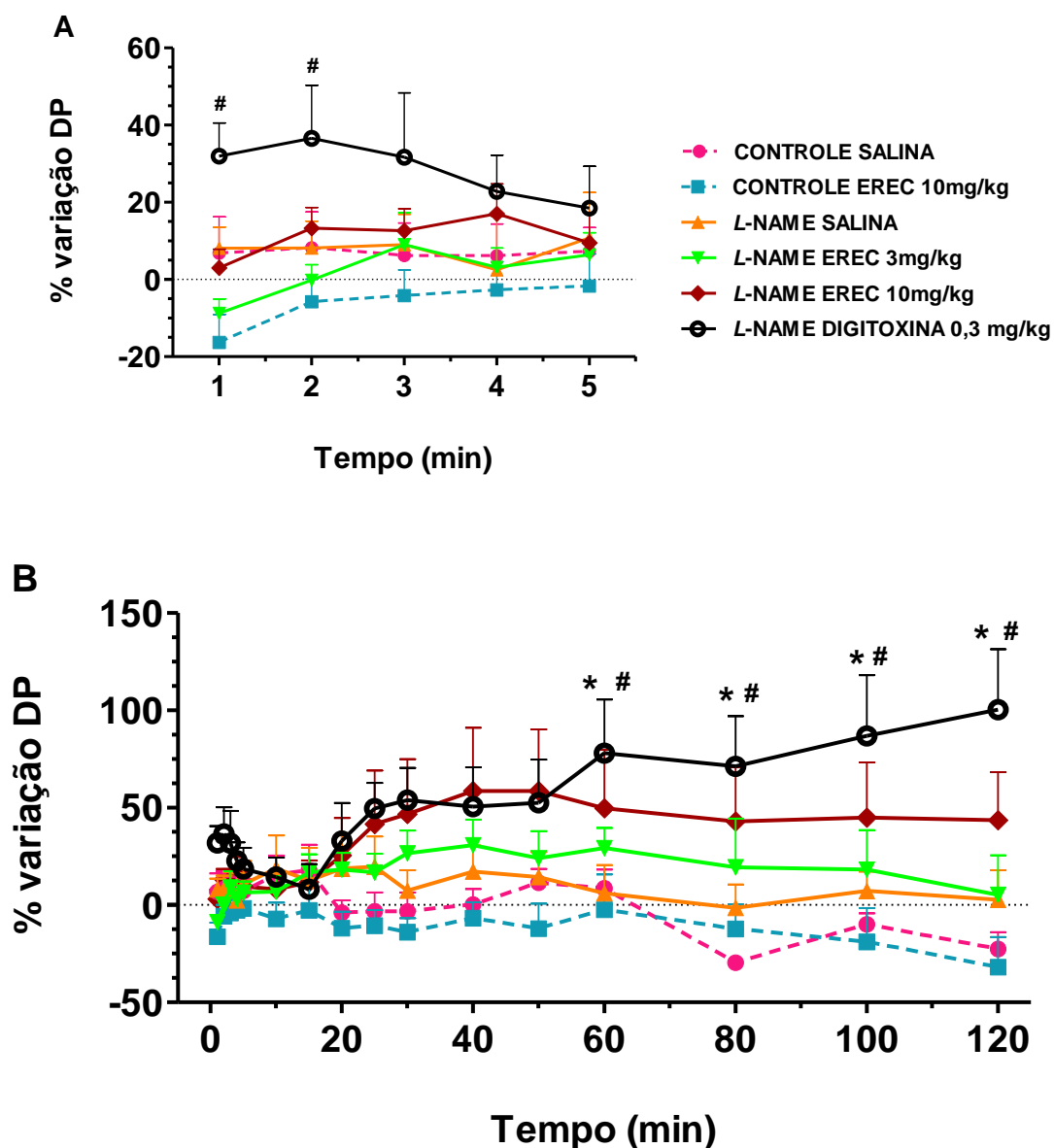


Figura 30: Variação percentual do DP de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. * Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

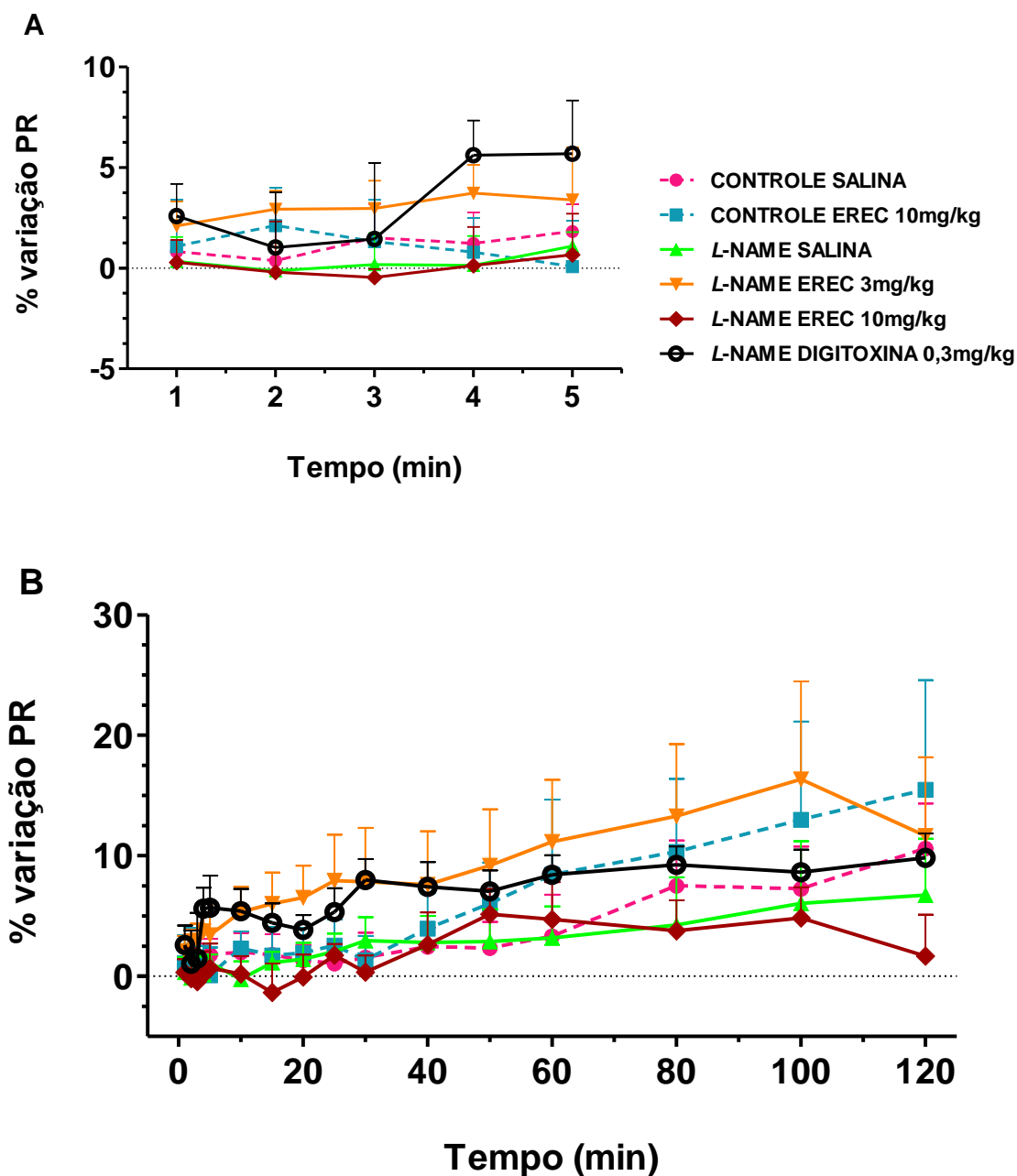


Figura 31: Variação percentual do intervalo PR de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

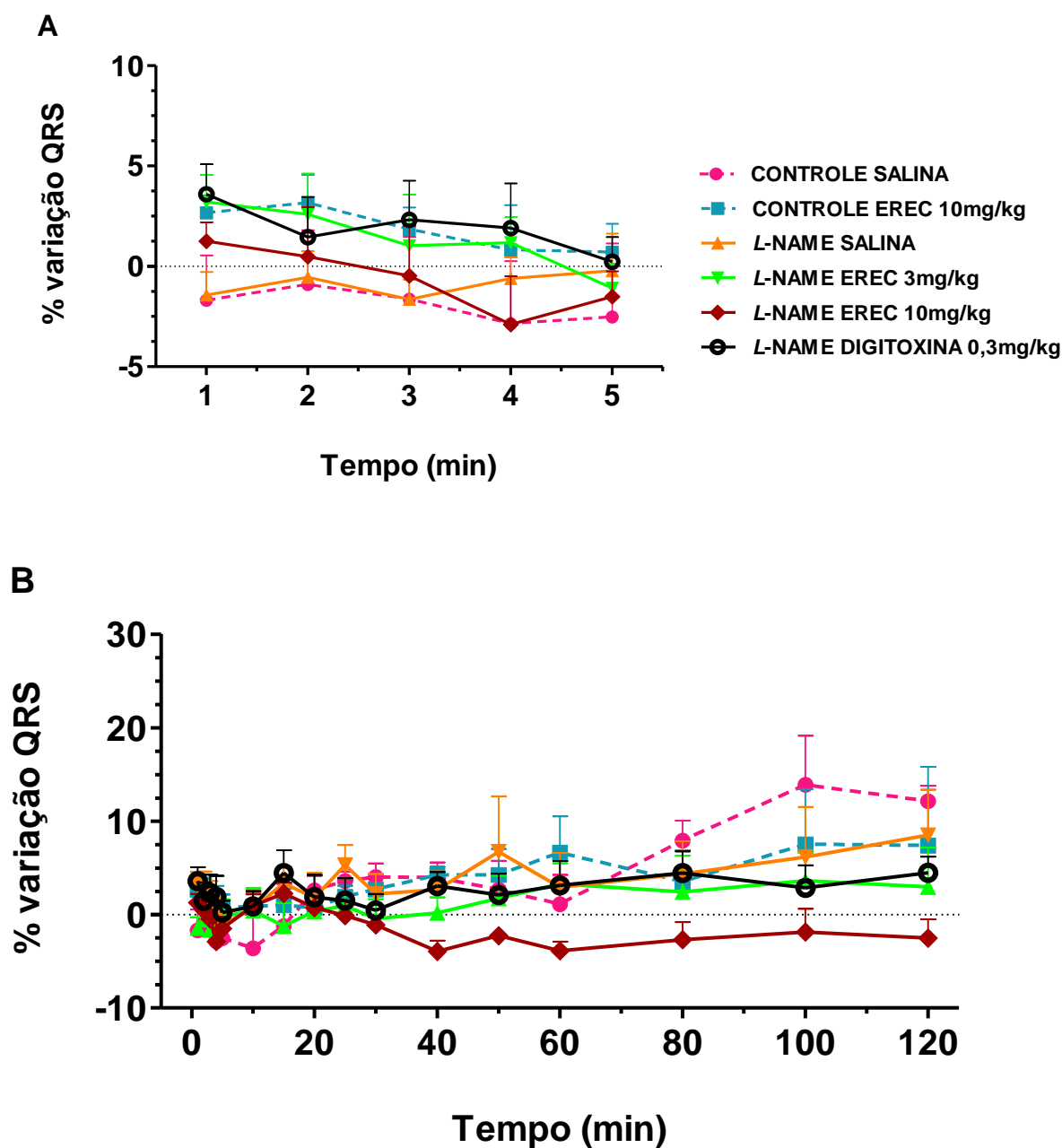


Figura 32: Variação percentual do complexo QRS de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

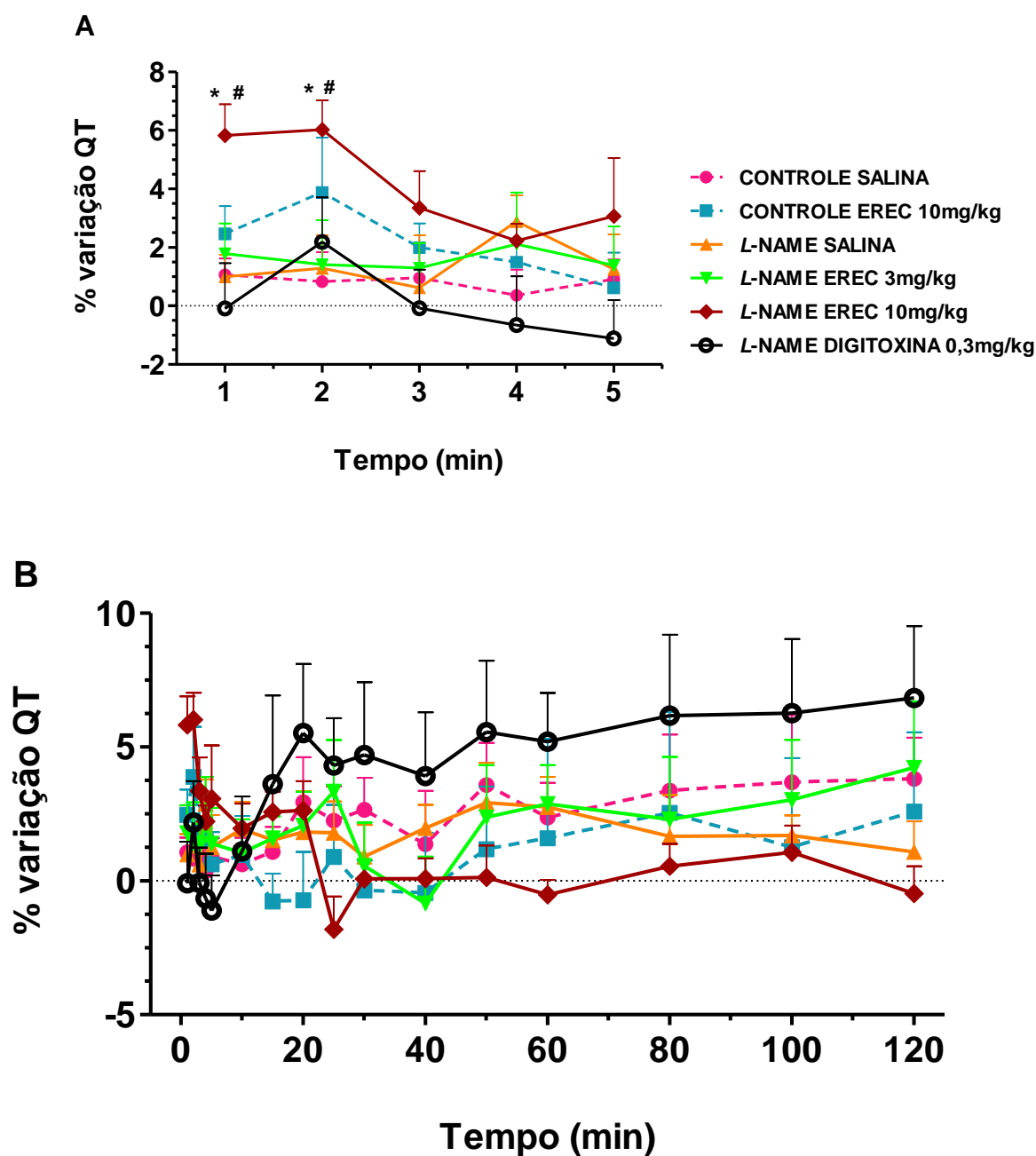


Figura 33: Variação percentual do intervalo QT de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10mg/kg (n=6) e de animais tratados com L-NAME até 120 minutos após administração de salina, eremantolida C 3 mg/kg (n=6), eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=7). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m.* Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

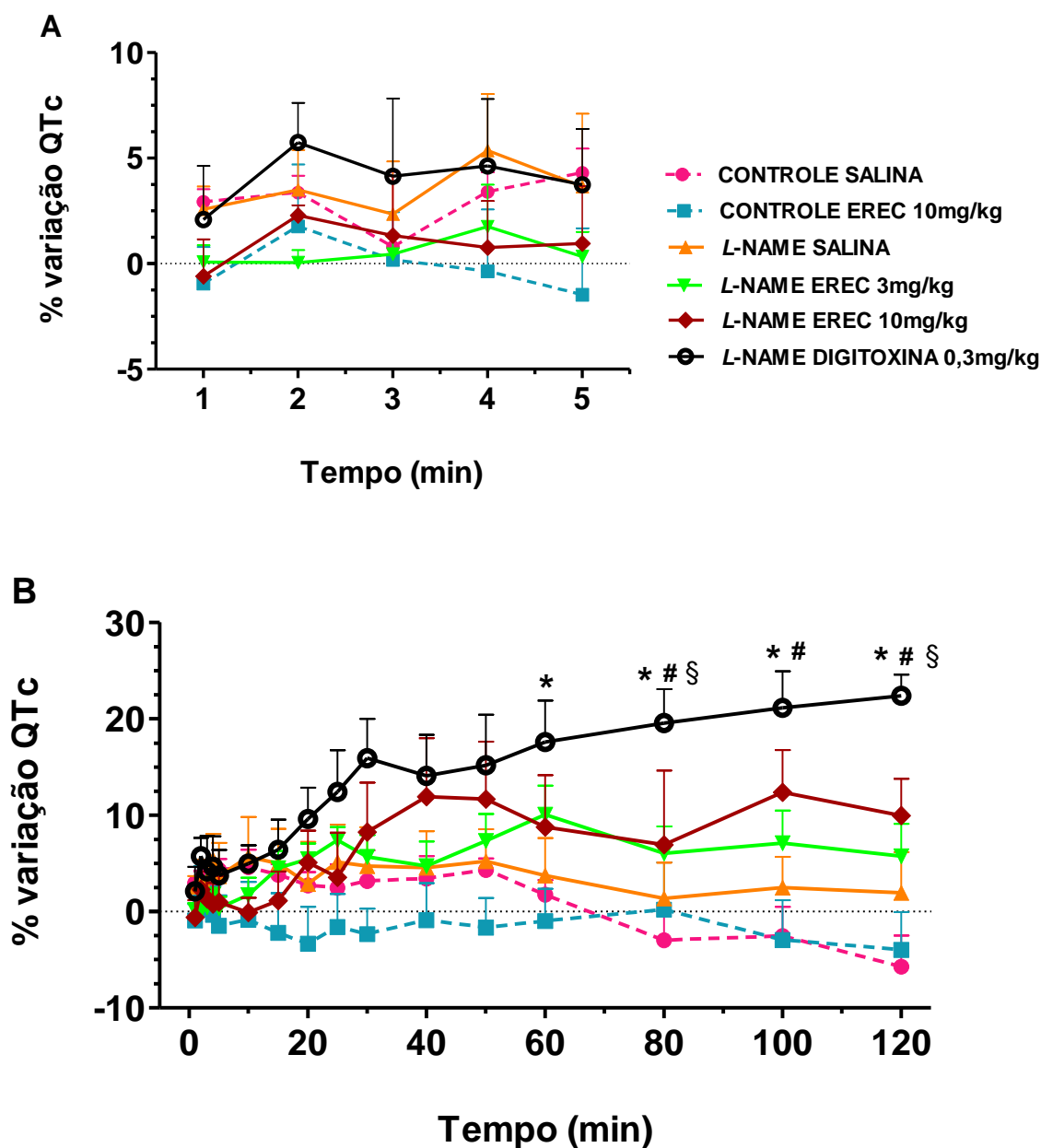


Figura 34: Variação percentual do intervalo QTc de animais sem tratamento até 120 minutos após a administração I.V. de salina (n=6) ou eremantolida C (EREC) 10 mg/kg (n=6) e de animais tratados com L - NAME até 120 minutos após administração de salina (n=6), eremantolida C 3 mg/kg (n=6) eremantolida C 10 mg/kg (n=6) ou digitoxina 0,3 mg/kg (n=6). (A) 5 minutos iniciais após a administração; (B) tempo total de observação. Os valores representam a média \pm e.p.m. * Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME salina. # Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 3 mg/kg. § Diferença significativa em relação ao grupo L-NAME eremantolida C 10 mg/kg. † Diferença significativa em relação ao grupo Controle eremantolida C 10 mg/kg. P < 0,05 – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

5.4.1- Avaliação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* da eremantolida C em animais controle e submetidos previamente à inibição da síntese do óxido nítrico e seguida de hiperatividade simpática

Para a avaliação da potencial atividade cardioprotetora da eremantolida C, foram administradas doses de 1, 3 e 10 µg/kg de NA, para induzir à hiperatividade simpática periférica, antes e após 15 e 60 minutos da administração de eremantolida C (10 mg/kg) em um grupo de animais controle e em um grupo de animais tratados previamente com L-NAME.

Nos animais controle a estimulação simpática com NA 1 µg/kg provocou aumento significativo máximo de 68 % da PAS e 65 % da PAD antes da administração da eremantolida C. Após a administração da eremantolida C a estimulação com NA 1 µg/kg provocou aumento significativo de 40 e 21 % da PAS e 39 e 14 % da PAD após 15 e 60 minutos, respectivamente (figura 35).

A administração de NA 3 µg/kg levou ao aumento máximo de 78 % da PAS e 73 % da PAD. Após a administração da eremantolida C, esse aumento foi de 56 e 46 % da PAS e 50 e 36 % da PAD após 15 e 60 minutos, respectivamente (figura 35).

Para administração de NA 10 µg/kg antes da administração da eremantolida C, foi observado aumento significativo de 85 % da PAS e 79 % da PAD. Após 15 minutos da administração da eremantolida C, a NA 10 µg /kg provocou aumento de 47 % da PAS e 43 % da PAD e 60 minutos após a administração da eremantolida C, provocou aumento de 55 % da PAS e 43 % da PAD (figura 35).

Nos demais parâmetros avaliados (FC, intervalo QT e QTc) as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas, mas foram relevantes (figura 36). A administração de NA 10 µg/kg induziu a uma redução de 24 % da FC antes da administração da eremantolida C e de 9 % 60 minutos após a administração da eremantolida C (tabela XXIII em anexo). Para o intervalo QT, antes da administração da eremantolida C a NA 10 µg/kg induziu ao aumento de 15 % desse intervalo, mas após 15 minutos da administração da eremantolida C esse aumento foi de apenas 3 % (tabela XXIII em anexo). Para o intervalo QTc, antes da administração da eremantolida C, o maior aumento observado foi de 11 % induzido pela NA 1 µg/kg e 15 minutos após a administração da eremantolida C esse aumento foi de 6 % (tabela XXIII em anexo).

Nos animais tratados com *L-NAME* a estimulação simpática com NA 1 µg/kg causou aumento significativo de 55 % da PAS antes da administração de eremantolida C. No entanto, a NA 1 µg/kg não foi capaz de provocar alterações significativas nos níveis pressóricos após a administração da eremantolida C em nenhum dos tempos avaliados (figura 37).

Antes da administração da eremantolida C, a estimulação simpática de NA 3 µg/kg levou ao aumento significativo de 78 % da PAS e 71 % da PAD, semelhante ao observado para os animais sem inibição prévia da síntese do NO. Após a administração da eremantolida C, os aumentos induzidos pela NA 3 µg/kg foram de 58 e 48 % para PAS, 15 e 60 minutos, respectivamente (figura 37) e para PAD não foi observado aumento significativo após nenhuma das doses de NA.

Para administração de NA 10 µg/kg antes da administração da eremantolida C, foi observado aumento significativo de 84 % da PAS e 75 % da PAD, semelhante ao observado para os animais sem inibição prévia da síntese do NO. A NA 10 µg/kg provocou aumento significativo de 61 e 70 % da PAS, 15 e 60 minutos após a administração da eremantolida C. Não foram observadas diferenças significativas induzidas pela NA da PAD após a administração da eremantolida C (figura 37).

Nos demais parâmetros avaliados (FC, intervalo QT e QTc) as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas, mas foram relevantes (figura 38). Antes da administração da eremantolida C a NA 10 µg/kg induziu a uma redução de 5 % da FC e após 15 minutos da administração da eremantolida C essa redução foi de 22 % (tabela XXIV em anexo). Para o intervalo QT, antes da administração da eremantolida C o aumento mais relevante foi de 13 % induzido pela NA 10 µg/kg e após 60 minutos da administração da eremantolida C esse aumento foi de 10 % (tabela XXIV em anexo). Para o índice QTc, antes da administração da eremantolida C, a NA 3 µg/kg induziu a um aumento de 12 % desse índice e após 15 minutos da administração da eremantolida C, o aumento foi de 4 % (tabela XXIV em anexo).

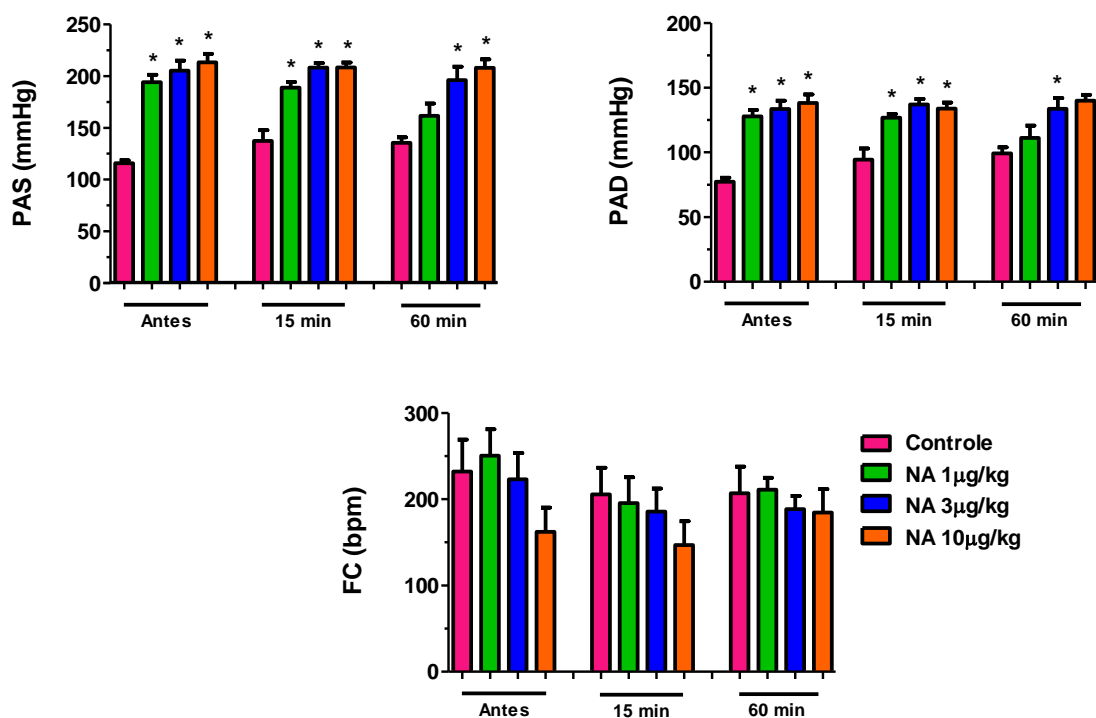


Figura 35: Valores absolutos de PAS, PAD e FC do grupo controle (n=5) após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg. * Diferença significativa em relação ao tempo controle. Os valores representam a média ± e.p.m. P < 0,05 – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

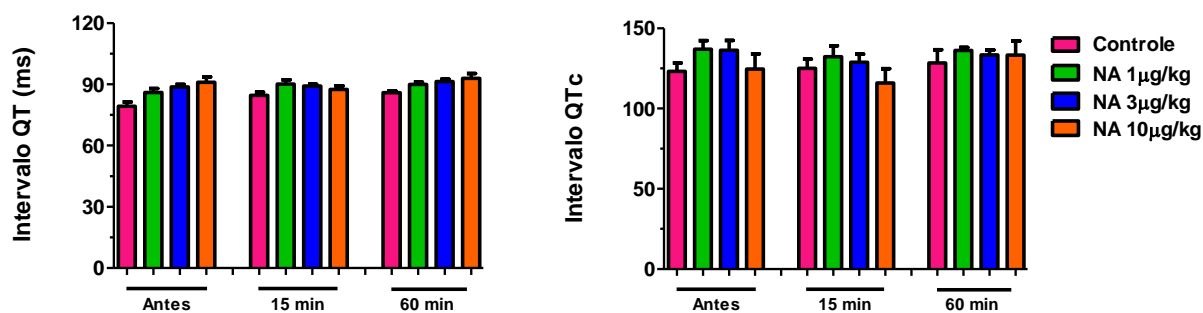


Figura 36: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do grupo controle (n=5) após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg. Os valores representam a média ± e.p.m. P < 0,05 – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

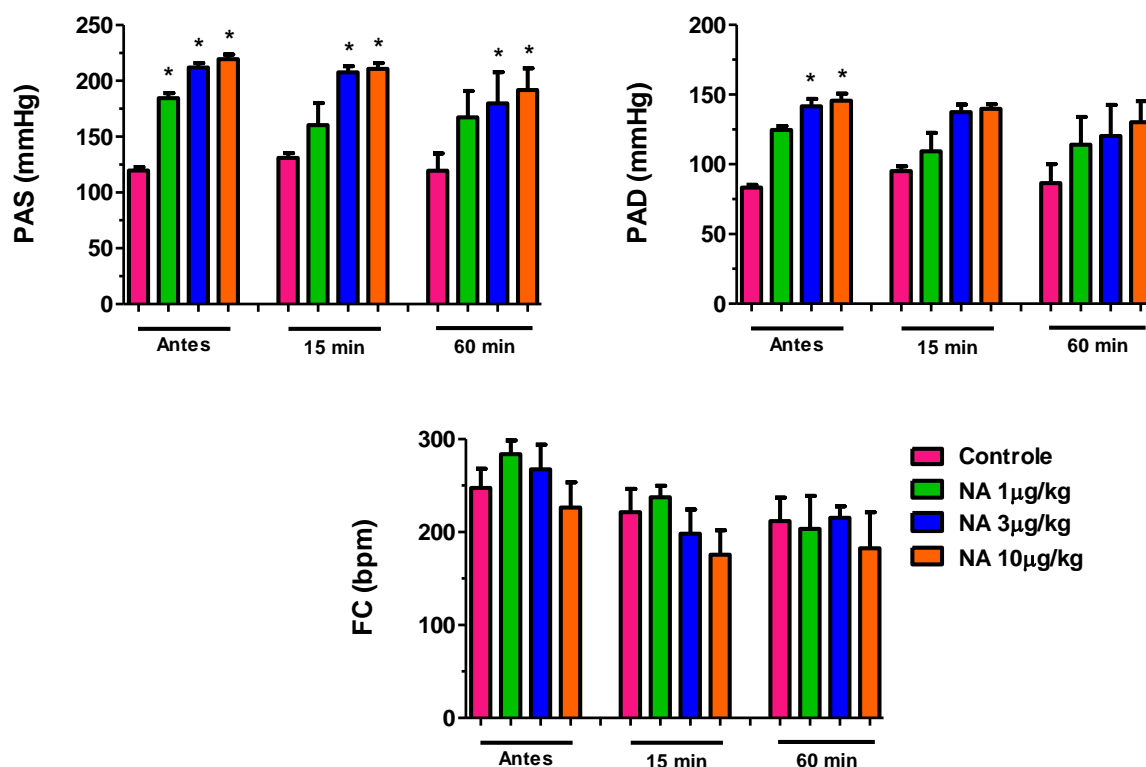


Figura 37: Valores absolutos de PAS, PAD e FC do grupo tratado com *L*-NAME (n=6) após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg. Os valores representam a média ± e.p.m. * Diferença significativa em relação ao tempo controle. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

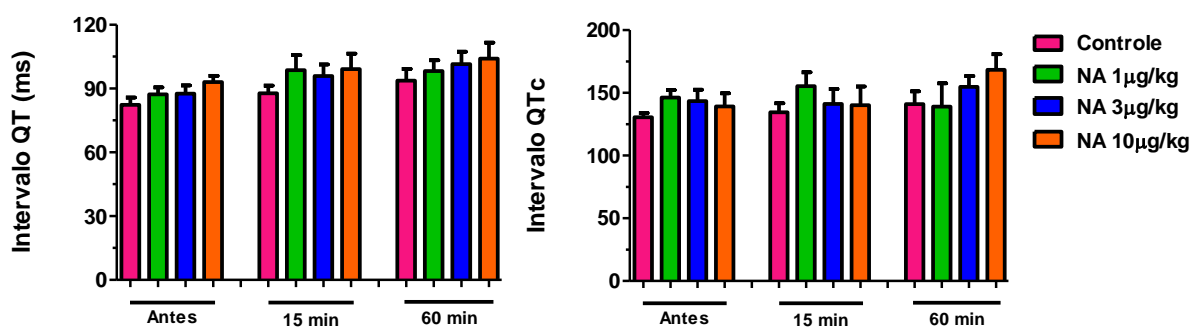


Figura 38: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do grupo tratado com *L*-NAME (n=6) após a administração I.V. de NA 1, 3 e 10 µg/kg antes e após a administração eremantolida C 10 mg/kg. Os valores representam a média ± e.p.m. $P < 0,05$ – ANOVA, seguido de teste de Bonferroni.

6- DISCUSSÃO

6.1- Avaliação dos efeitos *in vivo* do extrato etanólico bruto da espécie *Lychnophora trichocarpha* e caracterização do possível mecanismo de ação sobre a pressão arterial

Apesar das *Lychnophoras* serem largamente utilizadas pela população como analgésicos e anti-inflamatórios, não existem estudos sobre o potencial toxicológico destas plantas medicinais ou relativo à segurança de uso oral como extrato bruto. Outros extratos amplamente consumidos por via oral apresentaram sérios efeitos tóxicos como genotóxico para o extrato de *Baccharis trimera*, popularmente conhecido como “carqueja” (NOGUEIRA *et al.*, 2011), inibidor de enzimas hepáticas como para o extrato de *Eugenia caryophyllata*, óleo de cravo (HARTNOLL *et al.*, 1993). Entretanto, como recomendado pela *International Conference on Harmonisation* (ICH) S7A (2000), é de extrema importância para indicar a segurança de uma substância, avaliar a PA, a FC e o ECG. Relacionados ao ECG, a análise dos intervalos QT e QTc são considerados essenciais, porque seu prolongamento pode estar associado a arritmias cardíacas, indicando cardiotoxicidade e a análise do ECG nas 12 derivações é uma boa alternativa para confirmar variações dos intervalos (CRUMB & CAVERO, 1999; CAVERO, 2000; CAVERO & CRUMB, 2005; AGGARWAL *et al.*, 2011). No presente estudo, foram mensuradas as três derivações periféricas do ECG para auxiliar na análise visual de seus intervalos, no entanto os resultados utilizados foram somente aqueles obtidos da derivação DII periférica, mas que, por outro lado, é a principal derivação utilizada para a avaliação experimental de fármacos (CRUMB & CAVERO, 1999).

Estudos prévios do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia Experimental demonstraram que o extrato etanólico bruto da espécie de *L. ericoides* na maior dose avaliada (1,5 g/kg) foi capaz de induzir à hipertensão e efeito cronotrópico positivo de 90 a 120 minutos após a sua administração oral única (GUZZO, 2007). A partir disso, para a avaliação da atividade cardiovascular do extrato etanólico bruto da *L. trichocarpha* foi avaliada também a dose 1,5 g/kg, a mesma que demonstrou apresentar as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória (GUZZO *et al.*, 2008). A atividade cardiovascular da *L. trichocarpha* foi avaliada de 1 a 5 horas após a administração oral única do extrato e foi observada diferença significativa nos níveis pressóricos e dos valores da FC em relação aos animais que receberam apenas o extrato nesse período. No caso da PA o extrato induziu

claramente um aumento leve à moderado da PA, no entanto para a FC houve uma diferença significativa apesar dos valores estarem dentro da normalidade. Como os experimentos foram realizados nas mesmas condições para ambos os grupos, provavelmente a diferença na FC entre os grupos seja devido ao anestésico utilizado nesses experimentos, o qual não é o de primeira escolha para avaliações cardiovasculares (FUJII & CHAMBERS, 2005). Assim, o grupo que recebeu o extrato 1,5 g/kg impediu uma alteração da FC. A administração única por via oral na mesma dose foi avaliada até 24 horas após a administração do extrato (resultados não apresentados) e as alterações da PA e FC não foram observadas, indicando ser tal efeito reversível. Os resultados observados em até 5 horas mostraram que a administração oral de uma dose alta e única do extrato de *L. trichocarpha* não alterou os intervalos do ECG, indicando sua segurança, sobre este ponto de vista. Em contrapartida, o aumento da PA e FC foram claramente demonstrados até 5 horas após a administração do extrato, indicando baixa segurança e atividade cardiotoxica, a qual pode ser marcada por quadro hipertensivo, como um dos fatores de risco para doenças cardiovasculares (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2010). Considerando que o aumento máximo da PA induzido pelo extrato ocorreu 3,5 horas após sua administração e durou até 5 horas (tempo máximo de avaliação), foi definido que a avaliação do provável mecanismo desse efeito seria avaliado a partir de 4 horas após a administração oral única na dose 1,5 g/kg. Para essa avaliação, foram utilizados fármacos anti-hipertensivos bem descritos na literatura e usados em clínica (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2010): atenolol, um bloqueador β_1 -adrenérgico; captopril, um inibidor da ECA; e prazosina, um α_1 -bloqueador adrenérgico. Os β -bloqueadores são medicamentos altamente eficazes indicados para o tratamento e prevenção da hipertensão (CHOBANIAN *et al.*, 2003). Alguns medicamentos dessa classe, como o atenolol, são estratégias de tratamento para hipertensão entre pacientes com doenças coronárias (PEPINE *et al.*, 2003). O captopril foi o primeiro ativo comercializado por via oral com objetivo de inibir a ECA, projetado para tratar a hipertensão por bloquear a conversão de angiotensina I em angiotensina II (CUSHMAN & ONDETTI, 1999; HANSSON *et al.*, 1999). É amplamente utilizado no tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo insuficiência cardíaca e pressão arterial elevada. Os antagonistas α_1 -adrenérgicos são opção terapêutica no tratamento da hipertensão, sendo a prazosina o mais frequentemente utilizado no Brasil. As vantagens deste fármaco são evidenciadas no

tratamento da insuficiência cardíaca com redução da pós-carga e seu perfil metabólico favorável com redução dos níveis plasmáticos de colesterol e triglicérides (OATES & BROWN, 2010). A prazosina foi o fármaco que reduziu de maneira significativa a PA em todo o tempo avaliado, indicando que o extrato etanólico de *L. trichocarpha* está, provavelmente, atuando via ativação do sistema nervoso simpático periférico, em nível vascular. Após o tratamento com atenolol, a FC reduziu, como esperado, devido à sua ação agonista inversa em receptores β_1 -adrenérgicos (ZHANG *et al.*, 2011), embora aumento significativo no intervalo PR do ECG não tenha sido observado. O índice QTc, ferramenta útil para a identificação de riscos cardiovasculares (AGGARWAL *et al.*, 2011), foi corrigido pela FC e por isso, nos animais que receberam o atenolol esse índice também foi alterado. No entanto, a redução da FC não foi suficiente para reduzir a PA nos animais que receberam o atenolol. De fato, na clínica a redução da PA como efeito de β -bloqueadores é observado após seu uso contínuo e após vários dias (OATES & BROWN, 2010). As prováveis causas de aumento da PA induzidas por substâncias endógenas e/ou exógenas são inúmeras (Health Care Guideline, 2010), e embora os resultados tenham demonstrado fortemente a participação da ativação simpática como fator da gênese do aumento moderado da PA, a participação de outros fatores não deve ser descartada.

Assim, os resultados do presente estudo indicam que é necessário cuidado com uso do extrato etanólico de *L. trichocarpha*, uma vez que sua segurança cardiovascular não é totalmente garantida. O aumento induzido na PA pelo extrato em dose única observado é um indicativo de pré-hipertensão a hipertensão de estágio I (VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2010) e, dessa forma, seu uso pode contribuir para instalação de um quadro hipertensivo ou agravar um quadro já existente.

6.2- Caracterização dos efeitos *in vivo* de inibição da síntese do óxido nítrico

Embora estudos tenham demonstrado que os aumentos da PA após inibição da síntese do NO não são mais observados 7 dias após o término de sua administração (FÜRSTENAU *et al.*, 2010), estudos preliminares do Laboratório de Farmacologia Experimental demonstraram que o aumento da PA induzida pela inibição da síntese do NO pôde ser observado em 3 e 10 meses após o término do tratamento com L-NAME e a hipertrofia cardíaca foi detectada nos ratos idosos (DE PAULA *et al.*, 2007). Além disso, a análise da

variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tanto de curto quanto de longo prazo em animais idosos acordados submetidos à inibição da síntese do NO, mostrou variações significativas nesse parâmetro, o que evidenciou a presença de patologia cardiovascular como indicativo da IC naqueles animais (CARDOSO *et al.*, 2008). A partir disso, o modelo da inibição da síntese de NO pela administração I.P. de *L*-NAME avaliado 6 meses após o final do tratamento foi utilizado no presente trabalho a fim de se padronizar esse modelo, sendo mais uma opção útil para a busca de alternativas terapêuticas para doenças cardiovasculares. Assim, as prováveis alterações estruturais do miocárdio induzidos pela inibição do NO (NUMAGUCHI *et al.*, 1995; MANDARIM-DE-LACERDA & PEREIRA, 1997) associado ao aumento da PA, poderiam induzir a médio e longo prazo um quadro com características de insuficiência cardíaca crônica (ICC).

Para a caracterização de modelos de alterações cardiovasculares são necessárias avaliações histológica, bioquímica, hematológica e hemodinâmica (WANG *et al.*, 2003). Nos parâmetros do ECG avaliados nos animais tratados com *L*-NAME foram observados reduções significativas dos intervalos PR, QT e QTc. Normalmente as alterações no ECG são acompanhadas de anormalidades fisiopatológicas como derrame pleural, edema periférico, que explicam tais mudanças (ORETO *et al.*, 1992; MADIAS *et al.*, 2001). No entanto, os parâmetros obtidos do sinal de pressão do ventrículo esquerdo não foram alterados. Para definir mais claramente um quadro de IC induzido pela inibição do NO, era esperado que a PVEDF estivesse aumentada, já que alguns autores caracterizaram a PVEDF acima de 5 mmHg como um indicativo de disfunção ventricular esquerda (DELP *et al.*, 1997), enquanto outros, afirmam que são necessários valores maiores que 20 mmHg para caracterizar o desenvolvimento da ICC grave (MUSCH *et al.*, 2002). No entanto, tal alteração não foi observada no presente trabalho.

A análise global dos glóbulos vermelhos e leucócitos constitui exame importante e rotineiramente indicado para avaliações de anemias, reações infecciosas e inflamatórias. A avaliação laboratorial de pacientes com alterações cardiovasculares, como ICC, serve para identificar distúrbios associados, tais como anemia, policitemia, insuficiência renal, síndrome nefrótica, diabetes melito, tireotoxicose e hipotireoidismo. Dentre essas alterações, a anemia é a mais importante, pois é o achado com alta prevalência em adultos com IC (TANG & KATZ, 2006; PAZOS-LÓPEZ *et al.*, 2011). Os mecanismos que causam a anemia em pacientes com

IC são mal definidos, mas há evidências que incluem a deficiência de ferro, doença crônica ou hemodiluição (DRAKOS *et al.*, 2009). Estudos que avaliaram o efeito da administração aguda I.P. de *L-NAME*, mostraram que os níveis de hematócrito estavam reduzidos até 24 horas após o final do tratamento (IMAGAWA *et al.*, 2002). Os valores obtidos neste trabalho para o hematócrito e contagem de plaquetas estavam reduzidos em ambos os grupos avaliados (controle e tratados com *L-NAME*), em relação aos resultados observados na literatura (SANTOS *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2010) mas as condições de análise foram as mesmas para os 2 grupos e assim, não indicam alterações induzidas pela inibição do NO.

As concentrações de creatinina e ureia sérica são usadas em conjunto para avaliar a função renal. Estes testes são relativamente sensíveis aos pequenos efeitos sobre a função renal, e um número de causas não renais, devem ser consideradas para suas elevações séricas. A hipertensão arterial é fator de risco progressivo para a perda renal e a administração *in vivo* com *L-NAME* levando à HA, pode causar complicações renais quando administrado por tempo prolongado (ZANFOLIN *et al.*, 2006). Entretanto, Fürstenau *et al.* (2010), observaram que 7 dias após o final do tratamento, os valores da PA retornam aos valores basais. No presente trabalho, os valores séricos de creatinina e ureia estão de acordo com valores normais (SANTOS *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2010), indicando que esse modelo não foi capaz de induzir alterações na função renal.

O peso cardíaco observado foi semelhante entre os grupos controle e tratado previamente com *L-NAME*. No entanto, apesar de terem sido mantidos pelo mesmo tempo de acompanhamento, no momento dos experimentos o grupo tratado apresentou peso corporal maior que o grupo controle. Assim, a relação peso cardíaco/peso corporal apresentou-se maior para o grupo controle, indicando um ganho de peso cardíaco desproporcional nesse grupo. Nos experimentos anteriores realizados no laboratório foi observado aumento de peso cardíaco 10 meses após o término do tratamento com *L-NAME*, o que não foi observado após 6 meses. A hipertrofia cardíaca é uma das características da IC (BRILLA *et al.*, 1993; SCHILLACI *et al.*, 1996) e também não foi observada.

Na análise histológica, não foram observados processos inflamatórios em nenhum dos grupos avaliados e, no grupo tratado com *L-NAME*, o número de miócitos estava reduzido, como observado em outros modelos experimentais de *L-NAME* (PEREIRA *et al.*, 1998). Além disso, os animais tinham 28 semanas de idade no momento dos experimentos, ou seja,

tratava-se de animais idosos e em ratos, o número de miócitos pode quadruplicar em dois anos de vida (SASAKI *et al.*, 1968). Processos de hipertrofia e hiperplasia ocorrem normalmente em doenças cardíacas (OLIVETTI *et al.*, 1996) e modelos experimentais como tratamento com *L-NAME*, levando à cardiomiopatia (SAMPAIO *et al.*, 2002). A hipertrofia de miofibroblastos é a forma predominante de crescimento de cardiomiócitos em ratos tratados cronicamente com *L-NAME* (PEREIRA & MANDARIM-DE-LACERDA, 1998). Entretanto, a magnitude de crescimento do miocárdio ventricular pode ser mascarada pelo fenômeno de perda de cardiomiócitos (QUAINI *et al.*, 1994). O declínio no número total de miócitos, representados nesse estudo pelo número total de núcleos celulares, sugere que, se a proliferação de cardiomiócitos ocorre na IC (KAJISTURA *et al.*, 1994; OLIVETTI *et al.*, 1996), a taxa de perda de cardiomiócitos parece ser maior que a taxa de proliferação em modelos *L-NAME* (GOMES-PESSANHA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2000). A diminuição de células observadas no presente estudo pode ser provavelmente devido à morte de cardiomiócitos, causada por apoptose ou necrose (LONG *et al.*, 1997). Na quantificação de colágeno, foi observado apenas para o grupo tratado previamente com o inibidor da síntese de NO que recebeu posteriormente digitoxina 0,3mg/kg, um aumento significativo de deposição do colágeno. Entretanto, esse fato não foi influenciado pelo tratamento agudo com digitoxina pelo qual o animal foi submetido, mas a uma coincidência de estarem presentes nesse grupo os animais com maior deposição de colágeno. Quando se avalia os grupos de uma maneira geral, controle e *L-NAME*, foi observado diferença significativa entre os grupos, o que caracteriza mais claramente o modelo com características de IC. Esse resultado é uma característica de modelos experimentais com *L-NAME*, que causa uma fibrose (perivascular e intersticial reparativa) e desorganização do músculo cardíaco (MORENO *et al.*, 1996). Moreno *et al.*, (1996) também observaram que a fibrose é proporcional ao tempo de uso de *L-NAME* nos animais, o qual, no presente estudo foi de apenas uma semana, mas demonstrou resultados semelhantes. O aumento de tecido conjuntivo pode contribuir para a alteração na reatividade vasomotora à isquemia miocárdica com consequente perda de cardiomiócitos (DRISS *et al.*, 1997). Possivelmente, logo após o final do tratamento com *L-NAME* a isquemia miocárdica deveria estar mais acentuada, com o passar do tempo (6 meses após o final do tratamento), essa região de necrose foi ocupada por áreas de fibrose de substituição, observada nos nossos resultados. Assim, embora o peso cardíaco não tenha indicado

hipertrofia como característica de IC, a análise histológica indica fortemente alterações estruturais típicas de IC.

6.3- Avaliação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* da eremantolida C em animais normotensos e submetidos previamente à inibição da síntese do óxido nítrico.

As lactonas sesquiterpênicas são compostos terpenóides com uma grande variedade de constituintes químicos com atividades farmacológicas relatadas, como anti-tumoral (KUPCHAN *et al.*, 1971), antiulcerosa (GIORDANO *et al.*, 1990), cardiotônica (ROBLES *et al.*, 1995). A eremantolida C é uma lactona sesquiterpênica isolada da espécie *L. trichocarpha* (SAÚDE, 1994; SAÚDE-GUIMARÃES *et al.*, 1998) e ainda não possui atividade cardiovascular descrita na literatura. Além disso, sua estrutura, assim como as lactonas sesquiterpênicas de maneira geral, possuem anel lactônico semelhante aos produtos naturais terpenóides com ação cardiotônica (BARREIRO, 2009). Diante disso, surgiu interesse pelo estudo, o qual é de grande relevância, pois exacerba a importância dos produtos naturais como fonte de substâncias potencialmente mais ativas e seguras.

Os glicosídeos cardenolídeos, entre eles a digitoxina, são metabólitos secundários da espécie *Digitalis purpúrea* que contêm um anel δ -lactônico. Os cardenolídeos são utilizados ao longo dos séculos para o tratamento de doenças relacionadas ao coração. Até hoje representam os fármacos mais frequentemente prescritos para o tratamento da arritmia atrial (ver WANG *et al.*, 2011) e ICC, pois nas formas mais avançadas da doença têm se mostrado os mais benéficos para os pacientes (PACKER *et al.*, 1993), apesar de apresentarem reduzido índice terapêutico (FRAGA & BARREIRO, 1996). Por isso, a digitoxina foi escolhida como fármaco padrão do presente trabalho.

Estudos prévios do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia Experimental avaliaram a toxicidade aguda da eremantolida C. Para essa avaliação, camundongos albinos receberam por via I.P. as doses de 8×10^{-2} , 16×10^{-2} , 4×10^{-1} , 8×10^{-1} , 16×10^{-1} , 5, 10 e 20 mg/kg da eremantolida C. Nenhum dos animais veio a óbito e não foram observados sinais de toxicidade geral. A partir desses resultados, para avaliação dos efeitos cardiovasculares da eremantolida C foram definidas as doses 3 e 10 mg/kg.

Na avaliação dos efeitos cardiovasculares *in vivo* da eremantolida C na dose 3 mg/kg não foi observado alterações em nenhum dos parâmetros avaliados tanto nos animais controle

quanto nos animais tratados previamente com inibidor da síntese de NO. Entretanto, para a maior dose avaliada, 10 mg/kg, a eremantolida C induziu a aumentos significativos da PAS, PAD e $PVE_{m\acute{a}x}$ logo após sua administração (até 4 minutos) nos animais tratados previamente com inibidor da síntese de NO, diferente da digitoxina, que induziu a alterações desses parâmetros até o final do tempo experimental. Esses resultados indicam uma segurança para a eremantolida C quando comparada à digitoxina, já que a intoxicação por digitálicos permanece como uma das reações adversas prevalentes na prática médica, devido à estreita margem entre as doses terapêutica e tóxica, além de uma variabilidade na sensibilidade de cada paciente (SMITH & ALLRED, 1988). Apesar disso, a eremantolida C não foi capaz de alterar a PVEDF, importante preditor de severidade de doenças cardíacas (HADANO *et al.*, 2005).

Para a avaliação da possível atividade cardioprotetora da eremantolida C foi utilizado o modelo de ativação simpática pela administração de NA *in bolus* I.V. (VIDAL *et al.*, 2010) por induzir a alterações significativas da PA e do intervalo QT do ECG, simulando condições patológicas cardiovasculares. Para isso, foi utilizada a dose de 10 mg/kg da eremantolida C, que apresentou efeito sobre os parâmetros da PA nos animais tratados previamente com inibidor da síntese de NO. Embora os aumentos observados para o intervalo QT do ECG após administração de NA tenham sido discretos e não haja diferenças estatísticas, pequenas alterações nesse intervalo são preditores de arritmias (LONDON *et al.*, 1998) e morte súbita (AHNVE, 1991). Ainda assim, após a administração da eremantolida C, a NA induziu a aumentos menos expressivos do intervalo QT quando comparado ao período anterior à administração da eremantolida C, indicando um possível efeito protetor dessa substância. Para o índice QTc também não foram observadas diferenças após a administração de NA, nesse caso, devido a intensa bradicardia reflexa induzida pela mesma. Sobre a PA, após a administração da eremantolida C, os aumentos em resposta à NA foram mais discretos, mas não diferentes estatisticamente. Para uma conclusão sólida sobre os efeitos cardiovasculares dessa lactona são necessários mais investigações.

Embora a avaliação dos efeitos *in vivo* da eremantolida C sobre o sistema cardiovascular tenha sido bastante ampla, os efeitos observados foram discretos e estudos e análises complementares serão necessárias para a confirmação desses potenciais efeitos. Exemplos dessas possibilidades são a avaliação em modelos experimentais já consolidados de

IC como a indução pela doxorrubicina (TORTI *et al.*, 1986; HORAN *et al.*, 2006) e ainda o aproveitamento dos sinais de PVE já obtidos para a avaliação do valor máximo da primeira derivada do sinal de PVE em relação ao tempo ($dp/dt_{m\acute{a}x}$) e índices derivados que são indicadores de contratilidade e consumo de oxigênio do miocárdio (ADLER *et al.*, 1996; HERIJGERS *et al.*, 1998).

Assim, com a demonstração da atividade cardiovascular do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpa*, atende-se ao principal objetivo do trabalho. Avaliação futura de protocolos com tratamento crônico do extrato por via oral e avaliação *in vivo* dos constituintes químicos isolados permitirão o uso seguro dessa espécie. Além disso, fornecerão subsídio para seu uso racional e identificação dos princípios ativos responsáveis pela atividade terapêutica relatada.

7- CONCLUSÕES

A administração por via oral em dose única de 1,5 g/kg do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpha* induziu ao aumento dos níveis pressóricos e da frequência cardíaca, indicando baixa segurança dessa espécie.

Os resultados obtidos com a utilização dos fármacos (atenolol, captopril e prazosina), sugerem que o mecanismo de ação *in vivo* do extrato etanólico bruto de *L. trichocarpha* sobre a pressão arterial se deve à hiperatividade do sistema nervoso simpático periférico em nível vascular.

A caracterização da inibição da síntese do NO 6 meses após o tratamento com *L*-NAME, mostrou alterações histológicas indicativas de alterações estruturais típicas da IC, mas para os outros aspectos avaliados não foram observadas alterações relevantes.

A eremantolida C isolada do extrato etanólico de *L. trichocarpha*, na maior dose avaliada (10 mg/kg), demonstrou efeito menos pronunciado que a digitoxina nos animais tratados com o inibidor da síntese do óxido nítrico. Com a estimulação simpática não foram observadas diferenças após a administração da eremantolida C, no entanto as alterações induzidas pela NA foram mais discretas.

8- REFERÊNCIAS

- ABAD MJ, BERMEJO P, VALVERDE S, VILLAR A. Anit-Inflammatory Activity of Hydroxyachillin, a Sesquiterpene Lactone from *Tanacetum microphyllum*. **Planta Médica**; 60: 228-231, 1994.
- ADLER D, NIKOLIC SD, PAJARO O, SONNENBLICK EH, YELLIN EL. Time to dP/dt_{\max} reflects both inotropic and chronotropic properties of cardiac contraction: a conscious dog study. **Physiological Measurement**; 17, 287-295, 1996.
- AGGARWAL A, SHERAZI S, LEVITAN B, LAKSHMANADOSS U, CHOUDHARY N, SHAH A, HIS D. Corrected QT interval as a predictor of mortality in elderly patients with syncope. **Cardiology Journal**; 18 (4); 395-400, 2011.
- AGRA MF, FREITAS PF, BARBOSA-FILHO JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 17 (1): 114-140, 2007.
- AHNVE S. Is QT interval prolongation a strong or weak predictor for cardiac death? **Circulation**; 84, 1862-65, 1991.
- ALBUQUERQUE UP, HANAZAKI N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; 16; 678-689, 2006.
- ANDERSTAM B., KATZARSKI, K., BERGSTROM, J. Serum levels of N^G -dimetil-arginina, a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patient. **Journal of the American Society of Nephrology**; 8, 1437-1442, 1997.
- AZEVEDO BF, FUTURO NETO HA, STEFANON I, VASSALLO DV. Acute cardiorespiratory effects of intracisternal injections of mercuric chloride. **NeuroToxicology**; 32, 350-354, 2011.
- BARREIRO EJ. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos **Química Nova**; 32 (3), 679-688, 2009.
- BARRERO AF, OLTRA JE, RODRIGUEZ I, BARRAGAN A. Lactones from Species of *Centaurea*. Cytotoxic and Antimicrobial Activities. **Fitoterapia**; LXVI, (3): 227-230, 1995.
- BERTOL JW, RIGOTTO C, PÁDUA RM, KREIS W, BARARDI CRM, BRAGA FC, SIMÕES CMO. Antiherpes activity of glucoevatromonoside, a cardenolide isolated from a Brazilian cultivar of *Digitalis lanata*. **Antiviral Research**; 92 (1); 73-80, 2011.
- BIAVATTI MW, MARENSI V, LEITE SN, REIS A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**; 17 (4): 640-653, 2007.
- BOHLMANN F, JAKUPOVIC J. Progress in the chemistry of the *Vernoniaeae* (*Compositae*). **Plant Systematics and Ecology**; 4, 3-43, 1990.
- BORELLA JC, LOPES JLC, LEITÃO FILHO HK, SEMIR J, DIAZ JG, HERZ W. Eudesmanolides and 15-deoxygoyasenzolide from *Lychnophora pseudovillosissima*. **Phytochemistry**; 55: 809-813, 1992.
- BORSATO ML, GRAEL CF, SOUZA GE, LOPES NP. Analgesic activity of the lignanas from *Lychnophora ericoides*. **Phytochemistry**; 55, 809-813, 2000.
- BRASIL 2006a. Ministério da Saúde, Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 jun. 2006. Seção 1, p. 2.
-

- BRASIL, 2006b. Ministério da Saúde, Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília. Seção 1.
- BREMER K. Branch support and tree stability. **Cladistics**; 10, 295-304, 1994.
- BRILLA CG, MAISCH B, ZHOU G, WEBER KT. Renin-angiotensin system and myocardial collagen matrix remodeling in hypertensive heart disease, *in vivo* and *in vitro* studies on collagen matrix regulation. **Journal Clinical Investigation**; 71: 35-41, 1993.
- BUCHANAN B, GRUISSEM W, JONES R. Natural products (secondary metabolites), biochemistry & molecular biology of plants. **American Society of Plants Physiologists**; cap. 24, 1250-1319, 2000.
- BUXTON ILO, CHEEK DJ, ECKMAN D, WESTFALL DP, SANDERS KM, KOOF DK. N^G –nitro-*L*-arginine methyl ester and other alkyl esters of arginine are muscarinic receptor antagonists. **Circulation Research**; 72: 387-395, 1993.
- CALIXTO JB. Twenty five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**; 100: 131-134, 2005.
- CANALLE R, BURIM RF, LOPES JLC, TAKAHASHI CS. Assessment of the cytotoxic and clastogenic activities of the sesquiterpene lactone lychnopholide in mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. **Cancer Detection and Prevention Journal**; 25(1), 93-101, 2001.
- CARDOSO ASV, DE PAULA DCC, VIDAL AT, GUIMARÃES HN, GRABE-GUIMARÃES A. Caracterização da insuficiência cardíaca no modelo de inibição da síntese do óxido nítrico em ratos idosos acordados. **In: 40º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2008.
- CARLINI EA, RODRIGUES E, MENDES FR, TABACH R, GIANFRATTI B. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; 16, 690-695, 2006.
- CAVERO I, CRUMB W. The use of electrocardiograms in clinical trials: a public discussion of the proposed ICH E14 regulatory guidance. **Expert Opinion on Drug Safety**; 4, 795-799, 2005.
- CAVERO I, MESTRE M, GUILLON JM, CRUMB W. Drugs that prolong the QT interval as unwanted effect: assessing their likelihood of inducing hazardous cardiac dysrhythmias. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**; 1, 947-973, 2000.
- CERQUEIRA MBS, SOUZA JT, JÚNIOR RA, PEIXOTO ABF. Ação analgésica do extrato bruto aquoso liofilizado do caule e folhas da *Lychnophora ericoides* Mart. (arnica). **Ciência e Cultura**; 39 (5/6), 551-553, 1987.
- CHENG JW, NAYAR M. A review of heart failure management in the elderly population. **American Journal of Geriatric Pharmacotherapy**; 7, 233–249, 2009.
- CHIARI E, DUARTE DS, PERRY KSP, SAÚDE DA, RASLAN DS, BOAVENTURA MAD, GRANDI TSM, STEHMAN JR, OLIVEIRA AB. *In vitro* Screening of *Asteraceae* Plant Species Against *Trypanosoma cruzi*. **Phytotherapy Research**; 10: 636-638, 1996.
- CHICARO P, PINTO E, COLEPICOLO P, LOPES JCL, LOPES NP. Flavonoids from *L. passerine* (Asteraceae):potential antioxidants and UV protectants. **Biochemical Systematics and Ecology**; 32, 239-243, 2004.
- CHOBANIAN AV, BAKRIS GL, BLACK HR, CUSHMAN WC, GREEN LA, IZZO JL JR, JONES DW, MATERSON BJ, OPARIL S, WRIGHT JT JR, ROCCELLA EJ. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**; 42, 1206–1252, 2003.

- CRUMB W, CAVERO I. QT interval prolongation by non-cardiovascular drugs: issues and solutions for novel drug development. **Pharmaceutical Science & Technology Today**; 2 (7), 270-280, 1999.
- CUNHA WR, LOPES JLC, VICHNEWSKI W, DIAZ JG. Eremantholides and a Guaianolide from *Lychnophora rupestris*. **Phytochemistry**; 39 (2), 387-389, 1995.
- CUSHMAN DW, ONDETTI MA. Design of angiotensin converting enzyme inhibitors. **Nature America**; 5, 1110-1113, 1999.
- DE PAULA DCC, VIDAL AT, CARDOSO ASV, GUIMARÃES HN, GRABE-GUIMARÃES A. Caracterização de parâmetros cardiovasculares no modelo de inibição da síntese do óxido nítrico em ratos idoso. **In: 39° Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2007.
- DE PAULA DCC, VIDAL AT, GUIMARÃES HN, SAÚDE-GUIMARÃES DA, GRABE-GUIMARÃES A. Atividade cardiovascular do eremantolídeo C em animais hipertensos. **In: 38° Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2006.
- DELP MD, DUAN C, MATTSON JP, MUSCH TI. Changes in skeletal muscle biochemistry and histology. **Journal of Applied Physiology**; 83, 1291-1299, 1997.
- DI STASI LC. Plantas Medicinais: Artes e Ciência, São Paulo, **Editora da Universidade Paulista**, 1995.
- DICKEL ML, RATES SMK, RITTER MR. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**; 109, 60-71, 2007.
- DRAKOS SG, ANASTASIOU-NANA MI, MALLIARAS KG, NANAS JN. Anemia in Chronic Heart Failure. **Revista clínica española**; 7, 354-9, 2009.
- DRISS AB, BENESSIANO J, POITEVIN P, LEVY BI, MICHEL JB. Arterial expansive remodeling induced by high flow rates. **American Journal of Physiology**; 272, 851-858, 1997.
- ERDEI F, VENDREY R, DANI G, KOVÁSCS E, MÁRK L, KATONA A. Do we use digitalis properly in the management of elderly patients suffering from the signs of chronic heart failure? **Orv Hetil**; 147(41), 1993-6, 2006.
- expressing the N terminus and first transmembrane segment of a voltage-gated potassium channel. **Biophysics**; 95,2926-31, 1998.
- FAWAZ G. Cardiovascular Pharmacology. **Annual Review of Pharmacology**, 3:57-90, 1963.
- FERRARI FC. Estudo fitoquímico da fração acetato de etila, avaliação da atividade antiinflamatória *in vitro* e *in vivo* e da toxicidade em camundongos de *Lychnophora trichocarpha* Spreng. **Dissertação de Mestrado**; p.118, 2008.
- FRAGA CAM, BARREIRO EJ. Cardiotônicos: histórico e perspectivas de uma antiga e importante classe de agentes terapêuticos. **Química Nova**; 19 (2), 1996.
- FRANÇOIS G, PASSREITER CM, WOERDENBAG HJ, LOOVEREN MV. Antiplamodial Activities and Cytotoxic Effects of Aqueous Extracts and Sesquiterpene Lactones from *Neurolaena lobata*. **Planta Médica**; 62, 126-129, 1996.
- FRIDERICIA LS. Die Systolendauer im elektrokardiogramm bei normalen menschen und bei herzkranken. **Acta Med Scand**; 53, 489, 1920.
- FUJII M, CHAMBERS DJ. Myocardial protection with inter mittent cross-clamp fibrillation: does preconditioning play a role? **European Journal Cardiothoracic Surgery**; 28:821-832, 2005.

- FÜRSTENAU CR, RAMOS DB, VUADEN FC, CASALI EA, MONTEIRO OS, TRETIN DS, GOSSENHEIMER NA, BOGO MR, BONAN CD, BARRETO-CHAVES MLM, SARKIS JJF, WOFCHUK ST. L-NAME-treatment alters ectonucleotidase activities in kidney membranes of rats. **Life Sciences**; 87: 325-332, 2010.
- GIESBRECHT AM, DAVINO SC, NASSIS CZ, YOUNG MCM, LOPES JLC, RODRIGUES DC, VICHNEWISKI W, NASI AMTT, DIAS DA, LOPES JNC. Antimicrobial Activity os Sesquiterpenes Lactones. **Química Nova**; 13 (4), 312-314 1990.
- GIORDANO OS, GUERREIRO E, PESTCHANKERMJ GUZMAN Y, PASTOR D, GUAROLIA T. The gastric cytoprotective effectof several sequiterpene lactones. **Journal of Natural Products**; 53, 803–9, 1990.
- GOBBO-NETO L, SANTOS MD, KANASHIRO A, ALMEIDA MC, LUCISANO-VALIM YM, LOPES JLC, SOUZA GEP, LOPES NP. Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of di-Cglucosylflavones from *Lychnophora ericoides* (Asteraceae). **Planta Médica** 71, 3–6, 2005.
- GOMES PESSANHA M, MANDARIM-DE-LACERDA CA, DUMAS HAHN M. Stereology and immunohistochemistry of the myocardium in experimental hypertension: long-term and low-dosage administration of inhibitor of the nitric oxide synthesis. **Pathobiology**; 67 (1), 26-33, 1999.
- GOMES PESSANHA M, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Influence of the chronic nitric oxide synthesis inhibition on cardiomyocytes number. **Virchows Archives**; 437 (6), 2000.
- GÖREN N, BOZOK-JOHANSSON JAKUPOVIC J, LIN LJ, SHIEH HL, CORDELL GA, CELIK N. Sesquiterpene Lactones With Antibacterial Activity from *Tanacetum densum* subsp. *sivasicum*. **Phytochemistry**; 31 (1), 101-104, 1992.
- GÖREN N, WOERDENBAG HJ, BOZOK-JOHANSSON C. Cytotoxic and Antibacterial Activities of Sesquiterpene Lactones Isolated from *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*. **Planta Médica**; 62, 419-422, 1996.
- GOUVEA DR. Estudo da variação populacional dos metabólitos secundários do arnicão (*Lychnophora salicifolia* Mart., Vernoniaceae, Asteraceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.de Ribeirão Preto, 2010.
- GUZZO LS, SAÚDE-GUIMARÃES DA, SILVA ACA, LOMBARDI JA, GUIMARÃES HN, GRABE-GUIMARÃES A. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extracts of *Lychnophora* species. **Journal of Ethnopharmacology**; 116, 120–124, 2008.
- GUZZO, L.S. Avaliação de Atividades Farmacológicas de diferentes espécies de *Lychnophora* utilizadas pela população. **Dissertação de Mestrado** – Programa de Pós graduação de Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto- Minas Gerais. 99p., 2007.
- HADANO Y, MUURATA K, LIU J OYAMA R, HARADA N, OKUDA S, HAMADA Y, TANAKA N, MATSUZAKI M. Can transthoracic Doppler echocardiography predict the discrepancy between left ventricular end-diastolic pressure and mean pulmonary capillary wedge pressure in patients with heart failure? **Circulation Journal**; 69 (4), 432-8, 2005.

- HANSON FR, MANN KM, NIELSON ED, ANDERSON HV, BRUNNER MP, KARNEMAAT JN, COLINGSTWORTH DR, HAINES WJ. **Journal of the American Chemical Society**; 75: 5369, 1953.
- HANSSON L, LINDOHOLM LH, NISKANEN L, LANKE J, HEDNEER T, NIKLASON A et al. Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Captopril Prevention Project (CAPPP) randomized trial. **Lancet**; 353:611-616, 1999.
- HARE JM, COLUCCI WS. Role of nitric oxide in the regulation of myocardial function. **Progress in Cardiovascular Diseases**; 38: 155-166, 1995.
- HARTNOLL G, MOORE D, DOUEK D. Near fatal ingestion of oil of cloves. **Archives of disease in childhood**; 69, 392-393, 1993.
- HEALTH CARE GUIDELINE: Hypertension Diagnosis and Treatment, 2010.
- HERIJGERS P, BORGES M, FLAMENG W. The effects of brain death on cardiovascular function in rats. Is the heart damaged? **Cardiovascular Research**; 38, 98-106, 1998.
- HERZ, W., GOEDKEN, V.L. Structure of goyazensolide and its congeners. **Journal of Organic Chemistry**; 47, 2798-2800, 1982.
- HORAN PG, MCMULLIN MF, MCKEOWN PP. Anthracycline cardiotoxicity. *European Heart Journal*; 27, 1137-1138, 2006.
- HOSTETTMANN K, QUEIROS EF, VIERIA PC. A importância das plantas medicinais: Princípios ativos de plantas superiores. **Série de textos da Escola de Verão em Química- IV**, São Carlos, SP, Ed. UFSCar, 152, 2003.
- IBAMA, Revisão das Listas Vermelhas da Flora e da Fauna Ameaçadas de Extinção de Minas Gerais. Relatório final, v. 1. **Fundação Biodiversitas**. Belo Horizonte, 2007.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline (S7A). Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals, 2000. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf
- ILIEVA I., OHGAMI K., JIN X.H.,SUZUKI Y., SHIRATORI K., YOSHIDA K., KASE S.,OHNO S. Captopril suppresses inflammation in endotoxin-induced uveitis in rats. **Experimental Eye Research**; 83, 651-657, 2006.
- IMAGAWA S, TARUMOTO T, SUZUKI N, MUKAI HY, HASEGAWA Y, HIGUCHI M, NEICHI T, OZAWA K, YAMAMOTO M, NAGASAWA T. L-arginine rescues decreased erythropoietin gene expression by stimulating GATA-2 with L-NMMA. **Kidney International**; 61, 396-404, 2002.
- KAJISTURA J, ZHANG X, REISS K, SZOKE E, LI P, LAGRASTA C, CHENG W, DARZYNKIEWICZ Z, OLIVETTI G, ANVERSA P. Myocyte cellular hyperplasia and myocyte cellular hypertrophy contribute to chronic ventricular remodeling in coronary artery narrowing-induced cardiomyopathy in rats. **Circulation Research**; 74:383-400, 1994.
- KANASHIRO A, KABEYA LM, POLIZELLO AC, LOPES NP, LOPES JL, LUCISANO-VALIM YM. Inhibitory activity of flavonoids from *L. SP* on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes. **Phytoter research**; 18 (1), 61-65, 2004.
- KATTOH M, EGASHIRA K, USUI M, ICHIKI T, TOMITA H, SHIMOKAWA H, RAKUGI H, TAKESHIA A. Cardiac angiotensin II receptors are upregulated by long-term inhibition of nitric oxide synthesis in rats. **Circulation Research**; 83 (7): 743-751, 1998.

- KUPCHAN SM, EAKIN MA, THOMAS AM. TUMOR INHIBITORS. 69. Structure-Cytotoxicity Relationships among the Sesquiterpene Lactones. **Journal of Medicinal Chemistry**; 14 (12), 1147-1152, 1971.
- LANGER GA. **Biochemical Pharmacology**; 30, 3261, 1981.
- LAPA AJ, SOUCCAR C., LIMA-LANDMAN MTR, GODINHO RO, DE LIMA TCM. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. In: Cláudia Maria Oliveira Simões; Eloir Paulo Schenkel; Grace Gosmann; João Carlos Palazzo de Mello; Lilian Auler Mentz; Pedro Ros Petrovick. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª. ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade do Rio Grande do Sul, 247-262, 2003.
- LÊ QUESNE PW, LEVERY SB, MENANCHERY MD, BRENNAN TF, RAFFAUF RF. Novel Modified Germacranolides and other constituents of *Eremanthus elaeagnus*. Achultz-Bip (Compositae). **ICS Perkin I**; 1572-1580, 1978.
- LESSA I. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica e da insuficiência cardíaca no Brasil. **Revista Brasileira de Hipertensão**; 8 (4), 2001.
- LIMA MRF, LUNA JS, SANTOS AF, ANDRADE MCC, SANT'ANA AEG, GENET JP, MARQUEZ B, NEUVILLE L, MOREAU N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**; (105): 137-147, 2006.
- LONDON B, JERONA A, et al. Long QT and ventricular arrhythmias in transgenic mice expressing the N terminus and first transmembrane segment of a voltage-gated potassium channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United**; (95): 2926-2931, 1998.
- LONG X, BOLUYT MO, HIPOLITO ML, LUNDBERG MS, ZHENG J-S, O'NEILL L, CIRIELLI C, LAKATTA EG, CROW MT. p53 and the hypoxia-induced apoptosis of cultured neonatal rat cardiac myocytes. **The Journal of Clinical Investigation**; 99, 2635-2643, 1997.
- MACIEL RL. Caracterização química e avaliação da qualidade e da estabilidade de produtos fitoterápicos e homeopáticos preparados com *L. pinaster* Mart. e *L. rupestris* Semir & Leitão Filho em comparação com *Arnica Montana* L., Fafar-UFMG. Belo Horizonte, MG. **Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas**, 2002.
- MACKAY J, MENSAH G. The Atlas of Heart Disease and Stroke. **World Health Organization Nonserial Publication**, 2004
www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/index.html.
- MACRAE WD, TOWERS GH. Biological activities of lignans. **Phytochemistry**; 23 (6): 1207-1220, 1984.
- MADIAS JE, BAZAZ R, AGARWAL H, WIN M, MEDEPALLI L. Anasarcamediated attenuation of the amplitude of electrocardiogram complexes: a description of a heretofore unrecognized phenomenon. **Journal of the American College of Cardiology**; 38, 756, 2001.
- MANDARIM-DE-LACERDA CA, PEREIRA LMM. Stereology of the myocardium in hypertensive rats under chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **Biomedical Research**; 8, 153-60. 1997.
- MIGUEL OG, LIMA EO, MORAIS VMF, GOMES STA, DELLE MONACHE F, BELLA CRUZ A, BELLA CRUZ RC, CECHINEL FILHO V. Antimicrobial activity of constituents isolated from *Lychnophora salicifolia* (Asteracea). **Phytoterapy Research**; 10: 694-696, 1996.

- MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007 disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=10817: acesso 25/07/2011.
- MOORE PK, AL-SWAYEH OA, GHONG NWS, EVANS RA, GIBSON A. L-N^G-nitro arginine (*L*-NOARG), a novel, *L*-arginine reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation *in vitro*. **British Journal of Pharmacology**; 99: 408-412, 1990.
- MORENO H, METZE K, BENTO A. Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. **Basic Research Cardiology**; 91: 249-55, 1996.
- MORENO JR H, NATHAN LP, COSTA SKP, METZE K, ANTUNES E, ZATZ R, DE NUCCI G. Enalapril does not prevent the myocardial ischemia caused by chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **European Journal Pharmacology**; 287: 93-96, 1995.
- MORENO JR H, NATHAN LP, METZE K, COSTA SK, ANTUNES E, HYSLOP S, ZATZ R, DE NUCCI G. Non-specific inhibitors of nitric oxide synthase cause myocardial necrosis in the rat. **Clinical Experimental Pharmacology Physiology**; 24 (5): 349-352, 1997.
- MUSCH TI, WOLFRAM S, HAGEMAN KS, PICKAR JG. Skeletal muscle ouabain binding sites are reduced in rats with chronic heart failure. **Journal of Applied Physiology**; 92: 2326–2334, 2002.
- MYLES DC. Novel biologically active natural and unnatural products. **Current Opinion in Biotechnology**; 14: 627-633, 2003.
- NOGUEIRA NPA, REIS PA, LARANJA GAT, PINTO AC, AIUB CAF, FELZENSZWALB I, PAES MC, BASTOS FF, BASTOS VLFC, SABINO KCC, COELHO MGP. *In vitro* and *in vivo* toxicological evaluation of extract and fractions from *Baccharis trimera* with anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**; 138: 513–522, 2011.
- NUMAGUCHI K, EGASHIRA K, TAKEMOTO M et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis cause coronary microvascular remodeling in rats. **Hypertension**; 26: 957-62, 1995.
- OATES JA, BROWN NJ. Anti-hipertensivos e terapia farmacológica da hipertensão pág. 657. In: Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da terapêutica. 11^a ed. Rio de Janeiro. McGraw Hill, 2010.
- OLIVEIRA AB, SAÚDE-GUIMARÃES DA, PERRY KSP, DUARTE DS, BOA VENTURA MAD, RASLAN DS, CHIARI E. Trypanocidal Sesquiterpene from *Lychnophora* Species. **Phytotherapy Research**; 10: 292-295, 1996.
- OLIVETTI G, CIGOLA E, MAESTRI R, CORRADI D, LAGRASTA C, GAMBERT SR, ANVERSA P. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology** ; 28:1463–1477, 1996.
- ORETO G, LUZZA F, DONATO A, et al. Electrocardiographic changes associated with haematocrit variations. **European Journal of Heart**;13:634, 1992.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE: Disponível em: http://www.who.int/topics/cardiovascular_diseases/en/: acessado 25/07/2011; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>: acessado em 26/07/2011; http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/media/brazil.pdf: acessado em 26/07/2011; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>: acessado em 27/07/2011.

- http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/index.html. Regulatory Situation of Herbal Medicines. A Worldwide Review. WHO/TRM/98.1, 1998.
- PACKER M, GHEORGUIADE M, YOUNG JB *et al*. Withdrawal of digoxin from patients with chronic heart failure treated with angiotensin converting-enzyme inhibitors. **New England Journal of Medicine**, 329, 1-7, 1993.
- PALMER RMJ, ASHTON DS, MONCADA S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from *L*-arginine. **Nature**, 333:664-666, 1988a.
- PALMER RMJ, REES DD, ASHTON DS, MONCADA S. *L*-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**; 153:1251-1256, 1988b.
- PAZOS-LÓPEZ P, PETEIRO-VÁZQUEZ J, CARCÍA-CAMPOS A, GARCÍA-BUENO L, TORRES JPA, CASTRO-BEIRAS A. The causes, consequences, and treatment of left or right heart failure. **Vascular Health and Risk Management**; 7 237-254, 2011.
- PEPINE CJ, HANDBERG EM, COOPER-DEHOFF RM, *et al*. A calcium antagonist vs a non-calcium antagonist hypertension treatment strategy for patients with coronary artery disease. The International Verapamil-Trandolapril Study (INVEST): a randomized controlled trial. **JAMA**, 290 : 2805–2816, 2003.
- PEREIRA LMM, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Quantitative examination of the cardiac myocytes in hypertensive rats under chronic inhibition of nitric oxide synthesis. **Journal of Biomedical Science**; 5:363–369, 1998.
- PEREIRA LMM, VIANNA GMM, MANDARIM-DE-LACERDA CA. Stereology of the myocardium in hypertensive rats. Differences in relation to the time of inhibition of nitric oxide synthesis. *Virchows Arch*;433:369–73, 1998.
- PHILLIPSON, J.D. New drugs from nature it could be yew. **Phytotherapy**;13: 2-8, 1999.
- PICMAN AK, TOWERS GHN. **Biochemical Systematics and Ecology**; 11: 321-327, 1983.
- PRASSAS I, KARAGIANNIS GS, BATRUCH I, DIMITROMANOLAKIS A, DATTI A, DIAMANDIS EP. Digitoxin-induced cytotoxicity in cancer cells is mediated through distinct kinase and interferon signaling networks. **Molecular Cancer Therapy**; 10 (8) 2011.
- QUAINI F, CIGOLA E, LAGRASTA C, SACCANI G, QUAINI E, ROSSI C, OLIVETTI G, ANVERSA P. End stage cardiac failure in humans is coupled with the induction of proliferating cell nuclear antigen and nuclear mitotic division in ventricular myocytes. **Circulation Research**; 75:1050–1063, 1994.
- RAHIMTOOLA SH, TAK T. The Use of Digitalis in Heart Failure. **Current Problems in Cardiology**; 21 (12), 1996.
- RATES SMK. Plantas as source of drogas. **Toxicon**; 39: 603-613. 2001.
- REES DD, PALMER RM, SCHULZ R, HODSON HF, MONCADA S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase *in vitro* and *in vivo*. **British Journal of Pharmacology**; 101 (3): 746-752, 1990.
- REFSIO C, BRANDÃO DC, BRANDÃO GC, KORUKIAN M, GARCIA RJ, BONFIGLIOLI R, NERY CAIO AS, GAMBA R. Avaliação clínica da eficácia e segurança do uso de extrato padronizado da *Cordia verbenacea* em pacientes portadores de tendinite e dor miofascial. **Revista Brasileira de Medicina**; 62 (1/2): 40-46, 2005.
- ROBINSON H. Generic and sub-tribal classification of American Vernoieae. **Smithsonian Contributions to Botany**, 89: 11-16, 1999.

- ROBLES M; AREGULLIN M; WEST J, RODRIGUEZ E. Recent Studies on the Zoopharmacognosy, Pharmacology and Neurotoxicology os Sesquiterpene Lactones. **Planta Médica**, 61: 199-203, 1995.
- RODRIGUEZ E, TOWERS GHN, MITCHELL JC. Biological Activities of Sesquiterpene Lactones. **Phytochemistry**, 15: 1573-1580, 1976.
- SAKUMA I, TOGASHI H, YOSHIOKA M, SAITO H, YANAGIDA M, TAMURA M, KOBAYASHI T, YASUDA H, GROSS SS, LEVI R. NGAMethyl-L-Arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activit *in vivo* a role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone? **Circulation Research**; 70, 607-611, 1992.
- SAMPAIO RC, TANUS-SANTOS JE, MELO SE, HYSLOP S, FRANCHINI KG, LUCA IM, MORENO H JR. Hypertension plus diabetes mimics the cardiomyopathy induced by nitric oxide inhibition in rats. **Chest**; 122(4):1412-20, 2002.
- SANTOS HB, MADRUGA MS, BION FM, ANTUNES NLM, MENDES K, ÀGUIDA R. Estudos Bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**; 24(4), 613-618, 2004.
- SANTOS MD, GOBBO-NETO L, ALBARELLA L, SOUZA GEP, LOPES NP. Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da Serra). **Journal of Ethnopharmacology**; 96, 545-549, 2005.
- SANTOS MRV, SOUZA VH, MENEZES IAC, BITENCURT JL, REZENDE-NETO JM, BARRETO AS, CUNHA FA, MARÇAL RM, TEIXEIRA-SILVA F, QUÍNTANS-JÚNIOR LJ, BARBOSA APO. Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**; 6 (10), 2010.
- SASAKI R, WATANABE Y, MORISHITA T. Estimation of the cell number of the heart muscle in normal rats. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**; 95, 177-84. 1968.
- SAÚDE-GUIMARÃES DA, RASLAN DS, SOUZA FILHO JD, OLIVEIRA AB. Constituents from the aerial parts of *Lychnophora trichocarpha*. **Fitoterapia**, LXIX: 90-91, 1998.
- SAÚDE DA. Estudo químico e atividade tripanossomicida de *Lychnophora trichocarpa* Spreng. **Dissertação de Mestrado-Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo-Horizonte, 136, 1994.
- SAÚDE-GUIMARÃES DA, BARRERO AF, OLTRA JE, JUSÍCIA J, RASLAN DS, SILVA E. A atividade antibacteriana de furanoelíngolidos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; 12: 7-10, 2002.
- SCHENKEL EP, GOSMANN G, PETROVICK PR. Protutos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In.: Simões, C. M. O., Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C., P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (org) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. Ed. Porto Alegre/Florianópolis; Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, Capítulo 15: 301-332, 2001.
- SCHILLACI G, VERDECCHIA R, BORGRONI C, CIUCCI A, ZAMPI I, BATTISTELLI M, GATTOBIGIO R, SACCHI N, PORCELLATI C. Association between persistent pressure overload and ventricular arrhythmias in essential hypertension. **Hypertension**; 28: 284-289, 1996.

- SCHMIDT C, FRONZA M, GOETTERT M, GELLER F, LUIK S, FLORES EMM, BITTENCOURT CF, ZANETTI GD, HEINZMANN BM, LAUFER S, MERFORT I. Biological studies on Brazilian plants used in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, 122: 523–532, 2009.
- SCHOCKEN DD, BENJAMIN EJ, FONAROW GC, KRUMHOLZ HM, LEVY D, MENSAH GA, *et al.* Prevention of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association Councils on Epidemiology and Prevention, Clinical Cardiology, cardiovascular Nursing, and High Blood Pressure Research; Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group; and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Group. **Circulation**; 117 (19): 2544-65, 2008.
- SEMIR, J, 1991. Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae, Compositae). Tese de doutorado, **Instituto de Biologia - UNICAMP, Campinas-SP**, 515 pp.
- SIMKOA F, MATUSKOVAA J, LUPTAKA I, KRAJCIROVICOVAA K, KUCHARSKAB J, GVOZDJAKOVAB A, BABALC P, PECHANOVA O. Effect of simvastatin on remodeling of the left ventricle and aorta in L-NAME-induced hypertension. **Life Sciences**; 74: 1211–1224, 2004.
- SMITH TW, ALLRED KD. Blood-pressure responses during social interaction in high- and low-cynically hostile males. **Journal of Behavioral Medicine**, 12 (2), 1988.
- SOARES AKA, CARMO GC, QUENTAL DP, NASCIMENTO DF, BEZERRA FAA, MORAES MO, MORAES MEA. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**; 447-454, 2006.
- STEEG TJ, FREIJER J, DANHOF M, LANGE ECM. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of S(-)-atenolol in rats: reduction of isoprenaline-induced tachycardia as a continuous pharmacodynamic endpoint. **British Journal of Pharmacology**; 151, 356–366, 2007.
- SU CT, HSU JTA, HSIEH HP, LIN PH, CHEN TC, KAO CL, LEE CN, CHAN SY. Anti-HSV activity of digitoxin and its possible mechanisms. **Antiviral Research**; 79; 62–70, 2008.
- SUFFREDINI IB, SADER HS, GONÇALVES AG *et al.* Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon Rain Forest and Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**; 37: 379-384. 2004.
- TANG Y, KATZ SD. Anemia in Chronic Heart Failure: Prevalence, Etiology, Clinical Correlates, and Treatment Options. **Circulation**; 113, 2454-2461, 2006.
- TAVARES JP, MARTINS IL, VIEIRA AS, LIMA FAV, BEZERRA FAF, MORAES MO, MORAES MEA. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 350-356, 2006.
- TORTI FM, BRISTOW MR, LUM BL, CARTER SK, HOWES DA ASTON *et al.* Cardiotoxicity of epirubicin and doxorubicin: assessment by endomyocardial biopsy. **Cancer Research**; 46: 3722-3727, 1986.
- VEIGA JUNIOR VF, PINTO AC. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**; 28 (3): 519-528, 2005.

- VEIGA-JUNIOR VF. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; 18: 308-313, 2008.
- VENDRUSCOLO GS, RATES SMK, MENTZ LA. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**; 15: 361-372, 2005.
- VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**; 95(1), 1-51, 2010.
- VICHNEWISKI W, SARTI SJ, GILBERT B. HERZ, W. Goyazensolide, a schistosomicidal heliangolide from *Eremanthus goyazensis*. **Phytochemistry**; 15: 191-193, 1976.
- VIDAL AT, GUIMARÃES HN, DE PAULA DCC, FREZARD F, SILVA-BARCELLOS NM, GRABE-GUIMARÃES A. Prolonged cardioprotective effect of pyridostigmine encapsulated in liposomes. **Life Sciences**; 86: 17–23, 2010.
- VITA JA, KEANEY JF JR. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? **Circulation**; 106:640–2, 2002.
- WANG HL, XIN W, ZHOU M, STUECKLE TA, ROJANASAKUL Y, O'DOHERTY GA. Stereochemical survey of digitoxin monosaccharides: new anticancer analogues with enhanced apoptotic activity and growth inhibitory effect on human non-small cell lung cancer cell. **Journal of Medicinal Chemistry**; 2 (1), 73-78, 2011.
- WANG X, REN B, LIU S, SENTEX E, TAPPIA PS, DHALLA NS. Characterization of cardiac hypertrophy and heart failure due to volume overload in the rat. **Journal of Applied Physiology**, 94: 752–763, 2003.
- WOLD LE, ABERLE NS, REN J. Doxorubicin induces cardiomyocyte dysfunction via a p38 MAP kinase-dependent oxidative stress mechanism. **Cancer Detection and Prevention**, 29: 294–299, 2005.
- YE G, METREVELI NS, REN J, EPSTEIN PN. Metallothionein prevents diabetes-induced deficits in cardiomyocytes by inhibiting reactive oxygen species production. **Diabetes**; 52 (3), 777–783, 2003.
- ZANFOLIN M, FARO R, ARAUJO EG, GUARALDO AM, ANTUNES E, DE NUCCI G. Protective effects of BAY 41-2272 (sGC stimulator) on hypertension, heart, and cardiomyocyte hypertrophy induced by chronic L-NAME treatment in rats **Journal of Cardiovascular Pharmacology**; 47 (3) 391–395, 2006
- ZHANG W, SHIBAMOTO T, KURATA Y, HIROYUKI K. Effects of β -adrenoceptor antagonists on anaphylactic hypotension in conscious rats. **European Journal of Pharmacology**; 650, 303–308, 2011.

9- ANEXOS

Tabela III: Média dos valores absolutos de PAS, PAD e FC de 1 a 5 horas após administração oral do veículo ou extrato etanólico *L.trichocarpha*.

Tempo (h)	PAS (mmHg)		PAD (mmHg)		FC (bpm)	
	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>
1	110,0 ± 5,05	123,2 ± 6,99	74,2 ± 4,96	84,2 ± 6,22	330 ± 16,36	363 ± 16,71
1,5	111,6 ± 3,82	131,9* ± 3,41	72,6 ± 3,63	94,6* ± 3,07	326 ± 13,14	323 ± 16,75
2	112,1 ± 4,66	132,4* ± 4,62	70,2 ± 3,82	93,0* ± 4,23	301 ± 13,62	304 ± 17,87
2,5	101,3 ± 6,10	126,7 ± 2,51	61,1 ± 5,10	83,1 ± 2,88	245 ± 9,96	326 ± 10,51
3	96,7 ± 8,31	127,3* ± 3,69	58,0 ± 6,14	85,9* ± 2,96	224 ± 9,67	322* ± 17,31
3,5	103,5 ± 6,89	145,0* ± 5,27	65,9 ± 5,95	102,9* ± 5,86	283 ± 23,89	334 ± 25,14
4	104,9 ± 6,98	143,3* ± 6,15	62,1 ± 6,78	102,2* ± 6,73	273 ± 24,43	315 ± 27,11
4,5	89,6 ± 6,01	125,6* ± 2,77	50,2 ± 5,10	84,4* ± 2,94	191 ± 9,39	345* ± 17,66
5	89,4 ± 5,42	135,1* ± 6,56	50,2 ± 4,83	91,2* ± 5,54	188 ± 10,25	351* ± 17,44

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos valores absolutos entre o veículo e o *L. trichocarpha*.

Tabela IV: Valores absolutos de PR, QRS, QT e QTc de 1 a 5 horas após administração oral do veículo ou extrato etanólico *L.trichocarpha*.

Tempo (h)	PR (ms)		QRS (ms)		QT (ms)		QTc	
	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>	Veículo	<i>L.trichocarpha</i>
1	55,3 ± 1,23	49,5 ± 1,12	20,2 ± 0,79	20,0 ± 0,46	68,5 ± 1,79	65,9 ± 0,97	121,0 ± 2,33	119,2 ± 1,51
1,5	58,8 ± 1,12	52,8 ± 1,57	21,9 ± 0,77	23,6 ± 2,08	70,8 ± 1,49	67,2 ± 1,02	121,0 ± 3,03	120,4 ± 0,91
2	59,5 ± 1,11	54,7 ± 1,70	22,7 ± 0,64	21,5 ± 0,51	72,6 ± 1,24	68,4 ± 0,83	119,4 ± 2,76	120,2 ± 1,40
2,5	63,2 ± 0,66	55,1 ± 1,86	23,4 ± 0,48	22,5 ± 0,72	73,0 ± 1,38	68,5 ± 0,98	116,3 ± 2,97	118,7 ± 1,10
3	64,2 ± 0,96	56,7 ± 2,43	25,7 ± 1,05	22,8 ± 0,91	73,3 ± 1,35	68,7 ± 0,83	113,8 ± 2,09	118,4 ± 1,90
3,5	64,6 ± 1,61	57,2 ± 2,61	25,5 ± 1,06	22,9 ± 1,09	73,9 ± 1,10	68,9 ± 1,45	113,1 ± 1,85	118,8 ± 1,71
4	65,3 ± 0,95	57,1 ± 2,71	24,6 ± 1,08	23,4 ± 1,06	74,1 ± 1,04	69,7 ± 1,59	111,2 ± 3,14	118,2 ± 1,91
4,5	62,7 ± 1,95	57,8 ± 2,41	25,1 ± 0,98	23,7 ± 1,00	74,9 ± 1,98	70,2 ± 1,38	111,0 ± 2,09	115,7 ± 2,22
5	65,9 ± 2,11	58,2 ± 2,57	26,4 ± 1,30	23,0 ± 1,11	74,1 ± 1,08	70,1 ± 1,16	110,3 ± 1,82	118,5 ± 2,49

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos valores absolutos entre o veículo e o *L. trichocarpha*.

Tabela V: Valores absolutos da PAS, PAD e FC de animais tratados com extrato de *L.trichocarpa* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	PAS (mmHg)			PAD (mmHg)			FC (bpm)		
	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina
0	159 ± 7,5	155 ± 4,5	163 ± 4,99	114 ± 7,2	110 ± 4,1	114 ± 6,4	321 ± 10,4	379 ± 13,4	333 ± 16,6
1	134* ± 7,3	117* ± 15,0	111* ± 8,23	93 ± 6,2	77* ± 11,1	70* ± 4,6	288 ± 6,8	342 ± 36,9	325 ± 19,7
2	133 ± 7,0	136 ± 4,0	116* ± 6,44	94 ± 5,0	94 ± 7,2	75* ± 4,2	266* ± 10,1	371 ± 13,8	332 ± 17,9
3	130 ± 8,7	142 ± 5,8	123* ± 6,66	96 ± 4,0	93 ± 4,2	83* ± 4,3	261* ± 6,7	371 ± 14,6	335 ± 17,5
4	132 ± 4,8	139 ± 4,6	130* ± 5,75	98 ± 7,2	92 ± 6,0	91* ± 3,5	255* ± 7,3	372 ± 17,8	337 ± 17,1
5	129 ± 5,8	134 ± 6,3	134* ± 4,96	92 ± 4,8	88 ± 7,5	95* ± 2,5	249* ± 6,4	377 ± 16,1	338 ± 17,1
10	137 ± 6,7	137 ± 6,2	133* ± 4,27	100 ± 5,1	92 ± 6,6	94* ± 2,4	238* ± 7,3	389 ± 14,3	333 ± 18,4
15	143 ± 6,6	138 ± 6,7	134* ± 3,90	98 ± 6,1	92 ± 5,3	95* ± 2,7	231* ± 7,4	388 ± 13,8	336 ± 14,4
20	141 ± 4,3	132 ± 3,1	136* ± 3,04	96 ± 5,0	90 ± 4,2	97* ± 2,7	227* ± 8,6	376 ± 14,3	334 ± 13,8
25	140 ± 5,3	132 ± 3,0	132* ± 3,48	96 ± 4,8	91 ± 3,5	95* ± 2,9	223* ± 7,3	380 ± 15,1	331 ± 14,1
30	139 ± 5,9	133 ± 4,2	133* ± 2,51	92 ± 4,2	92 ± 3,5	95* ± 2,1	221* ± 6,3	377 ± 17,2	331 ± 13,7
35	143 ± 6,0	132 ± 6,2	132* ± 2,56	95 ± 5,6	90 ± 6,0	96* ± 2,2	219* ± 7,6	376 ± 19,7	330 ± 14,7
40	135 ± 5,3	134 ± 5,0	129* ± 2,86	90 ± 7,4	94* ± 4,3	94* ± 2,4	219* ± 6,7	378 ± 17,3	329 ± 14,0
45	144 ± 6,7	130 ± 6,9	128* ± 3,05	93 ± 5,6	91 ± 5,4	95* ± 2,4	211* ± 4,6	371 ± 14,2	326 ± 13,8
50	147 ± 5,2	129 ± 5,9	131* ± 3,13	96 ± 4,2	92 ± 4,9	95* ± 2,4	219* ± 6,9	386 ± 12,7	326 ± 14,4
55	142 ± 4,4	125 ± 8,2	131* ± 4,89	93 ± 3,8	89 ± 6,1	96* ± 2,7	223* ± 9,2	376 ± 17,4	297 ± 15,8
60	143 ± 3,4	130 ± 7,6	133* ± 3,41	93 ± 3,4	90 ± 8,4	98* ± 3,2	224* ± 9,7	378 ± 21,1	306 ± 11,5

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos em relação ao tempo antes da administração dos fármacos.

Tabela VI: Valores absolutos do intervalo PR e complexo QRS do ECG de animais tratados com extrato de *L.trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	PR (ms)			QRS (ms)		
	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina
0	50,7 ± 0,57	46,7 ± 1,20	49,9 ± 1,57	21,3 ± 0,72	24,5 ± 1,85	25,4 ± 1,057
1	52,1 ± 0,85	48,7 ± 1,62	49,5 ± 1,37	21,6 ± 0,61	24,3 ± 1,95	25,6 ± 1,012
2	51,8 ± 1,03	47,9 ± 1,01	49,3 ± 1,48	21,1 ± 0,60	23,8 ± 1,59	25,4 ± 0,915
3	51,3 ± 1,08	48,0 ± 1,07	49,3 ± 1,46	21,5 ± 0,58	24,3 ± 1,76	25,6 ± 0,907
4	51,6 ± 1,07	47,6 ± 1,30	49,6 ± 1,66	21,6 ± 0,68	23,9 ± 1,46	25,8 ± 0,878
5	51,8 ± 1,14	47,5 ± 0,95	49,6 ± 1,54	21,8 ± 0,63	23,8 ± 1,56	26,3 ± 0,953
10	52,0 ± 1,17	46,2 ± 0,93	48,4 ± 1,14	21,9 ± 0,64	24,0 ± 1,69	26,7 ± 1,001
15	52,2 ± 1,01	47,2 ± 1,03	49,4 ± 1,15	21,7 ± 0,75	24,3 ± 1,79	26,4 ± 0,858
20	51,7 ± 1,36	46,9 ± 1,27	49,5 ± 1,37	22,2 ± 0,77	24,5 ± 2,00	26,8 ± 1,173
25	52,0 ± 1,51	47,0 ± 1,54	49,5 ± 1,03	22,3 ± 0,80	23,9 ± 1,45	27,0 ± 1,316
30	52,2 ± 1,68	47,2 ± 1,24	50,8 ± 1,30	21,9 ± 0,70	24,7 ± 1,82	26,2 ± 1,201
35	52,5 ± 1,35	47,4 ± 1,21	50,5 ± 1,51	22,1 ± 0,72	24,3 ± 1,68	26,9 ± 1,135
40	52,9 ± 1,23	47,4 ± 1,31	50,9 ± 1,75	22,2 ± 0,88	24,5 ± 1,73	27,1 ± 1,227
45	52,7 ± 1,48	47,5 ± 1,29	49,9 ± 1,28	22,4 ± 0,73	23,9 ± 1,53	26,8 ± 1,076
50	52,9 ± 1,69	47,2 ± 1,59	50,0 ± 1,17	22,2 ± 0,79	24,6 ± 1,78	27,1 ± 0,893
55	51,5 ± 1,47	47,7 ± 1,31	51,0 ± 1,36	22,4 ± 0,90	23,8 ± 1,43	27,2 ± 1,011
60	52,8 ± 1,54	47,3 ± 1,38	50,8 ± 0,68	22,7 ± 0,70	23,9 ± 1,52	27,0 ± 1,124

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela VII: Valores absolutos do intervalo QT e QTc do ECG de animais tratados com extrato de *L.trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	QT (ms)			QTc		
	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina
0	65,5 ± 1,39	69,8 ± 1,41	67,4 ± 1,57	114,5 ± 2,94	128,7 ± 1,58	119,1 ± 3,00
1	66,0 ± 1,70	68,9 ± 0,96	69,7 ± 2,15	111,3 ± 2,93	122,0 ± 5,13	122,2 ± 4,83
2	66,3 ± 1,60	68,7 ± 1,10	68,7 ± 1,86	107,6 ± 3,52	125,9 ± 1,50	121,3 ± 4,02
3	65,5 ± 2,42	69,9 ± 1,40	69,3 ± 1,92	106,9 ± 3,77	128,1 ± 2,18	122,8 ± 3,99
4	65,5 ± 1,48	69,0 ± 1,41	68,0 ± 1,91	106,0 ± 2,32	126,5 ± 2,09	120,7 ± 4,22
5	66,5 ± 1,44	69,4 ± 1,12	69,6 ± 1,73	106,2 ± 2,32	127,8 ± 1,72	123,8 ± 4,40
10	65,2 ± 1,74	69,3 ± 1,34	70,0 ± 1,84	103,1* ± 2,87	127,1 ± 3,28	122,4 ± 4,34
15	66,1 ± 1,54	68,5 ± 1,41	68,9 ± 1,52	103,6* ± 2,41	127,5 ± 2,36	122,2 ± 3,54
20	66,7 ± 1,26	69,0 ± 1,43	69,6 ± 1,45	103,9* ± 2,18	127,1 ± 2,32	123,3 ± 3,20
25	67,1 ± 1,01	68,9 ± 1,23	69,4 ± 1,54	103,9* ± 1,90	127,2 ± 2,08	122,5 ± 3,34
30	66,9 ± 1,38	69,2 ± 1,92	70,0 ± 1,98	103,2* ± 2,28	127,2 ± 2,13	123,7 ± 4,45
35	67,5 ± 1,00	68,9 ± 1,70	69,2 ± 1,50	103,9* ± 1,91	126,5 ± 1,72	122,1 ± 3,63
40	66,9 ± 1,01	69,2 ± 1,65	69,8 ± 1,60	102,9* ± 1,43	127,5 ± 2,03	123,0 ± 3,82
45	68,1 ± 1,18	69,4 ± 1,40	70,3 ± 1,69	104,0 ± 2,10	127,1 ± 2,52	123,5 ± 3,89
50	67,8 ± 1,22	68,7 ± 1,53	70,7 ± 1,90	104,4 ± 2,12	127,6 ± 2,48	124,1 ± 4,17
55	68,4 ± 1,08	68,6 ± 1,07	69,8 ± 1,76	105,9 ± 2,30	124,6 ± 3,63	116,8 ± 4,66
60	68,7 ± 1,44	69,3 ± 1,72	70,5 ± 1,74	106,4 ± 2,87	127,6 ± 2,35	121,2 ± 2,77

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos em relação ao tempo antes da administração dos fármacos.

Tabela VIII: Variações percentuais da PAS, PAD e FC de animais tratados com extrato de *L.trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	PAS			PAD			FC		
	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina
1	-15,3* ± 2,97	-24,1* ± 9,97	-31,5* ± 5,9	-17,5 ± 3,74	-29,5* ± 10,00	-37,8* ± 6,08	-10,0 ± 1,42	-10,8 ± 7,97	-2,5 ± 1,90
2	-16,0* ± 4,14	-12,0 ± 1,93	-28,7* ± 4,8	-16,1 ± 5,11	-15,2 ± 4,80	-33,3* ± 5,57	-16,8 ± 2,74	-2,2 ± 1,42	-0,2 ± 0,98
3	-17,8* ± 5,21	-8,6 ± 1,95	-24,1* ± 4,7	-13,9 ± 5,14	-15,8 ± 2,95	-26,1* ± 5,37	-18,3* ± 2,57	-2,2 ± 1,96	0,7 ± 0,57
4	-16,4* ± 3,82	-10,1 ± 2,16	-20,0* ± 4,2	-13,5 ± 3,54	-16,7 ± 5,03	-19,5 ± 5,06	-20,1* ± 2,72	-2,1 ± 2,11	1,3 ± 0,29
5	-18,0* ± 3,60	-13,0 ± 3,72	-17,4* ± 3,9	-18,5 ± 4,43	-19,8 ± 6,17	-15,9 ± 5,40	-22,1* ± 2,86	-0,8 ± 1,40	1,7 ± 0,31
10	-13,1 ± 3,26	-11,1 ± 3,62	-17,8* ± 3,6	-11,5 ± 3,48	-16,3 ± 5,71	-16,5 ± 5,27	-25,6* ± 3,15	2,5 ± 1,15	0,0 ± 1,41
15	-9,8 ± 2,59	-10,7 ± 3,27	-17,1 ± 3,8	-13,6 ± 4,36	-16,2 ± 3,98	-15,8 ± 6,11	-27,4* ± 3,61	2,5 ± 1,23	1,1 ± 0,99
20	-10,7 ± 2,93	-14,4 ± 3,58	-16,1 ± 3,5	-14,8 ± 5,18	-18,4 ± 3,98	-13,8 ± 5,20	-28,6* ± 3,92	-0,8 ± 2,07	0,5 ± 1,04
25	-11,8 ± 2,24	-14,3 ± 3,73	-18,5* ± 3,9	-15,0 ± 4,13	-17,0 ± 3,67	-15,8 ± 5,79	-29,9* ± 3,42	0,1 ± 1,79	-0,3 ± 1,45
30	-12,2 ± 2,87	-13,6 ± 3,04	-18,3* ± 2,8	-18,3 ± 4,81	-16,2 ± 2,59	-15,6 ± 4,56	-30,7* ± 3,21	-0,8 ± 1,38	-0,4 ± 1,10
35	-9,8 ± 1,77	-14,4 ± 3,82	-18,3* ± 3,2	-16,4 ± 3,16	-18,2 ± 4,48	-14,7 ± 5,30	-31,3* ± 3,37	-1,0 ± 2,31	-0,7 ± 1,16
40	-13,9 ± 4,66	-13,4 ± 3,46	-20,3* ± 3,4	-19,3 ± 8,28	-14,6 ± 3,15	-16,6 ± 5,49	-31,4* ± 3,32	-0,4 ± 2,50	-1,0 ± 1,09
45	-8,9 ± 1,39	-16,1 ± 4,38	-20,9* ± 3,2	-17,8 ± 4,18	-18,2 ± 2,85	-15,2 ± 5,84	-33,9* ± 2,46	-2,1 ± 1,85	-1,6 ± 1,78
50	-7,4 ± 1,26	-16,4 ± 4,26	-19,2* ± 3,6	-15,0 ± 4,39	-17,1 ± 3,08	-15,7 ± 5,79	-31,2* ± 3,26	1,8 ± 1,37	-1,9 ± 1,39
55	-9,9 ± 2,17	-19,1* ± 4,61	-19,2* ± 4,4	-17,5 ± 3,54	-19,6 ± 3,30	-14,5 ± 6,28	-29,9* ± 3,81	-0,7 ± 3,08	-10,1* ± 4,52
60	-9,1 ± 3,26	-16,0 ± 5,05	-17,8* ± 3,9	-16,6 ± 4,63	-18,5 ± 6,36	-12,5 ± 6,45	-29,9* ± 3,77	-0,5 ± 3,37	-7,3 ± 4,38

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos em relação ao tempo antes da administração dos fármacos.

Tabela IX: Variações percentuais do intervalo PR e complexo QRS do ECG de animais tratados com extrato de *L.trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	PR			QRS		
	Atenolol	Captopril	Prazosina	Atenolol	Captopril	Prazosina
1	2,7 ± 0,76	4,3 ± 3,05	-0,7 ± 1,30	1,5 ± 0,87	-0,7 ± 1,31	0,7 ± 1,27
2	2,1 ± 0,93	2,7 ± 1,96	-1,1 ± 1,27	-0,5 ± 1,23	-2,7 ± 1,23	0,3 ± 1,68
3	1,1 ± 1,13	2,9 ± 1,87	-1,1 ± 1,15	1,3 ± 1,09	-0,6 ± 1,22	0,9 ± 1,88
4	1,6 ± 1,07	1,9 ± 1,67	-0,6 ± 0,84	1,6 ± 1,21	-1,9 ± 2,02	1,8 ± 1,22
5	2,1 ± 1,12	1,8 ± 1,08	-0,6 ± 1,35	2,6 ± 1,61	-2,6 ± 1,01	3,6 ± 1,9
10	2,5 ± 1,43	-0,9 ± 1,05	-2,9 ± 1,22	3,1 ± 1,81	-1,8 ± 1,13	5,2 ± 1,83
15	2,9 ± 1,16	1,1 ± 1,39	-0,8 ± 1,21	2,4 ± 2,47	-0,8 ± 0,84	4,5 ± 2,54
20	1,9 ± 1,88	0,3 ± 1,46	-0,7 ± 1,70	4,8 ± 2,44	0,1 ± 1,4	5,7 ± 2,37
25	2,5 ± 2,23	0,5 ± 1,95	-0,5 ± 1,56	4,9 ± 1,84	-1,8 ± 1,88	6,2 ± 2,62
30	2,8 ± 2,38	1,1 ± 1,33	1,9 ± 1,00	3,3 ± 2,14	1,1 ± 1,6	3,1 ± 2,20
35	3,3 ± 1,66	1,6 ± 1,38	1,3 ± 1,62	3,9 ± 2,16	-0,6 ± 1,24	6,1 ± 2,07
40	4,2 ± 1,58	1,4 ± 1,8	2,0 ± 1,93	4,3 ± 1,6	0,4 ± 1,25	7,0 ± 3,59
45	3,8 ± 2,03	1,8 ± 1,56	0,2 ± 1,53	5,4 ± 1,87	-1,9 ± 1,6	6,0 ± 3,27
50	4,2 ± 2,2	1,1 ± 2,13	0,3 ± 1,55	4,6 ± 1,77	0,6 ± 1,51	7,2 ± 3,09
55	1,4 ± 1,84	2,2 ± 2,03	2,3 ± 1,60	5,2 ± 1,40	-1,9 ± 2,72	7,7 ± 3,40
60	4,0 ± 2,04	1,4 ± 2,21	2,2 ± 2,67	7,1 ± 2,81	-1,7 ± 1,89	6,9 ± 4,50

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela X: Variações percentuais dos intervalo QT e QTc, de animais tratados com extrato de *L.trichocarpha* 1,5 g/kg até 60 minutos após a administração IV de atenolol, captopril ou prazosina.

Tempo (min)	QT						QTc					
	Atenolol		Captopril		Prazosina		Atenolol		Captopril		Prazosina	
1	0,7	± 1,03	-1,1	± 1,57	3,3	± 1,79	-2,8	± 0,67	-5,1	± 4,5	2,4	± 1,93
2	1,1	± 0,97	-1,4	± 0,70	1,8	± 1,16	-6,1*	± 1,58	-2,1	± 0,98	1,8	± 1,33
3	-0,1	± 2,09	0,3	± 0,87	2,8	± 1,24	-6,7*	± 2,13	-0,5	± 1,02	3,0	± 1,35
4	-0,1	± 0,72	-1,0	± 0,64	0,8	± 1,30	-7,4*	± 1,03	-1,7	± 0,82	1,2	± 1,34
5	1,5	± 0,97	-0,4	± 0,85	3,3	± 1,57	-7,2*	± 0,58	-0,7	± 0,93	3,8	± 1,63
10	-0,5	± 0,93	-0,7	± 0,75	3,7	± 1,31	-10*	± 0,73	-1,4	± 1,71	2,8	± 2,25
15	0,8	± 0,66	-1,8	± 1,03	2,2	± 1,69	-9,5*	± 1,08	-1,0	± 1,11	2,6	± 1,56
20	1,9	± 0,9	-1,0	± 1,55	3,2	± 1,03	-9,1*	± 1,38	-1,3	± 1,51	3,5	± 0,80
25	2,5	± 1,53	-1,2	± 1,08	3,0	± 1,55	-9,1*	± 1,74	-1,2	± 1,29	2,8	± 1,25
30	2,1	± 0,88	-0,8	± 1,33	3,9	± 1,94	-9,8*	± 1,47	-1,2	± 0,98	3,7	± 1,80
35	3,1	± 1,12	-1,3	± 1,13	2,7	± 1,55	-9,1*	± 1,46	-1,7	± 0,88	2,5	± 1,45
40	2,3	± 1,34	-0,7	± 1,82	3,6	± 1,67	-9,9*	± 1,57	-0,9	± 1,27	3,3	± 1,40
45	4,0	± 0,74	-0,5	± 1,42	4,3	± 2,17	-9,1*	± 1,3	-1,2	± 1,55	3,7	± 1,64
50	3,5	± 1,07	-1,4	± 1,72	4,8	± 1,52	-8,8*	± 1,05	-0,9	± 1,46	4,1	± 1,26
55	4,4	± 1,11	-1,5	± 1,19	3,6	± 2,06	-7,4*	± 1,38	-3,3	± 2,04	-1,9	± 3,40
60	4,9	± 1,21	-0,5	± 2,45	4,6	± 1,73	-7,0*	± 1,48	-0,8	± 2,00	1,9	± 2,09

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa dos em relação ao tempo antes da administração dos fármacos.

Tabela XI: Valores absolutos de PAS de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	PAS (mmHg)											
	Controle salina		Controle EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME salina		<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg		<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	122	± 2,8	123	± 3,8	107	± 9,8	120	± 4,8	114	± 2,7	95	± 8,0
1	125	± 7,2	113	± 4,1	111	± 9,6	109	± 5,8	142	± 8,2	115	± 8,8
2	123	± 6,2	124	± 6,8	108	± 9,0	116	± 6,6	144	± 6,8	114	± 7,3
3	120	± 5,7	124	± 4,2	108	± 8,6	119	± 5,1	139	± 6,8	106	± 8,2
4	119	± 4,6	126	± 4,7	97	± 6,2	118	± 5,9	141	± 4,2	97	± 9,1
5	119	± 3,6	128	± 5,7	108	± 6,7	122	± 7,2	133	± 5,3	96	± 9,5
10	124	± 2,1	122	± 7,8	110	± 6,6	119	± 5,8	132	± 4,1	97	± 12,0
15	129	± 3,4	123	± 7,3	105	± 7,4	121	± 2,1	131	± 5,4	93	± 11,0
20	125	± 2,8	118	± 7,5	114	± 7,3	124	± 3,2	132	± 4,0	106	± 9,5
25	122	± 2,7	118	± 7,2	112	± 8,0	120	± 5,5	131	± 4,6	110	± 9,7
30	123	± 2,6	113	± 7,2	104	± 10,3	123	± 4,6	129	± 5,3	105	± 8,5
40	124	± 4,3	117	± 6,7	113	± 7,8	129	± 5,6	125	± 6,3	103	± 7,9
50	129	± 1,8	114	± 7,1	113	± 8,9	126	± 7,6	126	± 6,5	105	± 8,4
60	128	± 3,4	121	± 9,8	105	± 6,3	127	± 9,4	123	± 5,2	114	± 6,8
80	122	± 5,5	113	± 4,4	103	± 7,4	118	± 8,9	116	± 6,8	109	± 9,3
100	133	± 2,1	107	± 10,6	112	± 11,3	118	± 8,9	116	± 6,7	113	± 7,9
120	130	± 4,8	101	± 7,9	102	± 6,3	118	± 9,0	116	± 5,3	120	± 8,5

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XII: Valores absolutos de PAD de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	PAD (mmHg)											
	Controle salina		Controle EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME salina		<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg		<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	84	± 2,4	81	± 5,6	75	± 6,3	81	± 4,1	72	± 1,6	68	± 4,1
1	88	± 5,9	68	± 3,8	75	± 5,5	71	± 3,2	85	± 4,4	86	± 4,4
2	84	± 5,1	81	± 6,5	73	± 5,4	79	± 2,3	88	± 4,4	87	± 3,8
3	83	± 4,8	83	± 4,0	74	± 4,8	80	± 2,4	86	± 3,8	84	± 4,3
4	81	± 3,7	84	± 4,5	73	± 4,6	80	± 2,2	86	± 2,7	73	± 5,3
5	86	± 4,0	85	± 4,7	75	± 3,6	80	± 3,4	83	± 3,8	71	± 5,3
10	89	± 4,4	81	± 6,9	76	± 4,0	74	± 13,4	82	± 2,9	74	± 6,8
15	88	± 3,2	81	± 6,1	74	± 4,1	82	± 3,1	84	± 4,3	74	± 7,8
20	86	± 2,4	77	± 6,9	77	± 4,8	91	± 7,8	87	± 3,2	84	± 5,5
25	83	± 3,2	78	± 5,5	75	± 5,2	81	± 5,0	86	± 4,6	84	± 4,7
30	84	± 2,9	82	± 5,2	74	± 3,1	85	± 5,2	87	± 4,4	79	± 4,8
40	86	± 3,9	83	± 6,7	77	± 5,6	85	± 5,0	87	± 5,7	75	± 6,9
50	89	± 2,2	74	± 7,2	76	± 6,5	83	± 5,9	84	± 7,0	78	± 5,2
60	87	± 3,1	78	± 10,8	74	± 6,4	85	± 8,8	82	± 7,0	85	± 4,6
80	81	± 5,1	77	± 6,7	68	± 5,6	80	± 8,7	81	± 9,5	84	± 5,6
100	94	± 1,7	71	± 10,1	75	± 8,4	76	± 7,8	79	± 6,2	81	± 4,7
120	89	± 3,0	65	± 5,8	67	± 5,1	77	± 9,0	77	± 7,1	85	± 4,6

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XIII: Valores absolutos de FC de animais controle e tratados previamente com *L-NAME* antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	FC (bpm)											
	Controle salina		Controle EREC 10mg/kg		<i>L-NAME</i> salina		<i>L-NAME</i> EREC 3mg/kg		<i>L-NAME</i> EREC 10mg/kg		<i>L-NAME</i> digitoxina 0,3mg/kg	
0	235	± 14,6	208	± 14,3	234	± 22,7	205	± 27,0	151	± 14,0	189	± 17,2
1	248	± 15,1	186	± 8,2	242	± 20,8	190	± 23,2	127	± 16,4	202	± 23,1
2	253	± 15,2	192	± 8,7	247	± 19,8	193	± 23,0	136	± 15,2	211	± 24,8
3	248	± 20,5	195	± 8,3	246	± 19,4	194	± 22,5	140	± 12,7	214	± 26,2
4	257	± 15,6	194	± 8,1	246	± 18,4	199	± 24,9	143	± 13,2	224	± 25,2
5	259	± 15,5	194	± 8,6	246	± 18,7	201	± 26,0	142	± 15,5	220	± 27,6
10	264	± 18,9	193	± 11,9	255	± 23,7	208	± 25,0	142	± 14,5	213	± 24,3
15	254	± 14,7	196	± 12,6	250	± 22,1	221	± 21,7	147	± 17,2	207	± 24,3
20	233	± 12,4	189	± 8,4	244	± 18,4	222	± 21,8	163	± 21,9	211	± 24,0
25	236	± 14,4	193	± 12,7	252	± 16,0	227	± 19,4	183	± 27,7	238	± 28,2
30	238	± 15,2	195	± 14,4	251	± 17,0	238	± 17,0	192	± 27,7	257	± 27,9
40	248	± 12,9	203	± 18,0	246	± 15,2	237	± 14,3	214	± 32,8	248	± 26,7
50	240	± 14,1	196	± 28,1	241	± 10,2	231	± 17,1	213	± 34,0	243	± 24,8
60	230	± 14,6	202	± 32,9	234	± 10,4	245	± 15,2	207	± 34,3	260	± 21,2
80	194	± 15,0	199	± 28,5	227	± 14,8	225	± 23,3	202	± 37,7	267	± 21,3
100	199	± 14,5	195	± 37,5	233	± 10,8	229	± 23,7	209	± 28,8	273	± 16,4
120	176	± 15,5	184	± 36,0	231	± 17,3	210	± 23,8	208	± 24,1	277	± 12,6

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XIII: Valores absolutos de PVE_{máx} de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	PVE _{máx} (mmHg)											
	Controle salina		Controle EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME salina		<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg		<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	127	± 5,1	123	± 6,4	108	± 8,3	127	± 8,7	119	± 2,9	97	± 19,1
1	130	± 8,2	117	± 4,2	110	± 7,5	116	± 6,7	148	± 8,0	121	± 16,0
2	126	± 7,0	129	± 7,2	108	± 7,9	123	± 6,1	151	± 7,2	120	± 19,7
3	133	± 11,5	128	± 6,0	109	± 7,4	127	± 6,3	146	± 6,4	115	± 19,6
4	123	± 5,5	129	± 7,0	109	± 7,5	130	± 6,6	147	± 4,1	103	± 19,1
5	126	± 3,9	128	± 9,6	110	± 6,4	131	± 7,8	139	± 5,4	101	± 19,5
10	138	± 7,1	125	± 10,5	114	± 6,1	135	± 7,6	138	± 5,4	104	± 18,8
15	137	± 5,8	126	± 9,0	114	± 6,5	137	± 7,7	138	± 5,5	102	± 18,8
20	132	± 4,3	123	± 9,2	123	± 8,4	137	± 7,5	139	± 4,7	115	± 20,0
25	130	± 1,5	124	± 9,2	117	± 7,7	134	± 7,9	137	± 5,0	117	± 19,0
30	132	± 5,6	121	± 8,6	117	± 6,3	131	± 6,8	135	± 5,3	111	± 17,2
40	134	± 5,2	128	± 8,6	120	± 7,7	130	± 8,9	131	± 5,8	109	± 15,9
50	144	± 7,3	124	± 8,3	117	± 8,1	131	± 9,3	130	± 6,7	112	± 15,0
60	139	± 6,3	128	± 11,4	109	± 7,7	130	± 12,7	126	± 6,2	123	± 16,5
80	132	± 3,9	120	± 6,0	106	± 7,3	120	± 12,8	121	± 8,9	121	± 12,6
100	144	± 3,0	115	± 13,1	115	± 9,9	118	± 14,1	119	± 8,1	123	± 15,7
120	138	± 5,7	106	± 11,9	107	± 7,9	119	± 14,5	119	± 6,2	126	± 17,3

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XIV: Valores absolutos de PVEDP de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	PVEDP (mmHg)											
	Controle salina		Controle EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME salina		<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg		<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg		<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	7,7	± 1,03	7,6	± 1,23	0,0	± 0,94	6,8	± 2,61	11,4	± 2,82	1,079	± 1,73
1	10,6	± 1,55	9,8	± 1,69	0,9	± 0,59	9,5	± 2,83	19,2	± 2,67	3,546	± 1,58
2	9,6	± 1,38	10,3	± 1,98	1,0	± 0,74	9,2	± 2,71	16,6	± 2,61	2,342	± 2,03
3	10,9	± 2,01	9,4	± 2,01	0,8	± 0,82	8,7	± 2,70	15,5	± 1,32	2,297	± 1,93
4	9,2	± 1,29	9,9	± 2,44	1,2	± 0,88	8,8	± 3,00	14,9	± 1,66	2,003	± 2,06
5	9,2	± 1,18	10,5	± 2,78	1,2	± 0,80	9,6	± 2,92	16,2	± 1,55	1,662	± 2,18
10	10,7	± 1,72	10,4	± 3,11	1,4	± 0,86	8,6	± 2,72	13,8	± 2,76	2,436	± 2,46
15	10,0	± 1,62	10,6	± 3,72	2,0	± 1,30	8,9	± 2,58	10,3	± 2,53	3,310	± 2,42
20	12,4	± 2,36	10,2	± 3,49	3,3	± 0,97	7,7	± 2,27	8,1	± 2,36	3,805	± 2,81
25	11,1	± 1,93	10,8	± 4,09	2,4	± 0,93	8,0	± 2,73	7,8	± 2,33	3,386	± 2,63
30	12,5	± 2,42	10,1	± 3,61	3,2	± 1,28	7,2	± 1,98	7,5	± 2,51	1,726	± 2,67
40	12,0	± 2,59	10,1	± 3,99	3,3	± 1,13	6,7	± 1,86	6,7	± 2,80	2,305	± 2,73
50	11,8	± 2,45	10,6	± 4,14	3,4	± 1,40	7,7	± 3,23	5,9	± 2,76	2,241	± 2,77
60	11,5	± 2,08	10,7	± 3,66	2,9	± 1,40	7,8	± 2,28	6,6	± 2,31	3,260	± 2,62
80	12,2	± 1,86	9,8	± 3,44	3,3	± 1,30	6,6	± 1,51	7,0	± 2,32	3,229	± 2,77
100	13,6	± 3,17	8,6	± 3,03	3,4	± 1,23	6,6	± 1,79	6,7	± 1,63	2,671	± 2,36
120	12,0	± 1,50	8,2	± 2,87	1,6	± 1,70	6,9	± 1,84	6,8	± 1,32	3,043	± 2,23

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XV: Valores absolutos de DP de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	DP (10 ² mmHg/s)					
	Controle salina	Controle EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME salina	<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg	<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg
0	283 ± 13,8	259 ± 26,3	260 ± 47,7	250 ± 38,8	173 ± 14,0	191 ± 22,9
1	308 ± 21,8	210 ± 10,8	276 ± 45,1	210 ± 32,0	181 ± 21,1	250 ± 34,1
2	309 ± 19,7	239 ± 16,4	273 ± 41,7	228 ± 34,2	199 ± 22,5	254 ± 33,7
3	295 ± 22,5	243 ± 16,2	273 ± 39,4	233 ± 31,1	196 ± 20,6	242 ± 35,5
4	303 ± 17,9	246 ± 15,5	238 ± 21,5	240 ± 35,7	202 ± 18,7	234 ± 32,3
5	299 ± 18,7	248 ± 16,3	268 ± 33,8	246 ± 35,2	192 ± 23,0	228 ± 36,2
10	325 ± 23,3	238 ± 25,6	279 ± 30,7	253 ± 38,4	188 ± 18,2	219 ± 30,2
15	328 ± 23,6	245 ± 25,4	267 ± 35,6	268 ± 28,4	194 ± 22,8	207 ± 35,1
20	281 ± 11,9	225 ± 22,9	277 ± 24,3	278 ± 31,5	215 ± 25,2	242 ± 37,5
25	287 ± 19,4	230 ± 25,0	282 ± 30,3	276 ± 32,0	242 ± 33,3	282 ± 37,4
30	294 ± 23,8	224 ± 30,1	258 ± 27,0	295 ± 25,6	250 ± 33,6	292 ± 40,7
40	309 ± 22,7	243 ± 34,3	275 ± 22,4	306 ± 25,6	272 ± 41,0	278 ± 36,5
50	310 ± 17,6	233 ± 48,2	271 ± 24,2	292 ± 29,7	274 ± 42,7	279 ± 38,3
60	297 ± 24,5	259 ± 62,7	244 ± 17,8	312 ± 31,5	259 ± 42,2	318 ± 31,3
80	227 ± 20,5	229 ± 41,5	231 ± 21,2	273 ± 43,1	246 ± 40,0	304 ± 29,4
100	263 ± 17,3	225 ± 68,5	260 ± 29,2	275 ± 37,0	246 ± 35,2	330 ± 30,1
120	230 ± 23,9	187 ± 53,3	236 ± 22,3	249 ± 39,3	245 ± 30,9	353 ± 27,8

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XVI: Valores absolutos do intervalo PR do ECG de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	PR (ms)						
	Controle salina	Controle EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME salina	<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg	<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	64,7 ± 0,56	61,1 ± 1,57	60,6 ± 0,83	57,4 ± 2,71	61,4 ± 1,42	55,7 ± 1,51	
1	65,1 ± 0,35	61,6 ± 0,68	60,8 ± 1,33	58,6 ± 3,02	61,5 ± 0,84	57,1 ± 2,07	
2	64,9 ± 0,38	62,3 ± 0,94	60,5 ± 1,52	59,0 ± 2,72	61,2 ± 1,04	56,4 ± 2,93	
3	65,6 ± 0,45	61,8 ± 0,80	60,7 ± 1,54	59,0 ± 2,81	61,1 ± 1,47	57,7 ± 3,05	
4	65,4 ± 0,41	61,5 ± 1,01	60,7 ± 1,14	59,5 ± 3,13	61,5 ± 1,85	59,3 ± 2,42	
5	65,8 ± 0,26	61,0 ± 0,53	61,3 ± 1,08	59,4 ± 3,56	61,8 ± 2,42	59,0 ± 2,68	
10	65,9 ± 0,45	62,4 ± 1,11	60,5 ± 1,53	60,5 ± 3,39	61,5 ± 2,11	59,5 ± 2,00	
15	65,8 ± 0,49	62,0 ± 0,86	61,3 ± 1,39	60,9 ± 3,55	60,5 ± 1,56	58,0 ± 1,98	
20	65,5 ± 0,23	62,1 ± 1,04	61,5 ± 1,65	61,2 ± 3,68	61,3 ± 2,00	57,5 ± 1,92	
25	65,3 ± 0,63	62,5 ± 0,71	61,9 ± 1,65	62,0 ± 4,30	62,5 ± 1,94	58,6 ± 1,46	
30	65,6 ± 0,77	61,8 ± 0,86	62,4 ± 1,97	62,0 ± 4,70	61,6 ± 1,84	60,3 ± 0,87	
40	66,2 ± 0,57	63,4 ± 1,29	62,4 ± 2,12	62,0 ± 4,85	62,9 ± 1,85	59,6 ± 1,57	
50	66,2 ± 0,76	64,6 ± 1,21	62,4 ± 2,40	63,0 ± 5,34	64,5 ± 1,65	59,2 ± 1,64	
60	66,8 ± 1,47	65,9 ± 2,45	62,6 ± 2,27	64,0 ± 5,25	64,2 ± 2,17	60,0 ± 1,51	
80	69,4 ± 1,64	67,1 ± 2,42	63,3 ± 3,21	65,4 ± 6,00	63,7 ± 1,78	60,6 ± 1,51	
100	69,3 ± 1,59	68,6 ± 3,58	64,4 ± 4,04	67,1 ± 6,93	64,3 ± 2,10	60,5 ± 1,39	
120	71,5 ± 1,66	70,2 ± 4,19	64,8 ± 3,78	68,0 ± 7,32	62,4 ± 2,59	61,1 ± 1,55	

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XVII: Valores absolutos do complexo QRS do ECG de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	QRS (ms)					
	Controle salina	Controle EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME salina	<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg	<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg
0	24,8 ± 1,2	25,3 ± 1,20	24,4 ± 0,93	26,2 ± 1,08	26,7 ± 1,25	23,7 ± 0,77
1	24,8 ± 1,1	26,0 ± 1,37	24,0 ± 0,76	27,1 ± 1,34	27,1 ± 1,53	24,5 ± 0,85
2	25,2 ± 1,0	26,1 ± 1,34	24,2 ± 0,74	26,7 ± 1,66	26,8 ± 1,26	24,1 ± 1,15
3	25,2 ± 1,2	25,7 ± 1,17	24,0 ± 0,73	26,4 ± 1,77	26,6 ± 1,85	24,3 ± 0,97
4	24,9 ± 1,3	25,5 ± 1,30	24,3 ± 1,03	26,5 ± 1,47	26,0 ± 1,77	24,1 ± 0,75
5	25,1 ± 1,2	25,4 ± 1,06	24,4 ± 0,99	26,4 ± 1,11	26,3 ± 1,15	23,7 ± 0,71
10	25,1 ± 1,4	25,5 ± 1,01	24,5 ± 0,95	26,3 ± 1,62	26,9 ± 1,13	23,9 ± 0,83
15	25,6 ± 1,1	25,5 ± 1,12	24,1 ± 0,88	27,0 ± 1,42	27,3 ± 1,30	24,7 ± 0,81
20	25,7 ± 1,3	25,4 ± 1,01	24,5 ± 1,22	26,7 ± 1,88	26,9 ± 1,53	24,1 ± 1,02
25	25,7 ± 1,2	25,8 ± 1,39	24,7 ± 1,30	27,6 ± 1,67	26,6 ± 0,81	24,0 ± 0,71
30	25,6 ± 1,5	26,0 ± 1,29	24,3 ± 1,19	26,8 ± 1,60	26,4 ± 1,15	23,8 ± 0,81
40	25,8 ± 1,2	26,4 ± 1,33	24,5 ± 1,18	26,8 ± 1,57	25,6 ± 1,00	24,4 ± 0,83
50	26,1 ± 1,6	26,3 ± 1,25	24,9 ± 1,24	28,3 ± 2,99	26,1 ± 1,42	24,2 ± 0,74
60	25,6 ± 1,2	26,9 ± 1,25	25,2 ± 1,08	27,2 ± 2,15	25,6 ± 0,95	24,4 ± 0,96
80	26,5 ± 1,3	27,6 ± 1,66	25,0 ± 1,56	27,2 ± 1,74	26,0 ± 1,28	24,7 ± 0,84
100	27,6 ± 1,9	27,2 ± 1,89	25,3 ± 1,36	27,9 ± 2,05	26,2 ± 1,55	24,4 ± 1,00
120	27,7 ± 1,5	28,7 ± 2,61	25,2 ± 1,57	28,3 ± 1,93	26,0 ± 1,26	24,8 ± 0,92

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XVIII: Valores absolutos do complexo QT do ECG de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	QT (ms)					
	Controle salina	Controle EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME salina	<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg	<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg
0	81,4 ± 1,67	79,6 ± 2,46	75,2 ± 2,05	75,5 ± 1,95	80,2 ± 1,79	71,6 ± 2,21
1	82,3 ± 1,47	81,5 ± 2,27	76,0 ± 2,00	76,8 ± 2,34	84,9 ± 2,40	71,5 ± 2,36
2	82,1 ± 1,77	82,8 ± 3,19	76,2 ± 2,51	76,6 ± 2,61	85,0 ± 1,86	73,1 ± 1,93
3	82,1 ± 1,07	81,3 ± 2,83	75,7 ± 2,47	76,4 ± 2,05	82,8 ± 1,66	71,6 ± 2,59
4	81,7 ± 1,42	80,8 ± 2,26	77,4 ± 2,42	77,0 ± 2,36	82,0 ± 1,93	71,1 ± 2,17
5	82,2 ± 1,64	80,0 ± 1,94	76,3 ± 2,83	76,5 ± 2,15	82,5 ± 1,20	70,7 ± 1,99
10	81,9 ± 1,61	80,3 ± 1,82	76,7 ± 2,47	76,3 ± 2,68	81,7 ± 1,39	72,2 ± 1,73
15	82,3 ± 1,46	79,0 ± 2,24	76,4 ± 2,27	76,7 ± 2,11	82,2 ± 2,07	73,9 ± 1,96
20	83,8 ± 1,64	79,0 ± 2,42	76,5 ± 1,77	77,0 ± 2,37	82,3 ± 2,39	75,4 ± 2,28
25	83,2 ± 1,36	80,3 ± 2,34	76,5 ± 2,01	78,0 ± 2,92	78,3 ± 2,44	74,6 ± 1,89
30	83,5 ± 1,22	79,3 ± 2,03	75,9 ± 2,23	76,0 ± 2,93	80,2 ± 1,90	74,8 ± 2,04
40	82,4 ± 1,02	79,1 ± 2,08	76,7 ± 2,26	74,9 ± 2,80	80,2 ± 1,91	74,2 ± 1,92
50	84,3 ± 1,37	80,6 ± 3,06	77,4 ± 2,53	77,3 ± 2,94	80,3 ± 1,78	75,4 ± 1,97
60	83,3 ± 1,46	81,0 ± 3,96	77,4 ± 2,62	77,6 ± 2,41	79,0 ± 2,23	75,1 ± 1,25
80	84,0 ± 0,84	81,7 ± 3,82	76,6 ± 2,83	77,3 ± 3,50	80,6 ± 1,94	75,8 ± 2,41
100	84,3 ± 1,25	80,7 ± 3,68	76,6 ± 2,53	77,9 ± 3,35	81,1 ± 2,44	75,9 ± 2,13
120	84,5 ± 1,26	81,8 ± 3,80	76,1 ± 2,84	78,8 ± 3,40	79,8 ± 2,34	76,3 ± 2,23

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XIX: Valores absolutos do complexo QTc do ECG de animais controle e tratados previamente com *L*-NAME antes e após a administração de salina, eremantolideo C ou digitoxina.

Tempo (min)	QTc (ms)						
	Controle salina	Controle EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME salina	<i>L</i> -NAME EREC 3mg/kg	<i>L</i> -NAME EREC 10mg/kg	<i>L</i> -NAME digitoxina 0,3mg/kg	
0	127,8 ± 1,91	120,0 ± 4,24	117,3 ± 2,96	112,2 ± 5,22	108,7 ± 4,88	103,7 ± 3,11	
1	131,6 ± 2,06	118,6 ± 2,57	120,2 ± 2,86	111,7 ± 4,78	107,9 ± 4,02	106,1 ± 5,16	
2	132,2 ± 2,97	121,9 ± 3,74	121,2 ± 2,50	111,8 ± 5,43	111,2 ± 5,28	109,9 ± 4,86	
3	129,0 ± 6,37	120,0 ± 3,57	119,9 ± 3,38	112,1 ± 4,85	109,9 ± 4,12	108,5 ± 6,67	
4	132,2 ± 3,13	119,3 ± 3,23	123,4 ± 3,04	113,8 ± 6,43	109,2 ± 2,84	108,8 ± 5,84	
5	133,4 ± 3,35	117,8 ± 2,64	121,4 ± 4,21	112,8 ± 5,58	109,5 ± 3,88	107,9 ± 5,60	
10	133,8 ± 4,10	118,5 ± 3,31	123,8 ± 5,25	114,4 ± 6,04	108,5 ± 4,27	109,0 ± 4,48	
15	132,6 ± 2,12	116,8 ± 3,38	123,1 ± 4,99	117,8 ± 5,04	109,8 ± 4,92	110,5 ± 5,24	
20	131,2 ± 1,34	115,5 ± 3,38	120,3 ± 4,20	118,6 ± 5,57	114,0 ± 4,77	113,8 ± 5,64	
25	130,8 ± 1,88	117,6 ± 3,08	123,0 ± 3,83	121,3 ± 6,13	112,4 ± 6,25	116,3 ± 4,71	
30	131,6 ± 2,74	116,8 ± 2,78	122,5 ± 4,44	119,8 ± 5,11	117,4 ± 5,85	119,9 ± 3,87	
40	132,0 ± 1,35	118,5 ± 3,75	122,5 ± 4,92	118,1 ± 4,84	121,5 ± 7,55	117,9 ± 4,05	
50	133,3 ± 1,57	117,8 ± 3,86	123,5 ± 5,27	120,8 ± 5,73	121,4 ± 8,20	118,9 ± 4,26	
60	130,0 ± 3,19	118,4 ± 2,70	121,7 ± 5,52	123,7 ± 4,00	118,2 ± 7,15	121,5 ± 3,45	
80	123,8 ± 2,89	119,7 ± 4,53	118,8 ± 5,00	118,7 ± 4,12	116,2 ± 9,41	123,4 ± 1,43	
100	124,4 ± 3,36	115,9 ± 3,39	119,9 ± 3,49	120,0 ± 4,06	121,8 ± 4,78	125,0 ± 2,02	
120	120,3 ± 3,61	114,7 ± 3,41	119,4 ± 4,99	118,0 ± 4,26	119,2 ± 4,32	126,6 ± 2,53	

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XX: Média dos valores absolutos dos parâmetros cardiovasculares do grupo controle

	QT (ms)		QTc		PAS (mmHg)		PAD (mmHg)		FC (bpm)	
Antes EREC 10mg/kg	79,25	± 1,67	123,16	± 4,82	115,85	± 2,20	77,50	± 2,34	232,09	± 29,36
NA 1µg	86,00	± 1,53	136,96	± 4,91	194,24*	± 5,65	127,99*	± 3,84	250,73	± 24,21
NA 3µg	88,82*	± 1,01	136,35	± 5,57	205,36*	± 7,76	133,60*	± 5,08	223,03	± 24,19
NA 10µg	90,83*	± 2,02	124,54	± 8,72	213,36*	± 6,48	138,21*	± 5,35	162,36	± 22,13
Após 15min EREC 10mg/kg	84,69	± 1,24	125,11	± 5,22	137,32	± 8,29	94,47	± 6,76	205,62	± 24,54
NA 1µg	90,18	± 1,66	132,36	± 6,15	188,95*	± 4,39	126,92*	± 2,19	195,51	± 23,81
NA 3µg	89,16	± 0,74	128,87	± 4,65	208,18*	± 3,56	137,14*	± 3,38	185,51	± 21,20
NA 10µg	87,54	± 1,31	115,99	± 8,04	208,50*	± 3,67	133,92*	± 3,74	146,93	± 21,91
Após 1 hora EREC 10mg/kg	85,92	± 0,64	128,44	± 7,51	135,56	± 4,24	99,18	± 3,8	206,85	± 24,63
NA 1µg	89,9	± 1,01	136,13	± 1,71	161,74	± 9,35	111,20	± 7,57	211,14	± 10,78
NA 3µg	91,32	± 0,99	133,41	± 2,93	196,17*	± 10,39	133,72*	± 6,60	188,75	± 11,97
NA 10µg	92,99	± 1,86	133,36	± 7,91	208,11*	± 6,53	140,04*	± 3,60	184,59	± 21,50

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa em relação a administração de NA antes da eremantolida C.

Tabela XXI: Média dos valores absolutos dos parâmetros cardiovasculares do grupo *L-NAME*

	QT (ms)	QTc	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	FC (bpm)
Antes EREC 10mg/kg	82,33 ± 2,97	130,64 ± 3,24	119,66 ± 2,66	83,32 ± 1,69	247,49 ± 17,91
NA 1µg	87,22 ± 2,89	146,25 ± 5,95	184,5*0 ± 4,00	124,53 ± 2,49	283,82 ± 12,73
NA 3µg	87,66 ± 3,26	143,37 ± 8,99	211,93* ± 3,53	141,57* ± 4,57	267,53 ± 23,06
NA 10µg	93,07 ± 2,52	139,19 ± 10,56	219,48* ± 3,54	145,58* ± 4,39	226,26 ± 23,62
Após 15min EREC 10mg/kg	87,61 ± 3,18	134,63 ± 7,20	130,90 ± 3,74	95,01 ± 3,10	221,32 ± 21,76
NA 1µg	98,66 ± 6,13	155,46 ± 10,98	160,40 ± 17,00	109,24 ± 11,61	237,29 ± 10,98
NA 3µg	95,86 ± 4,77	141,30 ± 11,86	207,66* ± 4,87	137,49 ± 4,76	198,07 ± 22,84
NA 10µg	99,10 ± 6,40	140,31 ± 14,72	210,65* ± 4,60	139,73 ± 2,94	175,61 ± 22,81
Após 1 hora EREC 10mg/kg	93,78 ± 4,74	141,06 ± 10,19	119,47 ± 13,33	86,50 ± 11,77	211,85 ± 21,94
NA 1µg	98,25 ± 4,41	139,08 ± 3,24	119,66 ± 2,66	114,08 ± 17,14	203,50 ± 30,56
NA 3µg	101,43 ± 5,15	154,83 ± 5,95	184,50 ± 4,00	120,23 ± 19,35	215,38 ± 10,58
NA 10µg	104,08 ± 6,46	137,25 ± 8,99	211,93* ± 3,53	130,27 ± 13,06	182,73 ± 33,39

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m. * Diferença significativa em relação a administração de NA antes da eremantolida C.

TabelaXXII: Média das variações percentuais dos parâmetros cardiovasculares do grupo controle

	QT		QTc		PAS		PAD		FC	
NA 1µg	8,70	± 2,51	11,42	± 2,91	67,70	± 4,69	65,25	± 2,72	11,77	± 8,46
NA 3µg	12,29	± 2,17	10,98	± 4,01	77,66	± 8,66	72,68	± 6,38	-0,07	± 10,35
NA 10µg	14,96	± 4,14	1,79	± 7,67	84,55	± 7,36	79,33	± 9,39	-23,88	± 13,02
NA 1µg	6,50	± 1,79	5,83	± 2,68	40,16	± 8,20	38,47	± 10,97	-4,04	± 5,66
NA 3µg	5,37	± 1,51	3,64	± 4,71	55,51	± 12,59	50,01	± 13,33	-6,13	± 11,49
NA 10µg	3,39	± 1,17	-6,86	± 6,50	55,45	± 11,35	46,77	± 13,65	-24,95	± 13,08
NA 1µg	4,64	± 1,08	7,86	± 6,84	21,13	± 11,42	14,41	± 12,22	15,25	± 22,65
NA 3µg	6,29	± 1,11	5,23	± 4,96	45,57	± 10,06	35,58	± 8,13	-0,73	± 13,53
NA 10µg	8,19	± 2,10	3,98	± 3,03	54,62	± 8,00	43,09	± 9,07	-8,82	± 8,18

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.

Tabela XXIII: Média das variações percentuais dos parâmetros cardiovasculares do grupo L-NAME

	QT		QTc		PAS		PAD		FC	
NA 1µg	6,05	± 1,72	11,88	± 3,11	54,62	± 4,96	50,16	± 6,62	17,50	± 9,06
NA 3µg	6,45	± 0,63	9,49	± 5,54	77,96	± 7,06	70,79	± 9,24	11,29	± 14,20
NA 10µg	13,28	± 1,52	6,21	± 6,61	84,11	± 6,39	75,23	± 7,60	-5,50	± 14,32
NA 1µg	12,08	± 4,54	15,66	± 5,74	21,67	± 13,75	17,16	± 18,06	12,11	± 8,98
NA 3µg	8,98	± 1,71	4,33	± 3,53	58,95	± 3,02	44,73	± 1,84	-11,08	± 5,65
NA 10µg	12,34	± 3,39	2,97	± 5,09	61,29	± 3,46	47,56	± 3,50	-22,30	± 6,15
NA 1µg	4,97	± 1,74	-3,93	± 8,78	39,70	± 9,61	26,99	± 13,60	-9,67	± 12,04
NA 3µg	8,23	± 2,39	11,12	± 5,51	47,65	± 11,01	32,61	± 12,49	9,19	± 13,20
NA 10µg	10,66	± 2,24	-7,15	± 14,73	69,89	± 16,78	72,81	± 31,27	-21,77	± 16,45

Os valores estão apresentados como a média ± e.p.m.