

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIDIARRÉICA E
ANTIESPASMÓDICA DE *Solanum asterophorum* MART.
(SOLANACEAE)

POLYANA CRISTINA BARROS SILVA

Maceió-AL

2010

POLYANA CRISTINA BARROS SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIDIARRÉICA E
ANTIESPASMÓDICA DE *Solanum asterophorum* MART.
(SOLANACEAE)**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Nutrição da Universidade Federal de
Alagoas, como parte dos requisitos
para obtenção do título de MESTRE
EM NUTRIÇÃO, na linha de pesquisa
NUTRIÇÃO E DESENVOLVIMENTO
FISIOLÓGICO.

Orientadora:

Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante

Maceió-AL

2010

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- S586a Silva, Polyana Cristina Barros.
Avaliação das atividades antidiarréica e antiespasmódica de *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae) / Polyana Cristina Barros Silva, 2010.
117f.
- Orientadora: Fabiana de Andrade Cavalcante.
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Maceió, 2010.
- Bibliografia: f. [101]-113.
Anexos: f. [114]-117.
1. *Solanum asterophorum* Mart. 2. Plantas medicinais. 3. Antidiarréico – Efeito.
4. Músculo liso. Título.

CDU: 612.39: 547.9



MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A. C. Simões
BR 104, Km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/ fax: 81 3214-1160



PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

**"AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIDIARRÉICA E
ANTIESPASMÓDICA DE *Solanum asterophorum* MART.
(SOLANACEAE)"**

por

Polyana Cristina Barros Silva

A Banca Examinadora, reunida aos 09 dias do mês de março do
ano de 2010, considera a candidata **APROVADA**.

Fabiana de A. Cavalcante

Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Bagnólia Araújo da Silva

Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal da Paraíba
(Examinadora)

Eliane A. Campesatto Mella

Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto Mella
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS
Universidade Federal de Alagoas
(Examinadora)

Dedicat6rias

Aos meus pais, Martiniano José Barros Silva, exemplo de determinação e responsabilidade, e Ivete Barros da Silva, exemplo de força e dedicação... Alicerces de minha vida.

Aos meus irmãos, Luiz Guilherme e Luiz Felipe, e primas-irmãs Ana Alaíde e Ana Alice, pela torcida, incentivo e fraternidade.

A minha madrinha, Gilvanete Barros da Silva, exemplo de coragem e organização.

Ao meu noivo, Marcos Duarte de Oliveira, amigo, confidente e eterno amor... Por toda sua dedicação, compreensão e incentivo.

Agradecimentos

A DEUS, que é luz, paz e amor, é a reunião de todos os sentimentos puros que ainda existe, e é Nele onde consigo forças para superar as dificuldades e obter cada conquista.

À Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante, não apenas pela orientação e ajuda, mas também pela amizade, confiança, incentivo, carinho, compreensão, dedicação, força e presença marcante durante todos os momentos.

À Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo fornecimento dos extratos metanólicos obtidos das folhas e das raízes de *Solanum asterophorum* Mart.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pela colaboração na área da botânica.

À Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF) da UFPB por abrir as portas de seu laboratório com a maior boa vontade para a realização dos experimentos *in vitro* deste trabalho, além de todos os ensinamentos fornecidos.

À Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessôa da UFPB pelo grande auxílio na realização do experimento de atividade hemolítica.

À Coordenação da Pós-Graduação em Nutrição em nome do Prof. Dr. Cyro Rego Cabral Júnior pelo seu empenho em levar esta pós-graduação para frente.

À Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde da Universidade Federal de Alagoas por ter aceito a responsabilidade de me orientar por um tempo.

Aos funcionários da Faculdade de Nutrição e do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde que contribuíram de alguma forma, desde a limpeza até a segurança.

À Jacqueline Alves Leite da UFPB, pelos ensinamentos práticos dos experimentos de diarreia.

Às eternas amigas Jordânnya Silva, Camila Bezerra e Paula Almeida pela grande amizade durante todos esses anos, a qual não acaba nem com a distância.

Aos amigos do coração: Gabriela Muniz, Samila Fernandes, Valéria Nunes, Allysson Haide, Emíla Miranda, Flaviany Oliveira, Tâmara Gomes, Daniel Fortes, Daniel Lira, Edmilson Silva, Diogo José, Everton Tenório, Lidiane Lôbo, José Roberto, Mariana Santos, Cleônia Roberta, Laura Cardoso, Giselle Carlos, Jullianna Meyrelles, Jilliann Meyre, Júlia de Fátima, Marcia Faustino, Everson Feitosa, Ericksson Feitosa, Cleilton Gomes, Joelmir Lucena, Sílvio Carlos, Vicente Costa, Leilany Viana, Cheila Juliana, Camila Vasconcelos, Lucas José e Fábio Oliveira, poucos que vejo sempre, muitos que não vejo há algum tempo, mas cada um com um lugar especial em meu coração, pois me ajudaram em algum momento de minha vida.

Às cunhadas Karla Andrade, Mônica Duarte e Camila Dantas, aos cunhados Maurício Duarte e Diogo Teixeira, à sogra Lêda Duarte, às primas Jéssyca Tenório, Jesley Tenório, Cecília Santos e Julliana Monteiro, às tias Cristina da Silva, Kátia Maria e Erenilda Almeida, ao tio Antônio Luiz e aos meus queridos avós por estarem sempre torcendo por mim, e às minhas princesas e alegrias de minha vida, Maria Cláudia e Emmile Ramos, por conseguirem sempre colocar um sorriso em meu rosto.

Aos amigos da turma de mestrado 2008: Fernanda Leite, Sara Gurgel, João Batista, Daniela Araújo, Danielle Menezes, Andreza Luna, Geovana Neiva, Elizabeth, Cristina Mendes e Maria Inês, pela torcida de um pelo outro e amizade construída.

Aos alunos de Iniciação Científica Karoline Mello, Anne Dayse, Luciana Oliveira, Maria Allynne e José Clementino, aos monitores Nassib Bueno e Vittor Castro e ao futuro mestrando Valfrido Júnior, pela oportunidade de transmitir-lhes alguns conhecimentos, necessários para minha formação, pela paciência em recebê-los, além da grande torcida e amizade por mim.

Aos “relaxados”, antigos e novatos, Fabio Monteiro, Gislaine Oliveira, Ana Caroline Lima, Anne Abreu, Ítalo Martins, Juliana Carneiro, Rafael Travassos, Rosimeire Santos, Yara e Tamires, por me receberem tão bem no Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas do LTF/UFPB, e em especial a Cibério Macêdo e Ana Carolina Correia pela amizade, força, incentivo e grande auxílio nos experimentos.

Ao Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas e ao Biotério Prof. Thomas George do LTF/UFPB pelo fornecimento dos animais.

Aos funcionários Railson da Silva Santos, Luís Cordeiro da Silva e José Crispim Duarte pelo apoio realizado tanto no Biotério da UFAL como da UFPB, por estarem sempre presentes e dispostos a ajudar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas pelo apoio financeiro na concessão da bolsa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte técnico científico através do Portal Periódicos.

A todos que direta ou indiretamente participaram da produção desta dissertação.

MUITO OBRIGADA !!!

Maceió, março de 2010

Polyana Cristina Barros Silva

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura do ácido ricinoléico 31
- Figura 2.** Fotografia de uma exsicata de *Solanum asterophorum* Mart. 41
- Figura 3.** Registros originais do efeito relaxante do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (**A**), 10⁻⁶ M de carbacol (**B**) e 10⁻⁶ M de histamina (**C**) em íleo isolado de cobaia.. 64

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Efeito hemolítico do extrato Sast-MeOH_R em eritrócitos de rato. NaCl + CaCl₂ (controle negativo) e Triton X-100 (controle positivo)..... 58
- Gráfico 2** – Efeito do extrato Sast-MeOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻⁶ M de carbacol (**A**) e de histamina (**B**) em íleo isolado de cobaia..... 60
- Gráfico 3** – Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH_R na ausência (**■**) e na presença de atropina nas concentrações de 10⁻⁶ (**□**), 10⁻⁵ (**▲**) e 3 x 10⁻⁵ M (**Δ**) em íleo isolado de cobaia 61
- Gráfico 4** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao carbacol na ausência (controle) (**●**) e na presença do extrato Sast-MeOH_R nas concentrações de 81 (**o**); 243 (**▼**) e 500 µg/mL (**▽**) em íleo isolado de cobaia 62
- Gráfico 5** – Efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (**◇**) e 10⁻⁶ M de carbacol (**▲**) ou de histamina (**◆**) em íleo isolado de cobaia 65
- Gráfico 6** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺ na ausência (**■**) e na presença do extrato Sast-MeOH_R nas concentrações de 81 (**□**), 500 (**●**) e 750 µg/mL (**o**), em íleo isolado de cobaia..... 66

| | |
|--|----|
| Gráfico 7 – Efeito do extrato Sast-MeOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol na ausência (▲) e na presença (Δ) de 5 mM de CsCl, em íleo isolado de cobaia..... | 67 |
| Gráfico 8 – Efeito antidiarréico do extrato Sast-MeOH _R no modelo de diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos. A : Percentagem da frequência de defecação e B : Percentagem de fezes líquidas | 70 |
| Gráfico 9 – Efeito antidiarréico do extrato Sast-MeOH _F no modelo de diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos. A : Percentagem da frequência de defecação e B : Percentagem de fezes líquidas | 71 |
| Gráfico 10 – Efeito dos extratos Sast-MeOH _R (A) e Sast-MeOH _F (B) sobre o trânsito intestinal de camundongos..... | 73 |
| Gráfico 11 – Efeito dos extratos Sast-MeOH _R (A) e Sast-MeOH _F (B) no acúmulo de fluido intestinal induzido pelo óleo de rícino em camundongos | 75 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------------|--|
| AMPC | monosfotato cíclico de adenosina |
| ANOVA | análise de variância |
| ATP | trifosfato de adenosina |
| BK_{Ca} | canais de potássio ativados por Ca ²⁺ de grande condutância |
| [Ca²⁺] | concentração de Ca ²⁺ |
| CaM | calmodulina |
| Ca_v | canais de cálcio dependentes de voltagem |
| Ca_v1 | canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 1 |
| Ca_vL | canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo L |
| CCh | carbacol |
| CE₅₀ | concentração de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo |
| CI₅₀ | concentração de uma substância que inibe 50% do efeito máximo de um agonista |
| CsCl | cloreto de cério |
| DAG | diacilglicerol |
| DE₅₀ | dose de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo |
| DL₅₀ | dose que mata 50% dos animais de experimentação |
| e.p.m. | erro padrão da média |
| E_{max} | efeito máximo |
| G_{q/11} | proteína G heterotrimérica tipos q e 11 |
| G_{12/13} | proteína G heterotrimérica tipos 12 e 13 |

| | |
|------------------------|---|
| GC | cliclase de guanilil |
| GDP | disfosfato de guanosina |
| GMPc | monofosfato cíclico de guanosina |
| GPCRs | receptores acoplados a proteína G |
| GTP | trisfosfato de guanosina |
| IP₃ | 1,4,5-trisfosfato de inositol |
| i.p. | intraperitoneal |
| K_{ATP} | canais de potássio sensíveis ao ATP |
| K_v | canais de potássio sensíveis à voltagem |
| LC20 | cadeia leve da cabeça da miosina de 20 kDa |
| LTF | Laboratório de Tecnologia Farmacêutica "Prof. Delby Fernandes de Medeiros" |
| MLC | cadeia leve da miosina |
| MLCK | cinase da cadeia leve da miosina |
| MLCP | fosfatase da cadeia leve da miosina |
| NO | óxido nítrico |
| NOS | sintase do óxido nítrico |
| OMS | organização mundial de saúde |
| p | probabilidade |
| PAF | fator ativador de plaquetas |
| PGs | prostaglandinas |
| PIP₂ | fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato |
| PKA | proteína cinase A |
| PKG | proteína cinase G |
| PLC | fosfolipase C |

| | |
|------------------------------|---|
| PLD | fosfolipase D |
| RhoA | pequena proteína Rho ligante de GTP |
| ROK | cinase dependente de RhoA |
| Sast-MeOH_R | extrato metanólico bruto obtido das raízes de <i>Solanum asterophorum</i> Mart. |
| Sast-MeOH_F | extrato metanólico bruto obtido das folhas de <i>Solanum asterophorum</i> Mart. |
| RS | retículo sarcoplasmático |
| SK_{Ca} | canais de potássio ativados por Ca ²⁺ de pequena condutância |
| TGI | trato gastrintestinal |
| UFAL | Universidade Federal de Alagoas |
| UFPB | Universidade Federal da Paraíba |
| v.o. | via oral |
| vs. | <i>versus</i> |

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 19 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 22 |
| 2.1 Considerações gerais..... | 23 |
| 2.2 Diarréia..... | 24 |
| 2.2.1 Classificação da diarréia | 27 |
| 2.2.1.1 Diarréia infecciosa aguda | 27 |
| 2.2.1.2 Diarréia do viajante | 28 |
| 2.2.1.3 Diarréia persistente | 28 |
| 2.2.1.4 Diarréia crônica | 29 |
| 2.2.2 O óleo de rícino | 30 |
| 2.2.3 Medicamentos utilizados no tratamento da diarréia | 32 |
| 2.3 Contração muscular | 33 |
| 2.4 O uso de plantas medicinais | 35 |
| 2.4.1 Plantas medicinais utilizadas no tratamento da diarréia..... | 37 |
| 2.5 Família Solanaceae..... | 38 |
| 2.5.1 Solanum asterophorum Mart..... | 40 |
| 3 ARTIGO CIENTÍFICO | 42 |
| RESUMO..... | 44 |
| ABSTRACT | 45 |
| INTRODUÇÃO | 46 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 47 |
| 1 MATERIAL | 47 |
| 1.1 Material botânico | 47 |
| 1.2 Animais..... | 48 |

| | |
|--|----|
| 1.3 Substâncias e sais | 48 |
| 1.4 Soluções nutritivas | 49 |
| 1.5 Aparelhos | 49 |
| 1.6 Preparação dos extratos para os ensaios farmacológicos | 50 |
| 2 MÉTODOS | 50 |
| 2.1 Avaliação toxicológica: efeito do extrato Sast-MeOH _R em eritrócitos de rato | 50 |
| 2.2 Investigação da atividade antiespasmódica ou espasmogênica do extrato Sast-MeOH _R em íleo isolado de cobaia | 51 |
| 2.2.1 Efeito de Sast-MeOH _R frente às contrações fásicas induzidas por carbacol ou por histamina | 51 |
| 2.2.2 Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH _R na ausência e na presença de atropina..... | 52 |
| 2.3 Mecanismo de ação antiespasmódico do extrato Sast-MeOH _R em íleo isolado de cobaia | 53 |
| 2.3.1 Caracterização do bloqueio da contração induzida por carbacol | 53 |
| 2.3.2 Efeito antiespasmódico do extrato Sast-MeOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por carbacol ou por histamina..... | 53 |
| 2.3.3 Avaliação da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca _v)..... | 54 |
| 2.3.3.1 Efeito de Sast-MeOH _R frente às contrações induzidas por CaCl ₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca ²⁺ | 54 |
| 2.3.4 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio | 54 |
| 2.3.4.1 Efeito do extrato Sast-MeOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)..... | 54 |
| 2.4 Triagem farmacológica comportamental e determinação da DL ₅₀ do extrato Sast-MeOH _R | 55 |

| | |
|--|----|
| 2.5 Avaliação da atividade antidiarréica dos extratos Sast-MeOH _R e Sast-MeOH _F | 55 |
| 2.5.1 Diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos | 55 |
| 2.5.2 Trânsito intestinal normal em camundongos | 56 |
| 2.5.3 Acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos..... | 57 |
| 2.6 Análise estatística | 57 |
| RESULTADOS | 58 |
| 1 Avaliação toxicológica: efeito do extrato Sast-MeOH _R em eritrócitos de rato | 58 |
| 2 Investigação da atividade antiespasmódica ou espasmogênica do extrato Sast-MeOH _R em íleo isolado de cobaia | 59 |
| 2.1 Efeito do extrato Sast-MeOH _R frente às contrações fásicas induzidas por carbacol ou por histamina | 59 |
| 2.2 Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH _R na ausência e na presença de atropina..... | 61 |
| 3 Mecanismo de ação antiespasmódico do extrato Sast-MeOH _R em íleo isolado de cobaia | 62 |
| 3.1 Caracterização do bloqueio da contração induzida por carbacol | 62 |
| 3.2 Efeito antiespasmódico do extrato Sast-MeOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por carbacol ou por histamina..... | 63 |
| 3.3 Avaliação da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca _V) | 66 |
| 3.3.1 Efeito do extrato Sast-MeOH _R frente às contrações induzidas por CaCl ₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca ²⁺ | 66 |
| 3.4 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio | 67 |
| 3.4.1 Efeito do extrato Sast-MeOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol, na ausência e na presença de cloreto de cézio (CsCl)..... | 67 |

| | |
|--|-----|
| 4 Triagem farmacológica comportamental e determinação da DL ₅₀ do extrato Sast-MeOH _R | 68 |
| 5 Avaliação da atividade antidiarréica dos extratos Sast-MeOH _R e Sast-MeOH _F | 68 |
| 5.1 Diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos | 68 |
| 5.2 Trânsito intestinal normal em camundongos | 72 |
| 5.3 Acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos | 74 |
| DISCUSSÃO | 76 |
| REFERÊNCIAS | 86 |
| 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 98 |
| REFERÊNCIAS | 101 |
| ANEXO A - Certidão de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFAL | 115 |
| ANEXO B - Avaliação da atividade comportamental do extrato Sast-MeOH _R nas doses de 2500 e 5000 mg/kg v.o. e 1000 e 2000 mg/kg i.p. | 116 |

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos verificou-se um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Cerca de 30% de todas as drogas disponíveis como agentes terapêuticos são produtos naturais ou derivados deles (CALIXTO, 2005).

As plantas medicinais são fontes inesgotáveis para a obtenção de moléculas com potencial terapêutico, mas a utilização destas pela indústria farmacêutica é relativamente recente. Até meados do século XX, as plantas medicinais e seus derivados constituíam a base da terapêutica medicamentosa, quando a síntese química, que teve início no final do século XIX, iniciou uma fase de desenvolvimento vertiginoso. Esse processo de descoberta de novos compostos tem estado em permanente evolução, devido ao aperfeiçoamento das técnicas que permitem o isolamento e a determinação estrutural dos compostos químicos (CALIXTO, 2000).

A diarreia é um problema médico frequente (FARTHING, 2000), e ainda é uma das principais ameaças à saúde em populações pobres de países tropicais e subtropicais. A Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que 3-5 bilhões de casos ocorrem anualmente (1 bilhão de crianças menores de 5 anos) e cerca de 5 milhões de mortes ocorrem devido à problemas relacionados à diarreia (2,5 milhões de crianças menores de 5 anos) (ESTRADA-SOTO et al., 2007). Ela é definida como um aumento no número de evacuações (3 ou mais/24 h), um aumento na fluidez das fezes e/ou a presença de sangue e muco nestas (MATHAN, 1998), podendo ser causada por um aumento da carga osmótica dentro do intestino; secreção excessiva de água e eletrólitos no lúmen do intestino; exsudação de proteínas e de fluido da mucosa; e alteração da motilidade intestinal resultando em trânsito rápido (ESTRADA-SOTO et al., 2007).

Muitas plantas são utilizadas na medicina popular como anti-diarreicas, como exemplo, *Psidium guajava* (“goiabeira”), *Stachytarpheta cayenensis* (“gervão”) e *Eugenia uniflora* (“pitangueira”) (ALMEIDA, 1995). Além disso, de acordo com o levantamento bibliográfico realizado no

NAPRALERT (Natural Products ALERT) e em diversos “sites”, verificou-se que muitas espécies de *Solanum* apresentam atividade antidiarréica, e outras apresentam efeito antiespasmódico comprovado.

Devido ao fato do modelo do músculo liso se apresentar como meio relativamente simples para investigar mecanismos de ação de substâncias que envolvem a sinalização do Ca^{2+} e como uma desregulação na contração contribui para vários processos fisiopatológicos como asma, angina, hipertensão, indução do parto, cólicas e diarreias, decidiu-se estudar uma possível atividade antiespasmódica do extrato metanólico obtido das raízes de *Solanum asterophorum* Mart. (Sast-MeOH_R), uma vez que, o mesmo extrato obtido das folhas desta espécie (Sast-MeOH_F) já apresentou efeito antiespasmódico em íleo de cobaia (OLIVEIRA et al., 2006a), além de investigar e comparar uma possível atividade antidiarréica dos dois extratos.

Para tanto, o presente trabalho está dividido em três capítulos: Introdução, Revisão da Literatura e Artigo Científico.

Revisão da literatura

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações gerais

As plantas medicinais representam um elo entre a comunidade tradicional e a comunidade científica, ocorrendo o compartilhamento de informações e interesses, buscando o desenvolvimento e aprimoramento das políticas de saúde. Porém, para ser registrado e prescrito, o medicamento à base de plantas medicinais deve ser estudado cientificamente e passar pelos mesmos critérios empregados para o desenvolvimento dos medicamentos de origem sintética, para que possam ser confirmadas sua segurança e eficácia clínica (CALIXTO, 2000).

A escolha da planta para estudo químico e farmacológico baseada em seu uso na medicina popular ou pelo critério quimiotaxonômico são os meios mais importantes que podem conduzir à descoberta de novos medicamentos ou de substâncias que possam servir de ferramentas farmacológicas ou como modelos para a síntese de novos fármacos. O interesse em estimular pesquisas sobre plantas brasileiras, com vista à descoberta de substâncias com atividades farmacológicas, tem sido mais expressivo em relação à flora nacional, devido à grande variedade de espécies e às mais diversas propriedades que muitas delas apresentam, tais como: tintoriais, odoríferas, estimulantes, alucinogênicas, entre outras (GOTTLIEB; MORS, 1978).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, contando com uma flora diversificada, a qual se estima existir aproximadamente 55 mil espécies vegetais, que desperta grande interesse de comunidades científicas de todo o mundo para o estudo, conservação e utilização destes recursos, estando entre os elementos favoráveis ao desenvolvimento de medicamentos a partir de produtos naturais (OMENA, 2007; SOUZA; FELFILI, 2006).

Devido a essa diversidade de plantas que apresenta, o Brasil é um importante fornecedor de material botânico para o mercado farmacêutico nacional e internacional, por exemplo, a vincristina e a vimblastina, alcalóides isolados de *Vinca rosea* utilizados como agentes antitumorais (JOHNSON et al., 1963); a digoxina e a digitonina, glicosídeos cardiotônicos obtidos da

Digitalis, usados para insuficiência cardíaca; a pilocarpina isolada de *Pilocarpus* spp. (jaborandi), usada como miótico e no tratamento do glaucoma; a escopolamina e a atropina, isoladas inicialmente de *Atropa belladonna*, que apresentam atividade antiespasmódica (BROWN; TAYLOR, 2006). Todas essas substâncias oriundas de plantas são consideradas indispensáveis para o tratamento de doenças e servem de matéria-prima para a síntese de novos fármacos (FOGLIO et al., 2006).

2.2 Considerações sobre a diarreia

A diarreia é definida como um aumento no número de evacuações (3 ou mais/24 h), um aumento na fluidez das fezes e/ou a presença de sangue e muco nestas (MATHAN, 1998).

O conteúdo líquido é o principal determinante do volume e consistência das fezes. Este reflete um equilíbrio entre a entrada luminal (ingestão e secreção de água e eletrólitos) e a saída (absorção) ao longo do trato gastrointestinal. Os mecanismos neurohumorais, patógenos e medicamentos podem alterar estes processos, resultando em mudanças na secreção ou absorção de fluido pelo epitélio intestinal. A motilidade alterada também contribui de uma maneira geral para este processo, como a extensão da absorção paralela ao tempo de trânsito. Quando a capacidade do cólon para absorver o líquido é ultrapassada, irá ocorrer diarreia (VITALI et al., 2006).

Com isso, a viscosidade do bolo fecal depende basicamente da absorção de água e da intensidade da propulsão intestinal. Na presença da diarreia observa-se uma redução da absorção ou uma hipersecreção de água juntamente com um aumento da motilidade intestinal que reduz a solidez das fezes. Esta mudança no fluxo de água é devido a um aumento na secreção de íons cloreto (Cl^-) ou bicarbonato (HCO_3^-) e uma inibição na absorção de Na^+ e de Cl^- (FIELD; SEMRAD, 1993).

A diarreia pode ser causada por um aumento da carga osmótica dentro do intestino; secreção excessiva de água e eletrólitos no lúmen do intestino; exsudação de proteínas e de fluido da mucosa; e alteração da motilidade intestinal resultando em trânsito rápido. Existem também várias

etiologias, como vírus, bactérias, parasitas, intoxicação alimentar ou medicamentos, que podem conduzir a diarreia (ESTRADA-SOTO et al., 2007).

A diarreia é um problema comum em todas as idades e está entre as causas de mortalidade de maior prevalência em países em desenvolvimento (BERN et al., 1992). Tem sido estimado que 5 a 7% da população tem um episódio de diarreia aguda a cada ano e que 3 a 5% tem diarreia crônica a qual dura cerca de 4 semanas (SCHILLER; SELLIN, 2006).

Todos os anos, aproximadamente 2 milhões de crianças ao redor do mundo morrem de diarreia. Nos países mais pobres, a diarreia é a terceira causa mais comum de morte em crianças menores de 5 anos, ficando logo atrás das causas neonatais e da pneumonia (UNICEF, 2008). O número anual de mortes por diarreia em todo o mundo corresponde a aproximadamente o mesmo número de mortes por síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), incluindo todas as faixas etárias – atualmente esse número é estimado em 2,1 milhões (OMS, 2008).

A quantidade e a qualidade da água são fatores importantes para a redução da incidência e prevalência da diarreia. Ela constitui sintomas de diversas etiologias, cada qual com seus respectivos fatores de risco (HELLER et al., 1997). Segundo Correia e Mcauliffe (1999) e Teixeira (2003), a diarreia atinge mais facilmente crianças com menos de cinco anos de idade, sendo a mortalidade mais comum naquelas menores de dois anos, podendo gerar duas importantes complicações: a desidratação e o impacto negativo no estado nutricional da criança, um dos principais problemas de saúde pública dessa faixa etária. Crianças em países em desenvolvimento têm, em média, de 50 a 60 dias de diarreia por ano. Além disso, aproximadamente 10% desses episódios são complicados com a presença de desidratação (SCHECTER; MARANGONI; 1998).

A infecção intestinal é a causa mais comum da diarreia em todo o mundo e é responsável pela morte de 3-4 milhões de pessoas a cada ano. Em alguns países, as crianças podem sofrer ataques repetidos de diarreia aguda, que contribuem para o ciclo de infecção e desnutrição, além do comprometimento do crescimento e desenvolvimento. A diarreia aguda em crianças leva a significativa morbidade e mortalidade, mesmo nos países ricos industrializados. A diarreia crônica é também um problema grave em algumas

situações clínicas, como por exemplo, na AIDS, onde 30-50% dos pacientes com AIDS sofrem de diarreia crônica (DWORKIN et al., 1985).

O maior risco da diarreia é a desidratação. O excesso de perda de água e eletrólitos nas fezes pode levar à desidratação, hiponatremia e hipocalemia. No tratamento da diarreia secretória, a terapia de reidratação oral exerce importante papel e é eficiente em mais de 90% dos casos com leve a moderada desidratação. Estudos da OMS têm demonstrado que a terapia de reidratação oral é efetiva no tratamento das diarreias (MARTINEZ et al., 1988). Além disso, as condições sanitárias (ambiental e educacional) deficientes e a desnutrição predis põem principalmente as crianças a um grande risco para problemas de diarreia. A maior parte dos patógenos gastrintestinais são transmitidos por alimentos ou bebidas contaminadas com material fecal. Quando há falta de higiene, há maiores possibilidades de ocorrer a diarreia. Além disso, algumas pessoas são incapazes de digerir componentes de alguns alimentos, como os adoçantes artificiais e a lactose, onde o resultado é a diarreia (PATHELA et al., 2006). Os patógenos habituais, bactérias, vírus e protozoários, são os mais encontrados na maioria dos casos de diarreia aguda. Estes incluem *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Norovirus*, *Rotavirus*, *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Entamoeba histolytica* (GURGEL, 2000).

Os países em desenvolvimento enfrentam limitações de numerosos recursos e avaliar o risco de doenças diarreicas exige conhecimento das complexas interações entre fatores biológicos, sócio-econômicos, comportamentais e ambientais ao longo do tempo (PATHELA et al., 2006).

2.2.1 Classificação da diarreia

A classificação clínica da diarreia é baseada na duração da mesma. A diarreia aguda é geralmente autolimitada e tem duração menor que duas semanas. A diarreia que persiste por 14 dias ou mais é classificada como diarreia persistente e, se a duração dos sintomas é maior que um mês, a diarreia é classificada como crônica (MATHAN, 1998).

Mandell, Douglas e Bennett (1997) classificaram as diarréias da seguinte forma: diarréia infecciosa aguda, diarréia não-infecciosa aguda, diarréia dos viajantes, colite associada à antibioticoterapia e spru tropical.

2.2.1.1 Diarréia infecciosa aguda

A diarréia infecciosa aguda é definida como uma diarréia acompanhada de infecção intestinal por um patógeno entérico conhecido (vírus, bactéria, parasita ou fungo). Os patógenos que causam a infecção diarréica aguda são divididos em organismos invasivos e não invasivos. É aceito que organismos não invasivos produzem diarréia aquosa, usualmente através de uma enterotoxina afetando primeiramente o intestino delgado. Os organismos invasivos por sua vez, afetam primeiramente o intestino grosso, invadem a mucosa e produzem uma resposta inflamatória e fezes sanguinolentas ou mucóides (DHAWAN; DESAI, 1996).

A incidência de diarréia aguda em zonas tropicais e temperadas é similar, porém a morbidade e mortalidade associadas aos casos de diarréia são bem diferentes. Esta diferença é influenciada pelo estado nutricional, fatores sócio-econômicos e acesso à assistência médica. Enterotoxinas e enteroinvasão explicam apenas uma parte dos casos de diarréia infecciosa aguda. Um grande número de agentes, como os vírus, que nem secretam enterotoxinas conhecidas, nem invadem a mucosa, ainda são aceitos como agentes causadores de diarréia (MATHAN, 1998).

O tratamento clínico da diarréia infecciosa aguda é baseado na correção da desidratação, na conservação da nutrição, no tratamento das complicações e no uso apropriado de antibióticos. Na maioria dos pacientes a desidratação pode ser corrigida através da administração oral de uma solução contendo água com sal e açúcar (AVERY; SNYDER, 1990).

2.2.1.2 Diarréia do viajante

A diarréia do viajante é a situação clínica mais frequente nos viajantes, sobretudo se viajam de zonas mais desenvolvidas para outras menos desenvolvidas. Trata-se de uma síndrome geralmente autolimitada em que há

diarréia frequentemente associada a outros sintomas. Raramente constitui um risco para a vida, mas a morbidade que determina é acentuada. A diarréia do viajante pode apresentar-se de forma aguda ou crônica, mas é majoritariamente infecciosa, sendo algumas bactérias responsáveis pela maior parte dos casos em todo o mundo. A *Escherichia coli* é a causa mais frequente dessas diarréias, sendo identificada em 40 a 70% dos casos (ALEIXO, 2003). Pode manifestar-se como diarréia aquosa ou disentérica. Nas crianças são particularmente frequentes os vírus como agentes etiológicos. A diarréia do viajante caracteriza-se por aumento da frequência das dejeções para pelo menos o dobro do habitual e por emissão de fezes pastosas ou líquidas. Pode acompanhar-se de cólicas abdominais, náuseas, vômitos (15% dos casos), febre e/ou sangue nas fezes (2 a 10% das situações) (CHAGNON, 1996). O rigoroso cumprimento de medidas de higiene e de normas de alimentação segura será a melhor forma de preveni-la. O tratamento compreende basicamente em três medidas: hidratação, fármacos antiperistálticos e antimicrobianos (ALEIXO, 2003).

2.2.1.3 Diarréia persistente

A diarréia persistente é responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade em lactentes de baixo nível socioeconômico em países em desenvolvimento (WHO, 1992). Aparece como causa e efeito da desnutrição e aumenta o risco de morte quando associada a esta. Estima-se que de 3 a 20% dos episódios de diarréia aguda em crianças menores de cinco anos tornam-se persistentes e que mais de 50% das mortes provocadas por diarréia estejam associadas a episódios persistentes (BHANDARI; BHAN; SAZAWAL, 1992; FAUVEAU et al., 1992).

Em 1987, a OMS, definiu diarréia persistente como um episódio diarréico de causa presumivelmente infecciosa que se inicia como um episódio agudo e se prolonga de forma não usual, acarretando agravo do estado nutricional e condição de alto risco de vida. O termo não inclui as formas crônicas ou recorrentes de diarréia, como spru tropical, doença celíaca, fibrose cística e outras desordens hereditárias com manifestações diarréicas. No

boletim publicado pela OMS, ficou estabelecido como diarreia persistente o episódio diarreico com duração igual ou superior a 14 dias.

Gonzalez, Calvo e Arbelo (1995) identificaram os seguintes fatores de risco, em ordem de importância: episódios prévios de diarreia persistente, desnutrição, tempo de latência menor do que 1 mês, uso de antibióticos, infecções mistas, episódios prévios de diarreia aguda e identificação de enteropatógenos nas fezes.

Quando a diarreia persistente se instala, o desenvolvimento ou agravamento da desnutrição ocorre facilmente e um ciclo vicioso de estado nutricional prejudicado e diarreia pode se estabelecer, existindo um risco substancial de morte (GUERRANT et al., 1992). Crianças apresentando diarreia persistente necessitam de atenção redobrada para prevenir outros episódios de diarreia e deficiências no crescimento (LIMA et al., 2000).

2.2.1.4 Diarreia crônica

A diarreia crônica é definida como diarreia prolongada por períodos superiores há um mês. Uma abordagem clínica divide a diarreia crônica em síndromes de má-absorção (por exemplo, spru tropical), diarreia crônica sem má-absorção (como a síndrome do intestino irritável) e diarreia crônica do imunodeficiente. O spru tropical tem essa denominação porque ocorre quase exclusivamente nas pessoas que vivem nos trópicos ou que visitam esta região (MATHAN, 1988).

2.2.2 O óleo de rícino

Os laxativos mais utilizados no mundo são provenientes de fontes botânicas. Entre estes, o óleo de rícino tem um especial lugar na história (GAGINELLA et al., 1977). Ele é um laxativo efetivo e é extraído das sementes de uma planta encontrada em várias partes do mundo, *Ricinus communis*, Euphorbiaceae, uma mamoneira, a qual recebe outras designações, conforme a região: no Nordeste brasileiro, *carrapateira*; em algumas regiões da África, é *abelmeluco*; na língua inglesa, como *castor bean* (GAGINELLA; BASS, 1978; GAGINELLA, 1994).

O óleo de rícino é amplamente empregado para a triagem de drogas com propriedade antidiarréica. Uma das vantagens do modelo utilizando o óleo é a grande reprodutibilidade de evacuação de fezes não formadas uma hora após a administração do laxante (BORRELLI et al., 2006). Quando este é ingerido é hidrolisado pelas lipases pancreáticas a glicerol e ácido ricinoléico (Figura 1), sendo este último, por ser seu constituinte farmacologicamente ativo, o responsável pela atividade diarréica do óleo (AKINDELE; ADEYEMI, 2006) Em 1890, Meyer identificou este componente ativo, um ácido graxo alifático C₁₈, monohidroxilado e monoinsaturado, o qual compõe aproximadamente 90% do óleo (GAGINELLA, 1994).

O ácido ricinoléico promove acúmulo de fluido e eletrólitos intraluminal no jejuno (AMMON; THOMAS; PHILLIPS, 1974) e cólon humano (AMMON; PHILLIPS, 1973), jejuno (GADACZ; GAGINELLA; PHILLIPS, 1976) e íleo de cachorro (AMMON et al., 1974; GADACZ et al., 1976), jejuno e íleo de hamster (GAGINELLA et al., 1975) e íleo e cólon de ratos (BRIGHT-ASARE; BINDER, 1973). Estes achados sugerem que a ação laxativa do óleo de rícino é devido em parte à secreção de fluido líquido (GAGINELLA; PHILLIPS, 1975).

Após a ingestão oral, o óleo de rícino é emulsificado no intestino pela bile e hidrolisado pelas lipases pancreáticas, com liberação do ácido ricinoléico. Uma pequena parte do ácido é absorvida no trato gastrintestinal e metabolizada como outros ácidos graxos, e o restante, devido ao grupo hidroxil, permanece no intestino levando a produção e acúmulo de água e eletrólitos (GAGINELLA, 1994). Este ácido é citotóxico para as células epiteliais intestinais e causa anormalidades histológicas com aumento da permeabilidade da mucosa (GAGINELLA et al., 1977).

Vários mecanismos têm sido propostos para a diarréia induzida por óleo de rícino. Estes incluem a inibição da Na⁺/K⁺-ATPase intestinal, o que reduz a absorção de fluidos normais (PHILLIPS et al., 1965); ativação da ciclase de adenilil com conseqüente aumento de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) na mucosa, o qual medeia o acúmulo de secreção no intestino delgado e cólon e afeta a contratilidade do músculo liso intestinal (GAGINELLA; BASS, 1978); estimulação da síntese de prostaglandinas, que por sua vez, inibe a reabsorção de NaCl e água (CAPASSO et al., 1986); além da estimulação da secreção de fator ativador de plaquetas (PAF), um dos

prováveis mediadores do dano intestinal induzido pelo óleo de rícino (CAPASSO et al., 1992).

Também foi demonstrado por Mascolo et al. (1994) o envolvimento do óxido nítrico (NO), onde observaram que inibidores da sintase de NO (NOS) impedem a diarreia induzida por óleo de rícino em ratos, além de impedir o acúmulo de fluido e eletrólitos e o trânsito intestinal aumentado. Eles também relatam o papel protetor intestinal do NO, provavelmente devido a sua capacidade de regular a síntese de PAF, já que a formação aumentada de PAF pode levar ao dano na mucosa. Além disso, Uchida et al. (2000) citaram que o NO está implicado na ativação colinérgica da secreção de água. Apesar do fato de inúmeros mecanismos terem sido propostos para o efeito laxativo do óleo de rícino, ainda não foi possível definir com clareza seu mecanismo de ação.

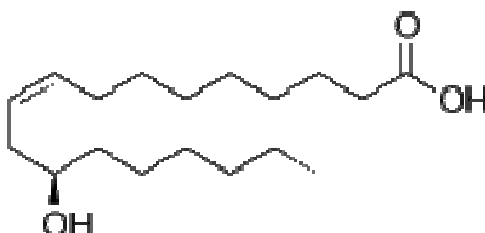


Figura 1. Estrutura do ácido ricinoléico.

2.2.3 Medicamentos utilizados no tratamento da diarreia

As drogas antidiarréicas reduzem as características da diarreia como a perda da consistência das fezes e o aumento da frequência de defecação e da massa fecal. Sua ação é produzida através de efeitos sobre o trânsito intestinal, o transporte da mucosa, ou o conteúdo da luz intestinal. Várias são as queixas que podem ser apresentadas pelo paciente frente a alterações no funcionamento normal do intestino, dentre elas podemos citar diarreia, perda de peso, endurecimento das fezes, cólica abdominal, urgência fecal e constipação. Os medicamentos que alteram o trânsito intestinal são indicados de acordo com a sintomatologia apresentada pelo paciente. Por exemplo, existem drogas que aliviam a constipação ou funcionam como laxantes, enquanto outras apresentam atividade antidiarréica (RANG; DALE; RITTER, 2006).

Existem medicamentos utilizados para aumentar a motilidade, como a domperidona, a metoclopramida e a cisaprida, ou diminuir a motilidade do intestino, assim como os opiáceos e os antagonistas dos receptores muscarínicos. Os medicamentos que aumentam os movimentos incluem também os purgativos, que aceleram a passagem do alimento através do intestino, e os agentes que aumentam a motilidade da musculatura lisa intestinal sem causar purgação. As drogas usadas atualmente no tratamento da diarreia, como antibióticos e opiáceos, têm suas limitações, devido ao desenvolvimento de resistência bacteriana e ao aparecimento, por vezes, de constipação, respectivamente. Desse modo, estudos vêm sendo realizados na tentativa de encontrar drogas que atuem predominantemente na secreção sem afetar a motilidade gastrointestinal, reduzindo deste modo a fluidez das fezes sem, contudo, causar constipação. Avanços terapêuticos incluem antagonistas dos receptores da serotonina (5-HT₂ e 5-HT₃), antagonistas do sistema cálcio-calmodulina, agonistas dos receptores opióides sigma e o inibidor da encefalinase, racecadotril (FARTHING, 2000).

Os opióides (como a Loperamida) são os agentes antidiarréicos mais utilizados e apresentam efeitos sobre o trânsito, a absorção e a secreção intestinal. Os agonistas α -adrenérgicos, os análogos da somatostatina e alguns outros agentes têm uso limitado e podem modificar o transporte da mucosa, além de lentificar o trânsito. Adsorventes, bismuto e os agentes que modificam o transporte de líquidos e eletrólitos, como o maleato de zaldarida, são frequentemente utilizados. As soluções de reidratação oral têm tido grande importância no salvamento de vidas e continuam sendo utilizadas. Contudo, novos métodos para o tratamento da diarreia ainda estão sendo explorados (SCHILLER; SELLIN, 2006).

2.3 Contração muscular

O músculo liso é o principal tipo de músculo que controla a maioria dos sistemas de órgãos do corpo (WATTERSON; RATZ; SPIEGEL, 2005). Na busca por substâncias que interfiram no metabolismo do Ca²⁺, o músculo liso se tornou uma alternativa para o desenvolvimento de técnicas que possibilitem essa investigação (KARAKI et al., 1997).

Há um grande interesse em se investigar drogas obtidas diretamente de plantas ou seus derivados que atuem sobre a musculatura lisa, pois esse músculo é o principal responsável pelo controle da maioria dos órgãos e os dos sistemas do corpo (WATTERSON; RATZ; SPIEGEL, 2005). As células da musculatura lisa estão presentes nas paredes de vários órgãos do corpo, incluindo os vasos sanguíneos, estômago, intestinos, bexiga e vias aéreas. A regulação/desregulação da contração do músculo desempenha um papel integral em muitos processos fisiológicos/patológicos como hipertensão, asma, disfunção erétil, diarreias, cólicas intestinais e uterinas, entre outras (WEBB, 2003).

O espasmo é caracterizado por uma contração muscular e este efeito pode ser revertido quando se impede alguma etapa do processo contrátil. O mecanismo de contração é predominantemente resultante de um aumento de Ca^{2+} intracelular que pode ser de origem externa, através de mudança de potencial de membrana e/ou indiretamente pela ligação dos agonistas aos seus receptores levando à abertura de canais de Ca^{2+} do tipo L (CASTEELS; SUZUKI, 1980; NEILD; KOTE CHA, 1987; NELSON; STANDEN; WORLEY, 1988). O Ca^{2+} de origem intracelular é resultante da ativação de receptores específicos na membrana do retículo sarcoplasmático (RS) envolvendo um aumento dos níveis de 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3) formado pela interação agonista/receptor e ativação da fosfolipase C; por liberação do Ca^{2+} pelo próprio Ca^{2+} através do receptor de rianodina (sensível à cafeína), presente também na membrana do RS; e por um aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular mediado por um trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reverso (BLAUSTEIN, 1989).

O processo de contração resulta de um acoplamento entre os filamentos de actina e miosina formando o complexo actino-miosina que depende de Mg^{2+} -ATP. A magnitude desta força é regulada através da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ livre ao redor destes miofilamentos, contudo outros mecanismos relacionados com fosforilação e/ou desfosforilação de proteínas, estão intimamente ligados com a ativação ou inibição desta interação (KRISTINE; STULL, 1989).

O Ca^{2+} em quantidades elevadas no meio intracelular liga-se a uma proteína específica calmodulina (CaM) formando o complexo $[\text{Ca}^{2+}_4\text{-CaM}]$ que ativa a cinase da cadeia leve da miosina (MLCK). O complexo $(\text{Ca}^{2+}_4\text{-CaM-MLCK})$ fosforila a cadeia leve de miosina (MLC), esta fosforilação

permite o desencadeamento do mecanismo de ciclicização das pontes entre os filamentos de actina e miosina ocorrendo um deslizamento entre estes com consequente desenvolvimento da contração (BRUCE; MICHAEL, 1994; SOMLYO; SOMLYO, 2003).

O relaxamento requer a diminuição da $[Ca^{2+}]_i$ para o nível basal. Após o término do estímulo e a queda dos níveis de mensageiros secundários, há o sequestro e/ou extrusão dos íons Ca^{2+} em excesso do citoplasma pelas Ca^{2+} -ATPases presentes nas membranas plasmática e do RS, além da participação do trocador Na^+/Ca^{2+} . A remoção dos íons Ca^{2+} do citoplasma diminui a atividade da enzima MLCK, e a LC20 é desfosforilada pela ação da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP), determinando, assim, o relaxamento. Esta reação é relativamente lenta, por isso as contrações no músculo liso são tipicamente mais sustentadas e se dissipam mais lentamente que aquelas do músculo estriado (REMBOLD, 1996).

O equilíbrio entre a MLCK e a MLCP age como um mecanismo regulador reversível de fosforilação/desfosforilação que integram a contração no músculo liso (WATTERSON; RATZ; SPIEGEL, 2005). A inibição da MLCP induzida por agonista é iniciada pela ativação da pequena proteína Rho ligante de GTP (RhoA), dependente de $G_{12/13}$ (SOMLYO; SOMLYO, 2003). A RhoA-GTP estimula a sua cinase associada (ROK) e uma fosfolipase D (PLD) específica para fosfatidilcolina, liberando ácido fosfatídico que é desfosforilado a diacilglicerol (DAG) levando a ativação sustentada de certas isoformas de proteína cinase C (PKC) (EXTON, 1997). A ativação desta cinase pode resultar da ativação, dependente de G_q , da fosfolipase C (PLC) que forma DAG a partir da hidrólise do 4,5-bisfosfato de inositol (PIP_2). Tanto a ROK como a PKC agem isolada ou cooperativamente para inibir a atividade da MLCP (SOMLYO; SOMLYO, 2000). Embora a ROK fosforile diretamente a MLC (TOTSUKAWA et al., 2000), sua ação principal na sensibilização do cálcio parece ser a inibição da MLCP. A ROK pode também fosforilar o resíduo Thr38 da proteína inibitória endógena CPI-17, aumentando assim sua potência inibitória sobre a MLCP por mais de 1000 vezes (SOMLYO; SOMLYO, 2003). Tanto o KCl como agonistas de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) são capazes de ativar a via de sensibilização ao cálcio, em íleo isolado de cobaia. O mecanismo de ativação do KCl da via de sensibilização ao cálcio parece não estar bem elucidado,

entretanto os agonistas dos GPCR (carbacol e histamina) parecem ativar esta via mais fortemente comparado com o KCl (RATZ et al., 2005).

2.4 O uso de plantas medicinais

O uso de produtos naturais, especialmente os derivados de plantas medicinais, tem sido bastante utilizado por diversas civilizações desde um passado longínquo até os tempos atuais como uma forma tradicional de prover remédios para tratar diversos tipos de doenças. Nos últimos anos, as plantas medicinais têm contribuído imensamente para o desenvolvimento de fármacos de importância terapêutica usados correntemente na medicina convencional, demonstrando o importante papel dos produtos naturais na descoberta de fármacos relacionados a todos os tipos de doenças (CRAGG; NEWMAN; SNADER, 1997; CALIXTO, 2005).

Nos últimos anos tem havido um movimento de retorno dos produtos naturais para usos terapêutico, cosmético e alimentar. Alguns fatores, por fazerem parte de um contexto cultural, têm contribuído para este interesse crescente. Entre eles está a facilidade de acesso; efeitos colaterais provocados pelos fármacos sintéticos; por serem a única fonte de medicamento especialmente em lugares isolados; e por apresentarem moléculas potencialmente ativas, uma vez que já são conhecidos cerca de 50.000 metabólitos secundários isolados de plantas, muitos deles ainda sem qualquer avaliação quanto ao seu potencial terapêutico (MONTANARI; BOLZANI, 2001; OMENA, 2007). Outro fator de destaque na utilização crescente de produtos à base de plantas medicinais é a vigente carência de recursos dos órgãos públicos de saúde e os elevados preços dos medicamentos industrializados. No entanto, pela facilidade de obtenção e pelo despreparo de quem as utiliza, são facilmente observados casos de intoxicação com plantas medicinais (PARENTE; ROSA, 2001).

Questionamentos importantes relacionados às drogas vegetais são necessários para se saber que parte da planta apresenta melhor resposta medicinal, qual o método popular de preparação e qual a frequência e duração do tratamento (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005). Estas informações podem ser obtidas pelos estudos etnofarmacológicos que resgata

o uso tradicional de plantas com fins medicinais. Segundo Agra, Freitas e Barbosa-Filho (2007), as informações oriundas de grupos étnicos ou indígenas, sobre a utilização de plantas com fins medicinais são importantes para a pesquisa e descoberta de novos produtos que venham a ser utilizados como agentes terapêuticos.

Aproximadamente 50% dos fármacos introduzidos no mercado durante os últimos 20 anos são derivadas, direta ou indiretamente, de pequenas moléculas biogênicas. No futuro, os produtos naturais irão desempenhar um grande papel como substâncias ativas, moléculas modelo para a descoberta e validação de drogas alvo (VUORELA et al., 2004). A terapêutica moderna composta por medicamentos com ações sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria sido possível sem a contribuição dos produtos naturais, principalmente das plantas superiores, das toxinas animais e dos microrganismos. Cerca de um terço dos medicamentos mais prescritos e vendidos no mundo foram desenvolvidos a partir de produtos naturais. No caso de drogas anticancerígenas e dos antibióticos, por exemplo, esse percentual atinge cerca de 70% (CRAGG; NEWMAN; SNADER, 1997; CALIXTO, 2000).

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada em cerca de 20% do número total de espécies do planeta. Esse imenso patrimônio genético, bastante escasso nos países desenvolvidos, tem atualmente um valor econômico inestimável em diversas áreas, porém, é no campo do desenvolvimento de novos medicamentos onde reside sua maior potencialidade (CRAGG; NEWMAN; SNADER, 1997; CALIXTO, 2000; 2005).

2.4.1 Plantas medicinais utilizadas no tratamento da diarreia

Muitas plantas são utilizadas na medicina popular como antidiarréicas. Estas contêm substâncias químicas que exercem ações adstringente, antimicrobiana ou antiparasitária ajudando no controle da diarreia associada ao aumento da secreção e motilidade intestinal. Além disso, têm potencial ação antidiarréica por reduzirem o trânsito intestinal e aumentarem a absorção de água (CACERES et al., 1990; ALMEIDA et al., 1995).

Estudos realizados por Almeida et al. (1995) demonstraram potencial atividade antidiarréica do extrato aquoso bruto das folhas de *Psidium guajava* (goiabeira), *Stachytarpheta cayenensis* (gervão), *Polygonum punctatum* (polígono ou pimenta d'água), *Eugenia uniflora* (pitangueira) e *Aster squamatus* (zé-da-silva) nos modelos de transporte intestinal de água em ratos e trânsito gastrointestinal em camundongos.

Di Carlo et al. (1993), avaliaram a atividade antidiarréica de 14 diferentes flavonóides e concluíram, em seus resultados, que 12 deles apresentaram atividade inibitória sobre o trânsito intestinal de camundongos e 11 deles inibiram a secreção de água e sódio estimulada pelo óleo de rícino em ratos.

Além disso, plantas que contêm taninos em sua composição podem apresentar um efeito antidiarréico, uma vez que estas substâncias precipitam as proteínas dos enterócitos, reduzindo os movimentos peristálticos e a secreção intestinal. A camada formada pelo precipitado de proteínas na superfície da mucosa dos enterócitos também inibe o desenvolvimento de microorganismos, explicando, portanto a ação anti-séptica dos taninos, que contribui para o tratamento da diarréia (ALMEIDA et al., 1995).

2.5 Família Solanaceae

No Nordeste Brasileiro estão presentes várias famílias de Angiospermas, dentre elas destacam-se a Solanaceae A. L. Jussieu que compreende 96 gêneros e 3.000 espécies, com distribuição cosmopolita, tendo a América do Sul como um dos principais centros de diversidade e endemismo (HUNZIKER, 2001) e possui importância econômica, tanto por espécies serem utilizadas na alimentação humana, por exemplo, a batatinha (*Solanum tuberosum* L.), o tomate (*Solanum lycopersicum* L.), o jiló (*Solanum gilo*), a berinjela (*Solanum melongena* L.) e a pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.), bem como fornecedoras de matéria-prima para produção de drogas de interesse farmacológico ou toxicológico, por exemplo, a atropina (*Atropa belladonna* L.), a nicotina (*Nicotiana tabacum* L.) entre outras (AGRA, 2000).

O gênero *Solanum* L. é o mais representativo da família Solanaceae, com cerca de 1400 espécies (BOHS, 2005) e 5.000 epítetos

descritos (NEE, 1999), habitando regiões tropicais e subtropicais do mundo (AGRA, 1999). Este gênero está representado nas regiões Sudeste com 193 espécies (CARVALHO, COSTA; DUARTE, 1996), Nordeste com 80 espécies (AGRA, 1999) e Sul com 87 espécies (MENTZ; OLIVEIRA, 2004), sendo a maioria referida para a região Sudeste, um dos seus principais centros de diversidade. É um gênero bastante estudado devido principalmente às atividades biológicas apresentadas por várias de suas espécies, e tem como característica a produção de uma variedade de glicoalcalóides (FERREIRA et al., 1996). No Brasil, muitas espécies de *Solanum* são conhecidas popularmente como “jurubeba”, palavra original do Tupi-Guarani, *yu’beba* devido à presença de espinhos em algumas espécies, e são usadas na medicina popular, principalmente na região Nordeste, onde são referidas para o tratamento de várias doenças, dentre as quais se destacam: disfunções hepáticas e renais (AGRA et al., 1994; AGRA; BHATTACHARYYA, 1999), inflamações (AGRA; BHATTACHARYYA, 1999), sífilis, úlceras externas, tuberculose, anemias (AGRA et al., 1994), tumores e câncer (EL KHAIR; SALIH, 1979; LEE et al., 1994; MURAKAMI et al., 1985), reumatismo (PERROT; PARIS, 1971; MALPASS, 1945), diarreia (COUNE; DENOEL, 1975; MAIKERE-FANIYO et al., 1989; HEDBERG et al., 1983; CHHABRA; MAHUNNAH; MSHIU, 1993; ABEBE, 1986), espasmos (E SA et al., 2000), entre outras.

No Nordeste do Brasil, *Solanum* está representado por cerca de 80 espécies, incluindo 20 que são endêmicas desta região, como *Solanum paraibanum* Agra, *Solanum diamantinense* Agra e *Solanum jabrense* Agra & Nee (AGRA, 1999).

Neste gênero há uma grande ocorrência de metabólitos secundários, como flavonas, flavonóis e seus glicosídeos (SILVA et al., 2003), assim como uma diversidade de saponinas esteroidais e glicoalcalóides de importância na resistência natural destas plantas contra muitas pestes (FERREIRA et al., 1996). Os metabólitos secundários têm sido extensivamente estudados devido principalmente às atividades biológicas apresentadas por muitas espécies. Estas atividades têm sido atribuídas aos alcalóides esteroidais (EVANS; SOMANABANDHU, 1980), como a solamargina, que possui potente atividade citotóxica em hepatócitos humanos (Hep3B) e

fibroblastos de pele normal (HSU et al., 1996; KUO et al., 2000), a solacongestidina, que apresenta significativa atividade antifúngica (KUSANO et al., 1987) e a etiolina, capsimina, capsicastrina e naringenin com efeito citotóxico pronunciado *in vitro* contra a linhagem de células cancerígenas humanas PLC/PRF/5 e KB (ATTA-UR-RAHMAN; IQBAL, 1998).

Algumas espécies de *Solanum*, como *Solanum paniculatum* L. (RIBEIRO et al., 1986), *Solanum melongena* L. (ALMEIDA et al., 1985; SHUM; CHIU, 1991), *Solanum stipulaceum* Roem. & Schult. (RIBEIRO et al., 2002) e *Solanum sisymbriifolium* Lam. (IBARROLA et al., 2000), são relatadas por induzirem hipotensão em ratos. Outras espécies, como *Solanum carolinense* possui atividade citotóxica (MUNI et al., 1967), *Solanum americanum* apresenta atividade antiasmática (HOPE; MASSEY; FOURNIER-MASSEY, 1993) e *Solanum capsicoides*, possui atividade analgésica (BHAKUNI et al., 1988). Outras como *Solanum nigrum* L. apresenta ação depressora sobre o Sistema Nervoso Central (PEREZ et al., 1998), *Solanum torvum* Sw. possui atividade antimicrobiana (CHAH; MUKO; OBOEGBULEM, 2000), e *Solanum aculeastrum* Dunal apresenta atividade moluscicida (WANYONYI et al., 2002). Além dessas atividades, diversas espécies de *Solanum* são conhecidas na medicina popular por apresentarem atividade antidiarréica, assim como: *Solanum dasyphyllum* (COUNE; DENOEL, 1975; MAIKERE-FANIYO et al., 1989), *Solanum incanum* (HEDBERG et al., 1983; CHHABRA et al., 1993), *Solanum marginatum* (ABEBE, 1986), *Solanum khasianum* (JAIN; PURI, 1984), *Solanum nigrum* (SAHU, 1984), *Solanum torvum* (DOMINGUEZ; ALCORN, 1985), *Solanum verbascifolium* (ZAMORA-MARTINEZ; POLA, 1992), *Solanum tuberosum* (ZARGARI, 1992) e *Solanum xanthocarpum* (JAIN; PURI, 1984). E outras apresentam atividade espasmolítica/antiespasmódica comprovadas, como exemplo, *Solanum indicum* L. (BHAKUNI et al., 1969), *Solanum torvum* Sw. (ABRAHAM et al., 1986), *Solanum melongena* L. (SHUM; CHIU, 1991), *Solanum dulcamara* L. (BOYD, 1928), *Solanum agrarium* Sendtner, *Solanum stipulaceum* Roem. & Schult (SANTOS et al., 2003), *Solanum persicum* (MIR BABAYEV; GASANOV; KNIGHT, 1993), *Solanum jabrense* Agra & Nee (CAVALCANTE, 2001; CLAUDINO, 2003), *Solanum megalonyx* Sendt. (OLIVEIRA et al., 2006b), *Solanum paludosum* L. (SILVA, 2005; SANTOS,

2006), *Solanum asperum* (COSTA, 2006; CORREIA, 2007; GARCIA, 2007) e *Solanum paraibanum* Agra (SILVA, 2007).

2.5.1 *Solanum asterophorum* Mart.

A espécie *Solanum asterophorum* (Figura 2) é uma espécie arbustiva, conhecida popularmente por “jurubeba-de-fogo”. No Brasil, encontra-se distribuída nos estados da Paraíba e Bahia, apresentando indicações de uso na medicina popular para problemas hepáticos (AGRA; BHATTACHARYYA, 1999).

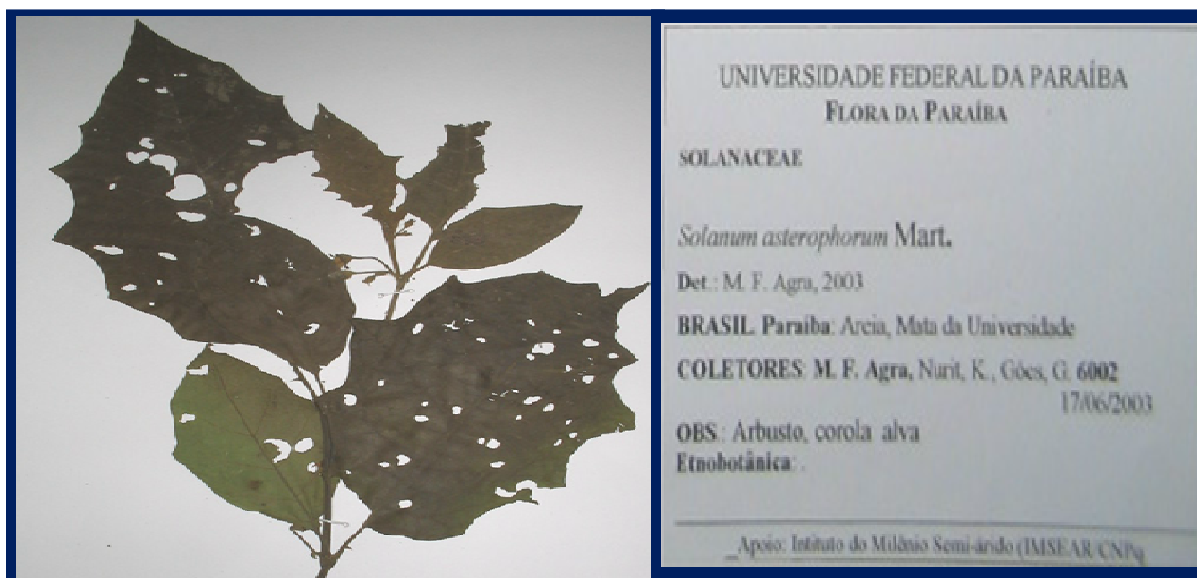


Figura 2. Fotografia de uma exsicata de *Solanum asterophorum* Mart. (Exsicata da Coleção de Referência do LTF/UFPB; nº Agra 6002).

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado no Chemical Abstract, NAPRALERT (NATURAL PRODUCTS ALERT) e em diversos sites científicos, verificou-se que os extratos metanólicos obtidos das partes aéreas e das raízes de *Solanum asterophorum* apresentaram atividade tóxica em *Artemia salina*, no entanto, não apresentaram atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* (SILVA et al., 2007).

Além dessas atividades, Oliveira et al. (2006a) demonstraram que o extrato metanólico obtido das folhas de *Solanum asterophorum* (Sast-MeOH_F) e um alcalóide esteroidal obtido deste extrato (isojuripidina)

apresentaram ausência de hemólise em eritrócitos de rato, bem como, induziram relaxamento em íleo isolado de cobaia através da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 1.2 ($Ca_v1.2$).

Diante disso, resolveu-se verificar se o extrato obtido das raízes de *Solanum asterophorum* apresenta efeito antidiarréico e/ou antiespasmódico, e ainda fazer uma comparação entre os efeitos apresentados pelos extratos obtidos das folhas com os das raízes.

Artigo científica

**Avaliação das atividades antidiarréica e antiespasmódica de
Solanum asterophorum Mart. (Solanaceae)**

Polyana Cristina B. Silva^a, Maria Allynne de Vasconcelos^b, Ana Carolina C. Correia^c, Cibério Landim Macêdo^c, Tania Maria S. da Silva^d, Maria de Fátima Agra^{c,e}, Hilzeth L. F. Pessôa^f, Bagnólia A. da Silva^{c,e}; Fabiana de A. Cavalcante^{a,b*}

a- Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, Brasil.

b- Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, Brasil.

c- Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

d- Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

e- Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

f- Departamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

Endereço de correspondência:

E-mail: fabiana.andrade@ccbi.ufal.br

RESUMO

Solanum asterophorum é uma espécie arbustiva, conhecida popularmente por “jurubeba-de-fogo”. No Brasil, encontra-se distribuída nos estados da Paraíba e Bahia, e suas raízes são utilizadas para problemas hepáticos. Várias espécies de *Solanum* são utilizadas na medicina popular para tratar diarreia. Oliveira et al. (2006a) demonstrou que o extrato metanólico obtido das folhas de *S. asterophorum* (Sast-MeOH_F) apresenta efeito antiespasmódico em íleo de cobaia. Com isso, o objetivo desse estudo foi investigar e comparar um possível efeito tóxico e antiespasmódico do extrato metanólico obtido das raízes desta espécie (Sast-MeOH_R) em íleo de cobaia, além de avaliar a atividade antidiarréica de ambos os extratos em camundongos. Sast-MeOH_R (500 µg/mL) induziu uma baixa atividade hemolítica ($E_{max} = 5,2 \pm 1,2\%$). Em íleo de cobaia, Sast-MeOH_R antagonizou as contrações fásicas induzidas por 10^{-6} M de CCh ($CI_{50} = 48,1 \pm 8,7$ µg/mL) e de histamina ($CI_{50} = 105,0 \pm 16,2$ µg/mL) de maneira significativa e dependente de concentração, sendo o Sast-MeOH_R 2 vezes mais potente frente ao carbacol. Sast-MeOH_R também apresentou efeito espasmogênico dependente de concentração ($CE_{50} = 137,1 \pm 2,8$ µg/mL) quando aplicado sobre o tônus basal, que foi inibido na presença de atropina, um antagonista muscarínico não-seletivo. Sast-MeOH_R inibiu as curvas cumulativas ao CCh e estas foram desviadas para a direita de forma não paralela com redução do E_{max} , sugerindo um antagonismo não competitivo, além de relaxar de maneira significativa e dependente de concentração o íleo de cobaia pré-contraído com 40 mM de KCl ($CE_{50} = 52,9 \pm 11,5$ µg/mL) e com 10^{-6} M de carbacol ($CE_{50} = 20,1 \pm 8,6$ µg/mL) ou de histamina ($CE_{50} = 79,0 \pm 15,0$ µg/mL), sugestivo do bloqueio do influxo de Ca^{2+} através dos canais de cálcio operados por voltagem (Ca_v). Sast-MeOH_R antagonizou as contrações induzidas por $CaCl_2$ em meio despolarizante nominalmente sem Ca^{2+} apenas nas concentrações de 500 e 750 µg/mL, sugerindo um bloqueio indireto dos Ca_v . O fato da curva de relaxamento do Sast-MeOH_R em íleo de cobaia pré-contraído com carbacol ter sido deslocada por 5 mM de CsCl, um bloqueador não seletivo dos canais de potássio ($CE_{50} = 92,8 \pm 46,1$ µg/mL), sugere ativação destes canais. Nos experimentos *in vivo*, foi demonstrada ausência de toxicidade aguda até a dose de 2 g/kg v.o. e 5 g/kg i.p para Sast-MeOH_R. Além do Sast-MeOH_R apresentar uma inibição tanto em relação à frequência de defecação ($DE_{50} = 309,6 \pm 28,5$ mg/kg) como em relação as fezes líquidas ($DE_{50} = 152,1 \pm 32,5$ mg/kg) de forma significativa e dependente de dose. Diferentemente, Sast-MeOH_F apresentou efeito inibitório significativo sobre a frequência de defecação apenas nas doses de 500 e 750 mg/kg ($48,7 \pm 7,4$ e $42,3 \pm 9,8\%$, respectivamente). Já em relação a fezes líquidas, Sast-MeOH_F apresentou inibição significativa ($DE_{50} = 268,4 \pm 35,2$ mg/kg) e dependente de dose. Sendo o Sast-MeOH_R duas vezes mais potente que Sast-MeOH_F em inibir a diarreia. Ambos os extratos (até 500 mg/kg) não inibiram o trânsito intestinal. Diferentemente, ambos extratos inibiram de maneira significativa e dependente da dose o conteúdo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino, sendo o Sast-MeOH_R ($DE_{50} = 38,3 \pm 10,4$ mg/kg) duas vezes mais potente que Sast-MeOH_F ($DE_{50} = 78,6 \pm 6,4$ mg/kg). Sugestivo de que o efeito antidiarréico do Sast-MeOH_R e do Sast-MeOH_F envolve alterações na secreção intestinal, entretanto outros estudos são necessários para elucidar o mecanismo de ação envolvido nesta atividade. Com isso, o extrato obtido das raízes se mostrou mais potente tanto nos experimentos *in vitro* como *in vivo*, sugerindo que os princípios ativos com ação antidiarréica e antiespasmódica podem estar mais concentrados nas raízes.

Palavras-chave: *Solanum asterophorum* Mart.; raízes, folhas; efeito antidiarréico; músculo liso.

ABSTRACT

Solanum asterophorum is a shrub popularly known as "jurubeba-de-fogo". In Brazil, is distributed in the states of Paraíba and Bahia and its roots are popularly used in the treatment of liver diseases. Several species of *Solanum* are used in folk medicine to treat diarrhea. Oliveira et al. (2006a) showed that the methanol extract from the leaves of *S. asterophorum* (Sast-MeOH_F) has antispasmodic effect in guinea-pig ileum. Therefore, the objective of this study was to investigate and to compare a possible toxic effect and antispasmodic in guinea-pig ileum of the methanol extract obtained from roots of this species (Sast-MeOH_R) in guinea-pig ileum, beyond to evaluate the antidiarrhoeal activity of both extracts in mice. Sast-MeOH_R (500 mg/mL) induced low hemolytic activity ($E_{max} = 5.2 \pm 1.2\%$). In guinea-pig ileum, Sast-MeOH_R antagonized the phasic contractions induced by 10^{-6} M carbachol ($IC_{50} = 48.1 \pm 8.7$ mg/mL) and histamine ($IC_{50} = 105.0 \pm 16.2$ mg/mL) in a significant and concentration-dependent manner, being Sast-MeOH_R 2 times more potent against the carbachol. Sast-MeOH_R also presented concentration-dependent spasmogenic effect ($EC_{50} = 137.1 \pm 2.8$ mg/mL) when applied on the basal tone, which was inhibited in the presence of atropine, a nonselective muscarinic antagonist. Sast-MeOH_R inhibited the cumulative curves to carbachol (CCh) and these were shifted to the right of a non-parallel with a reduction in E_{max} , suggesting a non-competitive antagonism, and relax in a significant and concentration-dependent manner the guinea-pig ileum pre-contracted with 40 mM KCl ($EC_{50} = 52.9 \pm 11.5$ mg/mL) and with 10^{-6} M carbachol ($EC_{50} = 20.1 \pm 8.6$ mg/mL) or histamine ($EC_{50} = 79, 0 \pm 15.0$ mg/mL), suggestive of the blockade Ca^{2+} influx through the Ca_v . Sast-MeOH_R antagonized the $CaCl_2$ -induced contractions in depolarizing medium nominally without Ca^{2+} only at concentrations of 500 and 750 mg/mL, suggesting a blockage of the indirect Ca_v . The fact that the relaxation curve of Sast-MeOH_R in guinea-pig ileum pre-contracted with carbachol ($EC_{50} = 20.1 \pm 8.6$ mg/mL) have been displaced in the presence of 5 mM CsCl, a potassium channels non-selective blocker ($EC_{50} = 92.8 \pm 46.1$ mg/mL), suggests activation of these channels. *In vivo* experiments demonstrated a lack of acute toxicity to the dose of 2 g/kg vo and 5 g/kg for i.p to Sast-MeOH_R. Besides Sast-MeOH_R present an inhibition on both frequency of defecation ($ED_{50} = 309.6 \pm 28.5$ mg/kg) as liquid stools ($ED_{50} = 152.1 \pm 32.5$ mg/kg) in a significant and dose-dependent manner. In contrast, Sast-MeOH_F presents significant inhibitory effect on the frequency of defecation only in doses of 500 and 750 mg/kg (48.7 ± 7.4 and $42.3 \pm 9.8\%$, respectively). In relation to liquid stools, the Sast-MeOH_F showed significant ($ED_{50} = 268.4 \pm 35.2$ mg/kg) and dose-dependent inhibition, being Sast-MeOH_R 2 times more potent to inhibit diarrhea. Both extracts (until 500 mg/kg) did not inhibit intestinal transit. In contrast, both inhibited in a significant and dose-dependent manner, the contents of intestinal fluid induced by castor oil, being Sast-MeOH_R ($ED_{50} = 38.3 \pm 10.4$ mg/kg) 2 times more potent than Sast-MeOH_F ($ED_{50} = 78.6 \pm 6.4$ mg/kg). Suggest that the antidiarrhoeal effect of Sast-MeOH_R and Sast-MeOH_F involves changes in intestinal secretion, however other studies must be carried out to elucidate the mechanisms involved in these activity. Thus, the extract obtained from the roots was more potent both *in vitro* experiments and *in vivo*, suggesting that the active principles with antispasmodic and antidiarrheal action may be more concentrated in roots.

Keywords: *Solanum asterophorum* Mart.; roots, leaves; antidiarrheal effect; smooth muscle.

INTRODUÇÃO

A diarreia é uma das doenças mais comuns em crianças em todo o mundo, caracterizando-se pelo aumento no número de evacuações (3 ou mais/24 h), aumento na fluidez das fezes e/ou pela presença de sangue e muco nestas (MATHAN, 1998). Ela atinge pessoas de qualquer faixa etária, mas é na infância que esta afecção pode causar maior mortalidade. É a terceira causa mais comum de doenças em crianças dos países em desenvolvimento, e é responsável por cerca de um terço de todas as hospitalizações entre os menores de cinco anos (SOUZA, 2000). Muitas plantas são utilizadas na medicina popular como antidiarréicas, como exemplo, *Psidium guajava* (“goiabeira”), *Stachytarpheta cayenensis* (“gervão”) e *Eugenia uniflora* (“pitangueira”) (ALMEIDA et al., 1995).

No Nordeste Brasileiro estão presentes várias famílias de Angiospermas, dentre elas destacam-se a Solanaceae A. L. Jussieu que compreende 96 gêneros e 3.000 espécies (HUNZIKER, 2001). O gênero *Solanum* L. é o mais representativo desta família, com cerca de 1400 espécies (BOHS, 2005) e 5.000 epítetos descritos (NEE, 1999), habitando regiões tropicais e subtropicais do mundo (AGRA, 1999).

Diversas espécies de *Solanum* são conhecidas na medicina popular por apresentarem atividade antidiarréica, assim como: *Solanum dasyphyllum* (COUNE; DENOEL, 1975; MAIKERE-FANIYO et al., 1989), *Solanum incanum* (HEDBERG et al., 1983; CHHABRA et al., 1993), *Solanum marginatum* (ABEBE, 1986), *Solanum khasianum* (JAIN; PURI, 1984), *Solanum nigrum* (SAHU, 1984), *Solanum torvum* (DOMINGUEZ; ALCORN, 1985), *Solanum verbascifolium* (ZAMORA-MARTINEZ; POLA, 1992), *Solanum tuberosum* (ZARGARI, 1992) e *Solanum xanthocarpum* (JAIN; PURI, 1984). E outras apresentam atividade antiespasmódica comprovada, como exemplo, *Solanum indicum* L. (BHAKUNI et al., 1969), *Solanum torvum* Sw. (ABRAHAM et al., 1986), *Solanum melongena* L. (SHUM; CHIU, 1991), *Solanum dulcamara* L. (BOYD, 1928), *Solanum agrarium* Sendtner, *Solanum stipulaceum* Roem. & Schult (SANTOS et al., 2003), *Solanum persicum* (MIR BABAYEV; GASANOV; KNIGHT, 1993), *Solanum jabrense* Agra & Nee (CAVALCANTE, 2001; CLAUDINO, 2003), *Solanum megalonyx* Sendt. (OLIVEIRA et al., 2006b),

Solanum paludosum L. (SILVA, 2005; SANTOS, 2006), *Solanum asperum* (COSTA, 2006; CORREIA, 2007; GARCIA, 2007) e *Solanum paraibanum* Agra (SILVA, 2007).

Solanum asterophorum é uma espécie arbustiva, conhecida popularmente por “jurubeba-de-fogo”. No Brasil, encontra-se distribuída nos estados da Paraíba e Bahia, apresentando indicações de uso na medicina popular para problemas hepáticos (AGRA; BHATTACHARYYA, 1999).

De acordo com o levantamento bibliográfico, verificou-se que os extratos metanólicos obtidos das partes aéreas e das raízes de *Solanum asterophorum* apresentaram uma atividade tóxica em *Artemia salina*, no entanto, não apresentaram atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* (SILVA et al., 2007). Além dessas atividades, Oliveira et al. (2006b) demonstraram que o extrato metanólico obtido das folhas de *Solanum asterophorum* (Sast-MeOH_F) e isojuripidina não apresentaram hemólise em eritrócitos de rato, bem como, induziram relaxamento em íleo de cobaia através da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem do tipo 1.2 (Ca_v1.2).

Diante disso, resolveu-se avaliar o potencial hemolítico em eritrócitos de rato do extrato metanólico obtido das raízes de *Solanum asterophorum* (Sast-MeOH_R); verificar se, assim como foi observado para o extrato obtido das folhas, Sast-MeOH_F (OLIVEIRA et al. 2006a), o extrato obtido das raízes, Sast-MeOH_R, apresenta efeito antiespasmódico em íleo de cobaia; avaliar a dose letal que mata 50% dos animais (DL₅₀) do extrato obtido das raízes (Sast-MeOH_R), além de fazer uma avaliação comparativa entre os possíveis efeitos antidiarréicos dos extratos obtidos das raízes (Sast-MeOH_R) e das folhas (Sast-MeOH_F), em modelos de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

1 MATERIAL

1.1 Material botânico

A espécie *Solanum asterophorum* foi coletada no município de Areia no estado da Paraíba e identificada pela Profa. Dra. Maria de Fátima Agra do Setor de Botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). As exsicatas da espécie estão depositadas no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da UFPB e as duplicatas estão depositadas na Coleção de Referência do LTF/UFPB, sob o código de identificação Agra 6002.

1.2 Animais

Eram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) pesando entre 200 e 300 g, cobaias adultos (*Cavia porcellus*) de ambos os sexos pesando entre 300 e 500 gramas e camundongos (*Mus musculus*, variedade Swiss) machos e fêmeas com peso variando entre 25 e 35 g. Os animais eram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas e do Biotério Prof. Thomas George do LTF/UFPB.

Antes dos experimentos os animais eram mantidos sob rigoroso controle alimentar com uma dieta balanceada a base de ração tipo pellets (Purina) com livre acesso a água, com ventilação e temperatura (22 ± 1 °C) controladas e constantes. Todos os experimentos eram realizados no período de 8h00 às 20h00. Todos os procedimentos experimentais com *Solanum asterophorum* foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFAL (parecer n° 027241/2008-11) (Anexo A).

1.3 Substâncias e sais

O bicarbonato de sódio (NaHCO_3), cloreto de cálcio di-hidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloreto de sódio (NaCl) e o cloreto de potássio (KCl) foram obtidos da Vetec, Brasil.

A glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), fosfato diácido de sódio ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), sulfato de magnésio hepta-hidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e o ácido clorídrico (HCl P.A.) foram obtidos da Nuclear (Brasil).

A atropina, carbacol, cloridrato de histamina, S-(–)-Bay K8644 (1,4-diidro-2,6-dimetil-5-nitro-4-[2-(trifluorometil)fenil]3-piridina carboxílico ácido metil éster), cloreto de céσιο (CsCl), TRITON X-100 e cremofor[®] foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA).

A carboximetilcelulose e o óleo de rícino foram obtidos de A Fórmula, Brasil.

A loperamida obtida do Janssen Cilag Farmacêutica Ltda, Brasil; e o carvão ativado obtido da Proquímios, Brasil.

A mistura carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2) obtida da White Martins, Brasil.

1.4 Soluções nutritivas

De acordo com os protocolos experimentais realizados *in vitro* eram utilizadas soluções nutritivas (pH 7,4) aeradas com carbogênio. O pH era ajustado para 7,4 com solução de HCl ou NaOH 1 N e mantidas a temperatura de 37 °C, cujas composições estão descritas a seguir:

- Composição da solução de Krebs modificado por Sun e Benishin (1994) (mM): NaCl (117,0); KCl (4,7); NaH_2PO_4 (1,2); MgSO_4 (1,3); CaCl_2 (2,5); NaHCO_3 (25,0); glicose (11,0).
- Composição da solução de Krebs modificado despolarizante (KCl 70 mM) nominalmente sem Ca^{2+} (mM): NaCl (51,7); KCl (70,0); NaH_2PO_4 (1,2); MgSO_4 (1,3); NaHCO_3 (25,0); glicose (11,0).

1.5 Aparelhos

Para a determinação da atividade hemolítica, as soluções contendo eritrócitos de rato eram centrifugadas em centrífuga modelo 206 (FANEM, Brasil) e as leituras realizadas em espectrofotômetro DU-640 (BECKMAN, USA).

Para registro das contrações isotônicas, os órgãos eram suspensos em cubas de 5 mL e conectados a uma alavanca isotônica de inscrição frontal em cilindros esfumaçados de um quimógrafo (DTF, Brasil). As contrações isométricas eram registradas através de transdutores de força isométricos FORT-10 conectados a um amplificador modelo TMB4M, ambos da World Precision Instruments (EUA), os quais estavam conectados a uma placa conversora analógico/digital (BioData, Brasil) instalada em um computador contendo o programa BioMed[®] versão Rv2.

Os valores de pH eram verificados através de um pHmetro digital PG 2000 (GEHAKA, Brasil). A temperatura das cubas era controlada com bombas termostáticas (BANHO-MARIA AVS-BM, Brasil) ou do modelo POLYSTAT 12002 (Cole-Palmer, EUA).

Todas as substâncias eram pesadas em balança analítica modelo AG200 da GEHAKA (Brasil) e balança analítica Bioprecisa modelo FA2104N, e os animais em balança semi-analítica da GEHAKA.

1.6 Preparação dos extratos para os ensaios farmacológicos

Foram utilizados os extratos metanólicos brutos obtidos das raízes (Sast-MeOH_R) e das folhas (Sast-MeOH_F) de *Solanum asterophorum*, os quais foram cedidos pela Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Estes eram solubilizados em cremofor[®] (3%) e diluídos em água destilada para obtenção das soluções-estoque (10 mg/mL) que eram estocadas a 0 °C. A concentração final de cremofor[®] nas cubas nunca excedeu 0,01% (v/v). Nessa concentração, o cremofor[®] não apresenta efeito relaxante ou contrátil significativo nos músculos lisos testados nem nos experimentos *in vivo* utilizados, de acordo com dados

obtidos em experimentos anteriores realizados em nosso laboratório. No momento da realização dos protocolos experimentais estas soluções eram diluídas em água destilada ou salina de acordo com a exigência de cada protocolo.

2 MÉTODOS

2.1 Avaliação toxicológica: efeito do extrato Sast-MeOH_R em eritrócitos de rato

Este procedimento seguiu a metodologia descrita por Rangel et al. (1997) em que os ratos pesando entre 200 e 300 g eram mantidos em jejum por um período de 12 horas, tendo acesso à água *ad libitum* antes do início dos experimentos. Após este período, os ratos eram eutanasiados por deslocamento cervical e uma amostra de sangue era coletada através do plexo braquial e imediatamente misturada com uma solução (pH = 7,4) de NaCl (0,9%) e CaCl₂ (10 mM) na proporção de 1:30 sob agitação lenta e constante para evitar coagulação, e centrifugada a 2500 rpm durante 5 minutos para obtenção dos eritrócitos. Este procedimento era repetido e o sedimento da última centrifugação era ressuspenso a 0,4% em solução de NaCl (0,9%) e CaCl₂ (10 mM). Separadamente, o extrato Sast-MeOH_R era adicionado a 4 mL da suspensão de eritrócitos, sendo diluído de uma solução estoque de 10 mg/mL, em preparações diferentes, para que na suspensão atingisse as concentrações finais de 81, 243 e 500 µg/mL. O controle negativo era preparado com suspensão de eritrócitos mais NaCl e CaCl₂ (0% de hemólise) e o controle positivo com suspensão de eritrócitos mais 100 µL de Triton X-100 1% (100% de hemólise). As amostras eram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente sob agitação lenta e constante. Decorrido este tempo, eram centrifugadas a 2500 rpm durante 5 minutos e a hemólise era quantificada por espectrofotometria a 540 nm e expressa em percentagem. Quando a hemólise era quantificada em até 20% esta era considerada uma baixa atividade hemolítica, entre 20 e 50% era considerada uma atividade hemolítica moderada, acima disto a hemólise era considerada alta (PROKOF'EVA et al., 2004).

2.2 Investigação da atividade antiespasmódica ou espasmogênica do extrato Sast-MeOH_R em íleo isolado de cobaia

2.2.1 Efeito de Sast-MeOH_R frente às contrações fásicas induzidas por carbacol ou por histamina

Os cobaias eram mantidos em jejum por um período de 18 horas, tendo acesso à água *ad libitum* antes do início dos experimentos. Após este período eram eutanasiados por concussão cerebral seguido de secção dos vasos cervicais. O abdômen era aberto e um segmento do íleo de aproximadamente 15 cm de comprimento era retirado e colocado em uma placa de Petri contendo solução nutritiva de Krebs modificado a 37 °C sob aeração com carbogênio.

Após cuidadosa dissecação, o segmento do íleo era seccionado em fragmentos de 2 a 3 cm de comprimento, suspensos individualmente em cubas de vidro de 5 mL e deixados em repouso por 30 minutos sob tensão de 1 g, tempo necessário para perfeita estabilização da preparação, durante este período a solução nutritiva era trocada a cada 15 minutos. Após o período de estabilização, duas contrações fásicas de magnitudes similares, com intervalo de 15 minutos entre ambas, eram obtidas com 10⁻⁶ M de carbacol ou de histamina, concentração submáxima que produz cerca de 80% da resposta máxima, e registradas através de uma alavanca isotônica de inscrição frontal em um cilindro esfumado de um quimógrafo. O extrato Sast-MeOH_R era incubado, individualmente, por 15 minutos em preparações diferentes.

A inibição da resposta contrátil submáxima induzida por carbacol ou por histamina foi avaliada por comparação das respostas antes (controle) e após a adição do extrato Sast-MeOH_R a cuba. Os valores da concentração de uma substância que inibe 50% do efeito máximo produzido por um agonista (CI₅₀) foram expressos como a percentagem da média ± e.p.m. (erro padrão da média) dos valores individuais da CI₅₀ obtidos em cada um dos experimentos e calculados por regressão não-linear.

2.2.2 Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH_R na ausência e na presença de atropina

Após o período de estabilização, sob as condições descritas anteriormente, o extrato Sast-MeOH_R era adicionado em diferentes concentrações de maneira cumulativamente a cuba sobre o tônus basal do órgão. Em seguida, a preparação era incubada por 10 minutos com atropina (10^{-6} , 10^{-5} e 3×10^{-5} M), um antagonista muscarínico não-seletivo (JAISWAL et al., 1991), e ainda na presença do mesmo, uma nova contração cumulativa ao extrato era obtida. Em seguida o extrato era aplicado cumulativamente sobre o tônus basal para verificar a reversão do seu efeito espasmogênico. Os resultados foram avaliados comparando-se os valores de efeito máximo (E_{max}) e CE_{50} obtidos para a curva concentração-resposta do extrato na ausência e na presença de atropina.

2.3 Mecanismo de ação antiespasmódico do extrato Sast-MeOH_R em íleo isolado de cobaia

2.3.1 Caracterização do bloqueio da contração induzida por carbacol

Após o período de estabilização sob as condições descritas no item 2.2.1, duas curvas concentrações-resposta cumulativas similares ao carbacol eram obtidas. Em seguida, na ausência do carbacol, o extrato Sast-MeOH_R era incubado por 15 minutos em diferentes concentrações e em experimentos independentes. Após este período, na presença do extrato Sast-MeOH_R, uma nova curva concentração-resposta cumulativa ao carbacol era obtida. Os resultados foram avaliados comparando-se a percentagem da resposta contrátil na presença do extrato com àquela obtida pela amplitude média das curvas controle (na ausência do extrato Sast-MeOH_R). O tipo de antagonismo exercido pelo extrato Sast-MeOH_R foi avaliado com base na análise dos valores da CE_{50} e dos valores do E_{max} do carbacol calculados a partir das curvas concentrações-resposta, na ausência (controle) e na presença do extrato Sast-MeOH_R.

2.3.2 Efeito antiespasmódico do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por carbacol ou por histamina

Após o período de estabilização sob as condições descritas no item 2.2.1, uma contração submáxima, registrada através de transdutores isométricos acoplados a um sistema de aquisição digital, era obtida com 40 mM de KCl, para verificação da funcionalidade do órgão e durante a fase tônica sustentada (8 – 10 min) de uma segunda contração induzida por 40 mM de KCl, 10⁻⁶ M de carbacol ou de histamina, o extrato Sast-MeOH_R era adicionado de maneira cumulativa a cuba em preparações diferentes.

O relaxamento produzido pelo extrato Sast-MeOH_R foi expresso como a porcentagem reversa da contração inicial produzida pelos agentes contráteis. Os valores de CE₅₀ (Concentração de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo) foram expressos como a porcentagem da média ± e.p.m. dos valores individuais da CE₅₀, obtidos por análise de regressão não-linear.

2.3.3 Avaliação da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_v)

2.3.3.1 Efeito de Sast-MeOH_R frente às contrações induzidas por CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺

A montagem para este experimento era semelhante ao descrito no item 2.2.1. Após um período de estabilização do órgão por 30 minutos, a solução de Krebs modificado era substituída pela solução despolarizante (KCl = 70 mM) nominalmente sem Ca²⁺, por um período de 45 minutos. Eram induzidas duas curvas similares de maneira concentração-resposta cumulativa ao CaCl₂, em seguida o extrato Sast-MeOH_R era incubado na ausência de CaCl₂ em preparações diferentes por 15 minutos e após este período uma terceira curva cumulativa ao CaCl₂ era obtida na presença do extrato Sast-MeOH_R. O tipo de antagonismo exercido pelo extrato Sast-MeOH_R foi avaliado com base na análise dos valores de CE₅₀ e do E_{max} do CaCl₂

calculado a partir das curvas concentrações-resposta, na ausência (controle) e na presença do extrato Sast-MeOH_R.

2.3.4 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio

2.3.4.1 Efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)

O íleo era montado como descrito no item 2.2.1. Após o período de estabilização, era induzida uma contração com KCl 40 mM para verificar a funcionalidade do órgão. A preparação era lavada e após 15 minutos, era induzida uma contração com 10⁻⁶ M de carbacol, e sob o componente tônico dessa contração era adicionado o extrato Sast-MeOH_R de forma cumulativa (curva controle). Em outra cuba era adicionado 5 mM de CsCl, que nessa concentração é um bloqueador não seletivo dos canais de potássio (LATORRE et al., 1989), e após 20 minutos na presença do bloqueador era induzida uma contração com 10⁻⁶ M de carbacol e sob o componente tônico dessa contração era adicionado o extrato Sast-MeOH_R de forma cumulativa.

O relaxamento produzido pelo Sast-MeOH_R foi expresso como a porcentagem reversa da contração inicial induzida pelo agonista. Os valores de CE₅₀ do Sast-MeOH_R foram calculados a partir das curvas concentrações-resposta, na ausência e na presença do bloqueador.

2.4 Triagem farmacológica comportamental e determinação da DL₅₀ do extrato Sast-MeOH_R

A avaliação farmacológica comportamental e determinação da DL₅₀ (Dose que mata 50% dos animais testados) do extrato metanólico obtido das raízes de *Solanum asterophorum* (Sast-MeOH_R) em camundongos seguiu a metodologia descrita por Almeida et al. (1999), onde eram utilizados 10 camundongos, sendo 5 machos e 5 fêmeas, que após jejum de 12 horas, eram tratados com solução salina 0,9% (10 mL/kg) mais cremofor[®] ou extrato Sast-MeOH_R nas doses de 2500 e 5000 mg/kg via oral (v.o.) ou 1000 e

2000 mg/kg por via intraperitoneal (i.p.). Uma série de parâmetros comportamentais descritos no protocolo experimental (anexo B) foram observados durante as 3 primeiras horas. A ocorrência de alguma alteração comportamental dos animais, em decorrência do tratamento, permitiria inferir uma relação com a atividade no sistema nervoso central e, conseqüentemente, sinais de toxicidade. Os animais eram ainda avaliados por 24, 48 e 72 horas com a finalidade de verificar se haveria alguma morte e assim determinar a DL_{50} do Sast-MeOH]_R. Além disso, com a realização deste ensaio, foi possível inferir as doses do extrato que seriam utilizadas nos estudos farmacológicos posteriores.

2.5 Avaliação da atividade antidiarréica dos extratos Sast-MeOH]_R e Sast-MeOH]_F

2.5.1 Diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos

O procedimento seguiu a metodologia descrita por Awouters et al. (1978), onde os camundongos machos, em jejum de 12 horas, eram divididos em grupos (n = 6) e tratados com solução salina 0,9% 10 mL/kg mais cremofor[®] (Controle negativo), loperamida 10 mg/kg (Controle positivo) e os extratos Sast-MeOH]_R e Sast-MeOH]_F obtidos de *Solanum asterophorum* (250, 500 ou 750 mg/kg) através de gavagem. Após 1 hora dos tratamentos, era administrado 0,01 mL do agente indutor da diarréia, o óleo de rícino para cada grama do animal por via oral. Os animais eram colocados em caixas individuais forradas com papel branco. Após a administração do agente indutor da diarréia, era realizada a contagem do número de bolos fecais e observado a consistência destes por 3 horas, classificando-os de acordo com sua consistência em sólidos ou líquidos. Era então determinado o número total de bolos fecais e o número de episódios líquidos. Os valores de DE_{50} (Dose de uma substância que produz 50% de seu efeito máximo) foram obtidas por regressão não linear e expressas como a percentagem da média \pm e.p.m. dos valores individuais da DE_{50} .

2.5.2 Trânsito intestinal normal em camundongos

O método seguido por Rao et al. (1997) foi realizado neste estudo. Os camundongos machos, em jejum de 12 horas, eram divididos em grupos (n = 6) e tratados com solução salina 0,9% 10 mL/kg mais cremofor[®] (Controle negativo), atropina 2 mg/kg (Controle positivo) e os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F (125, 250 ou 500 mg/kg) por gavagem. Após 30 minutos, era administrado 0,1 mL para cada grama do animal de uma solução de carvão ativado (5%) em goma arábica (0,5%) e os animais eram eutanasiados por deslocamento cervical 30 minutos após a administração do carvão ativado. A cavidade abdominal era aberta e o intestino delgado removido. Com auxílio de uma régua, era determinado o comprimento total do intestino delgado de cada animal (distância entre o piloro até a válvula ileocecal), e a distância percorrida pelo marcador. Os resultados eram expressos em percentagem da distância percorrida pelo marcador em relação ao comprimento total do intestino delgado de acordo com a equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(\text{Distância do g. controle} - \text{Distância do g. experimental}) \times 100}{\text{Distância do grupo controle}}$$

2.5.3 Acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos

Este método foi realizado como descrito por Robert et al. (1976) e Dicarlo et al. (1994). Os camundongos machos, em jejum de 24 horas e com livre acesso a água, eram divididos em grupos (n = 6) e tratados com solução salina 0,9% 10 mL/kg mais cremofor[®] (Controle negativo) e os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F (25, 50, 75, 100 e 125 mg/kg) através de gavagem. Após 30 minutos, era administrado 2 mL de óleo de rícino por animal. Após 30 minutos da administração do óleo, os camundongos eram eutanasiados, onde o pequeno intestino era dissecado por fora, do piloro até o ceco, sendo expulso o conteúdo em uma proveta para medir o volume do fluido. Os valores de DE₅₀ foram calculados como descrito anteriormente.

2.6 Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como a percentagem da média \pm erro padrão da média, e as diferenças entre as médias foram analisadas estatisticamente empregando-se o teste *t* (não-pareado) ou análise de variância (ANOVA) *one-way*, seguido do teste de Bonferroni, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Os valores de CE₅₀, CI₅₀, DE₅₀ e de E_{max} (NEUBIG et al., 2003) foram calculados por regressão não-linear para todos os experimentos realizados. Todos os dados foram analisados com auxílio do programa GraphPad Prism versão 3.03 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

RESULTADOS

1 Avaliação toxicológica: efeito do extrato Sast-MeOH_R em eritrócitos de rato

Na avaliação da citotoxicidade em eritrócitos de ratos, o extrato Sast-MeOH_R não induziu hemólise nas concentrações de 81 e 243 µg/mL. No entanto, apresentou uma atividade hemolítica significativa apenas na concentração de 500 µg/mL (Gráfico 1).

Não foi possível calcular a CH₅₀ (concentração da substância que causa 50% de hemólise), uma vez que, apenas na concentração de 500 µg/mL, o extrato Sast-MeOH_R apresentou baixo efeito hemolítico (5,2 ± 1,2%).

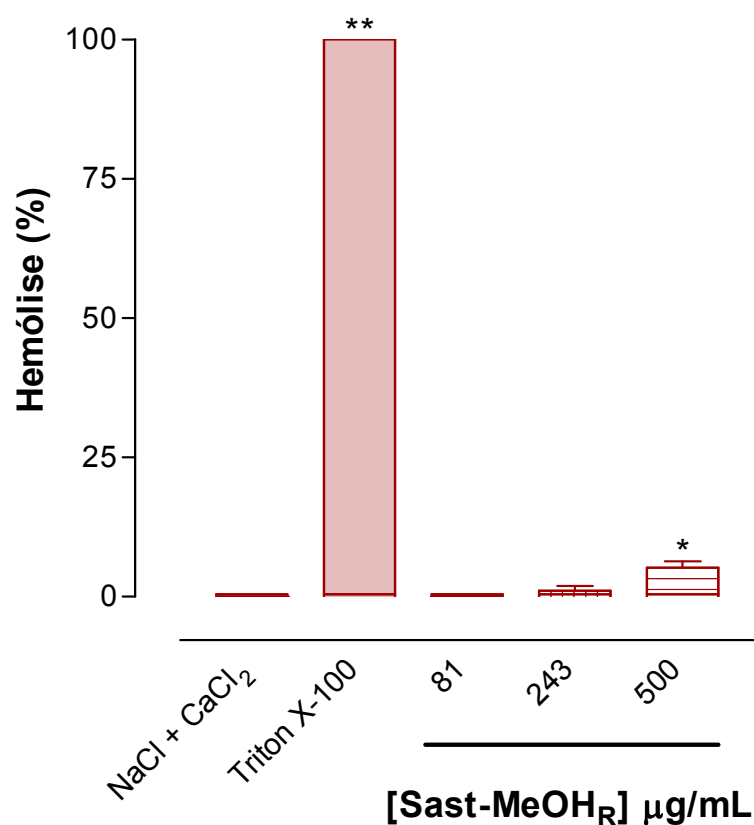


Gráfico 1 – Efeito hemolítico do extrato Sast-MeOH_R (n = 3) em eritrócitos de rato. NaCl + CaCl₂ (controle negativo) e Triton X-100 (controle positivo). As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m, respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; **p* < 0,05 e ***p* < 0,001 (controle negativo vs. controle positivo/Sast-MeOH_R).

2 Investigação da atividade antiespasmódica ou espasmogênica do extrato Sast-MeOH_R em íleo isolado de cobaia

2.1 Efeito do extrato Sast-MeOH_R frente às contrações fásicas induzidas por carbacol ou por histamina

O extrato Sast-MeOH_R (3 – 750 µg/mL), antagonizou as contrações fásicas induzidas por 10⁻⁶ M de carbacol e de histamina em íleo isolado de cobaia (Gráfico 2, n = 5) de maneira significativa e dependente de concentração. Os valores de CI₅₀ para o extrato Sast-MeOH_R foi de 48,1 ± 8,7 µg/mL frente ao carbacol e 105,0 ± 16,2 µg/mL frente à histamina, sendo o Sast-MeOH_R 2 vezes mais potente em antagonizar as contrações fásicas induzidas por carbacol. O extrato Sast-MeOH_R apresentou um E_{máx} em torno de 90%. A responsividade do íleo aos agonistas contráteis testados foi restaurada 60 min após a retirada do extrato da cuba na concentração de 750 µg/mL.

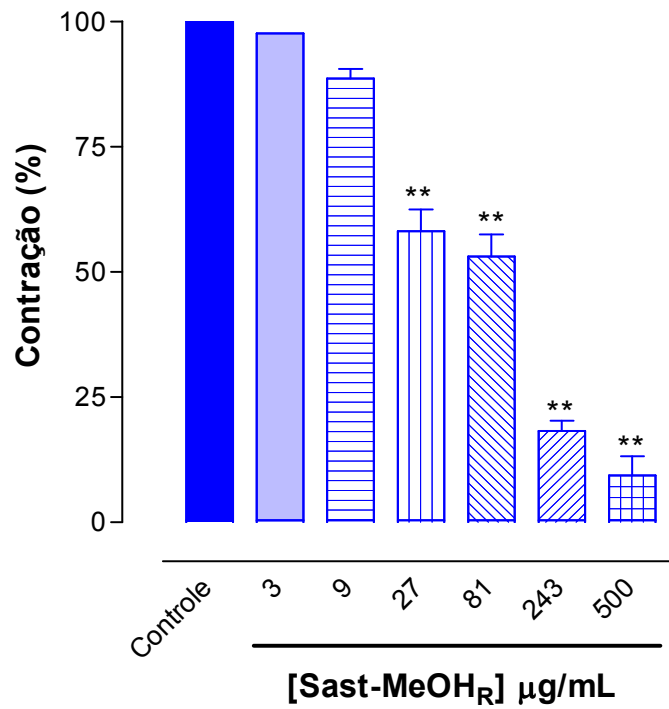
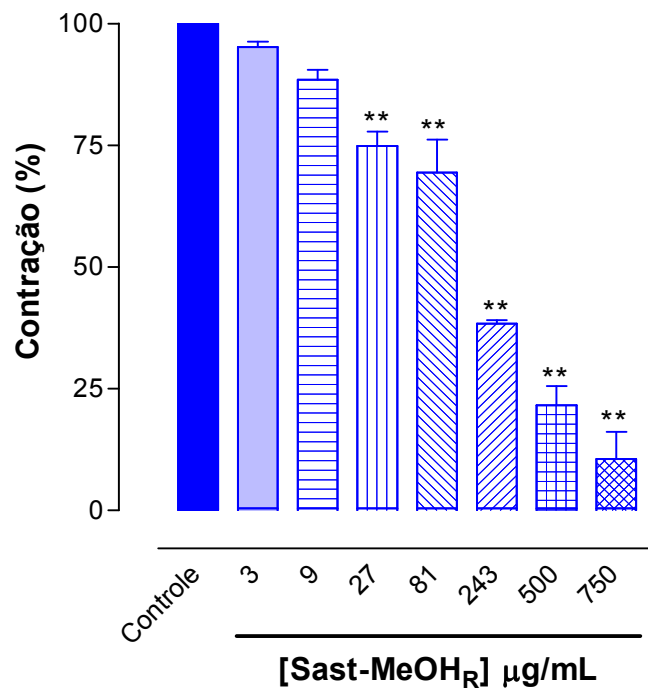
A**B**

Gráfico 2 – Efeito do extrato Sast-MeOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻⁶ M de carbacol (**A**) e de histamina (**B**) em íleo isolado de cobaia (n = 5). As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; ***p* < 0,001 (controle vs. Sast-MeOH_R).

2.2 Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH_R na ausência e na presença de atropina

Quando o extrato Sast-MeOH_R foi aplicado sobre o tônus basal para verificar o seu efeito inibitório sobre as contrações fásicas induzidas pelos agentes contráteis, foi observado que o mesmo apresentou um efeito espasmogênico ($n = 5$) de maneira dependente de concentração (1 - 750 $\mu\text{g/mL}$), apresentando uma CE_{50} de $137,1 \pm 2,8 \mu\text{g/mL}$ (Gráfico 3). A curva controle cumulativa ao extrato Sast-MeOH_R foi desviada para a direita de forma não paralela e com redução do E_{max} na presença de 10^{-6} ($CE_{50} = 158,3 \pm 48,5 \mu\text{g/mL}$) e 10^{-5} M ($CE_{50} = 227,3 \pm 24,8 \mu\text{g/mL}$) de atropina, um antagonista muscarínico não-seletivo (JAISWAL et al., 1991). Já na concentração de 3×10^{-5} M esta curva foi abolida.

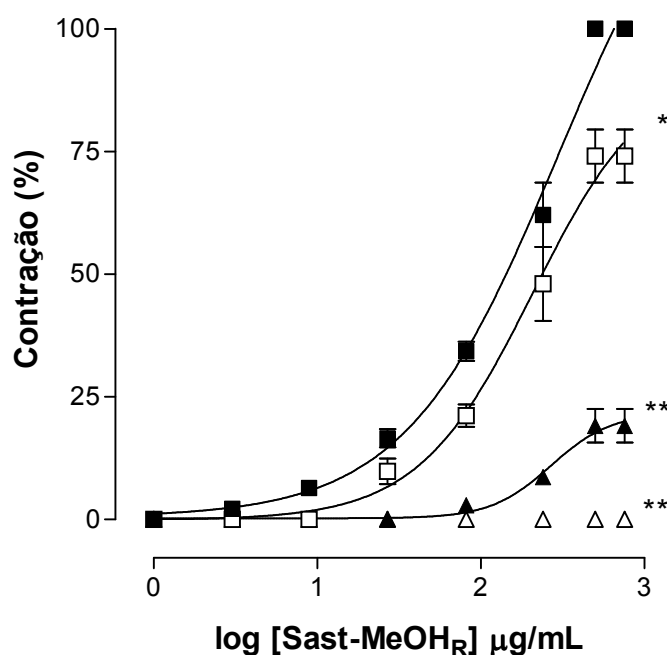


Gráfico 3 – Efeito espasmogênico do extrato Sast-MeOH_R na ausência (■) ($n = 5$) e na presença de atropina nas concentrações de 10^{-6} (□), 10^{-5} (▲) e 3×10^{-5} M (△) ($n = 3$) em íleo isolado de cobaia. ANOVA *one-way* seguido de Bonferroni, * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (controle vs. atropina).

3 Mecanismo de ação antiespasmódico do extrato Sast-MeOH_R em íleo isolado de cobaia

3.1 Caracterização do bloqueio da contração induzida por carbacol

O extrato Sast-MeOH_R (81, 243 e 500 µg/mL) inibiu de maneira dependente de concentração as contrações induzidas por concentrações crescentes de carbacol (Gráfico 4). As curvas cumulativas ao carbacol foram desviadas para a direita de forma não paralela e com redução do E_{max} de 100% (controle) para 82,7 ± 4,4; 56,5 ± 8,9 e 17,4 ± 3,1%, respectivamente. Os valores de CE₅₀ do carbacol passaram de 2,1 ± 0,7 x 10⁻⁶ M (controle) para 2,0 ± 0,4 x 10⁻⁶; 7,1 ± 3,3 x 10⁻⁶ e 9,1 ± 2,1 x 10⁻⁶ M, respectivamente.

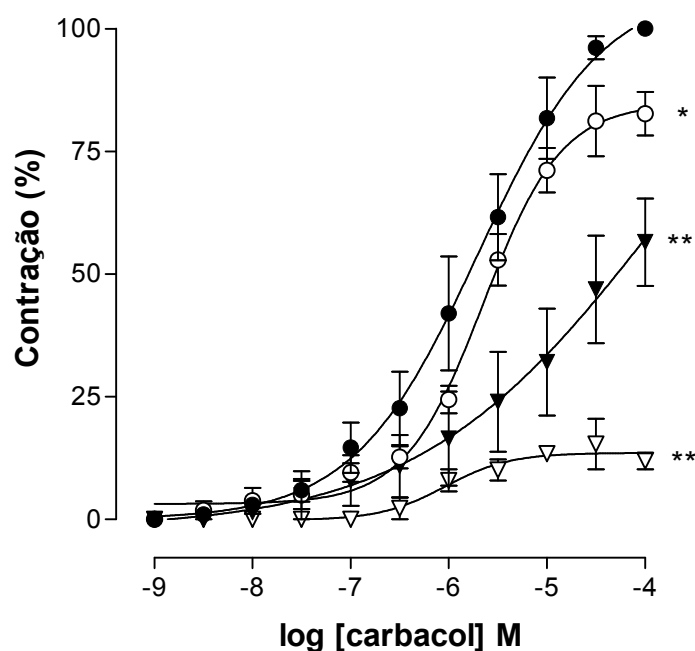


Gráfico 4 – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao carbacol na ausência (controle) (●) e na presença do extrato Sast-MeOH_R nas concentrações de 81 (○); 243 (▼) e 500 µg/mL (▽) em íleo isolado de cobaia (n = 3). Os símbolos e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one-way* seguido por Bonferroni, **p* < 0,05 e ***p* < 0,001 (controle vs. Sast-MeOH_R).

3.2 Efeito antiespasmódico do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por carbacol ou por histamina

Como mostra o Gráfico 5 e figura 3, o extrato Sast-MeOH_R nas concentrações de 0,1 a 500 µg/mL (n = 5) relaxou de maneira significativa e dependente de concentração, o íleo de cobaia pré-contraído com 40 mM de KCl ($CE_{50} = 52,9 \pm 11,5 \mu\text{g/mL}$) ou com 10^{-6} M de carbacol ($CE_{50} = 20,1 \pm 8,6 \mu\text{g/mL}$) ou de histamina ($CE_{50} = 79,0 \pm 15,0 \mu\text{g/mL}$), apresentando uma potência relaxante entre 2 e 4 vezes maior quando o órgão era pré-contraído por carbacol do que por KCl ou histamina.

Os valores de E_{max} foram atingidos na concentração de 500 µg/mL quando a contração era induzida por todos os agentes contráteis.

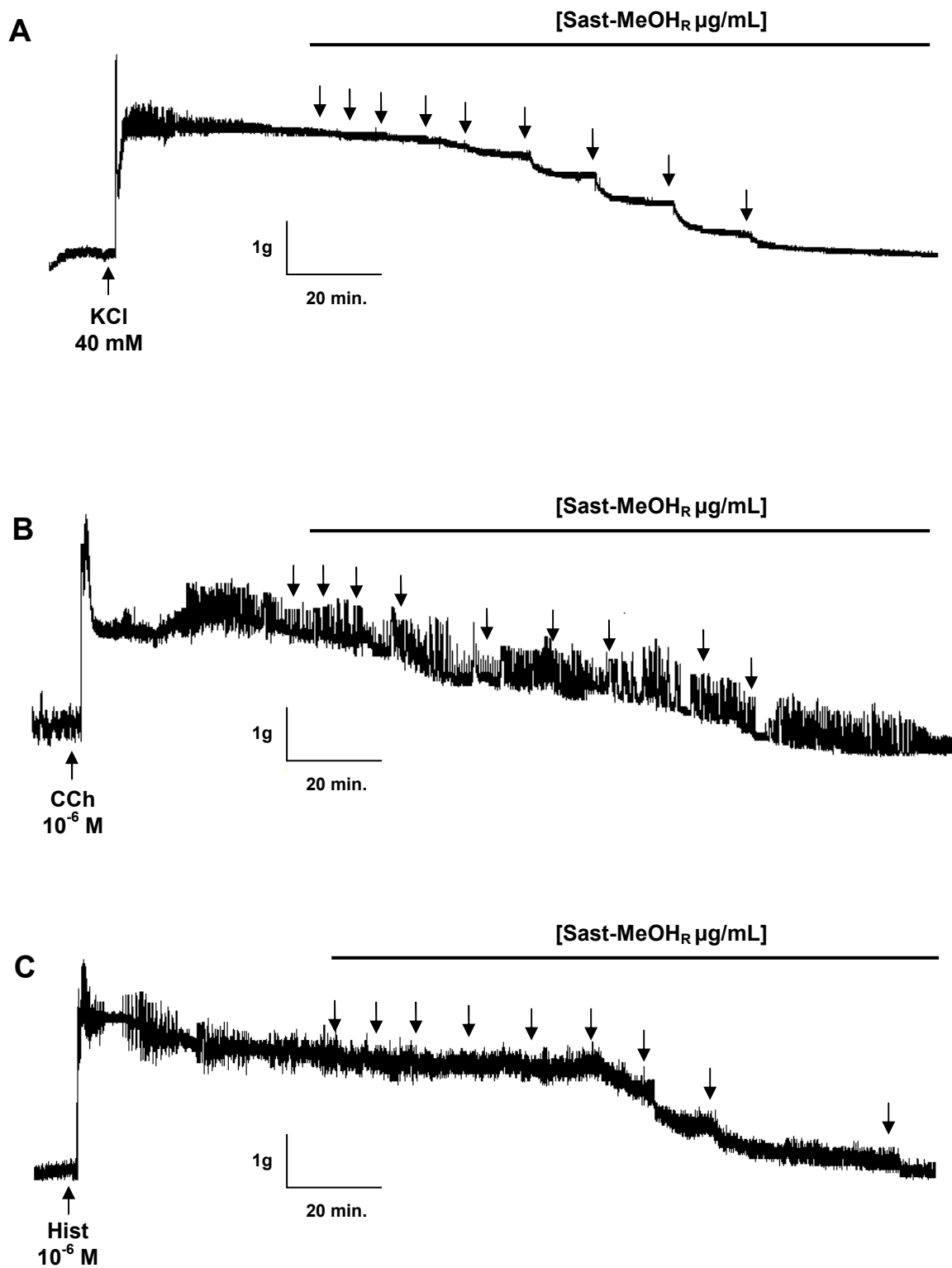


Figura 3 – Registros originais do efeito relaxante do extrato Sast-MeOHR sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (**A**), 10^{-6} M de carbacol (**B**) e 10^{-6} M de histamina (**C**) em íleo isolado de cobaia. As setas para baixo representam as concentrações cumulativas (0,1; 0,3; 1; 3; 9; 27; 81; 243 e 500 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) do extrato Sast-MeOHR.

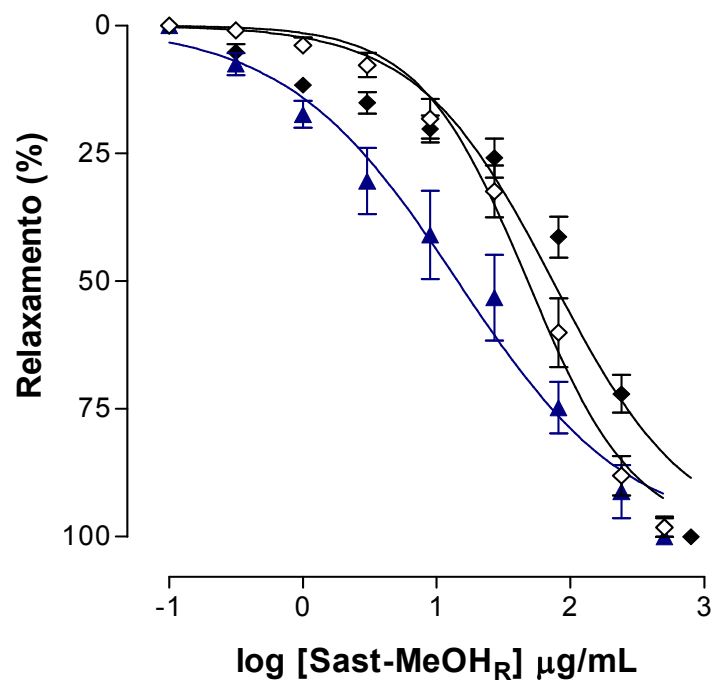


Gráfico 5 – Efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (◇) e 10⁻⁶ M de carbacol (▲) ou de histamina (◆) em íleo isolado de cobraia (n = 5). Os símbolos e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente.

3.3 Avaliação da participação dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_v)

3.3.1 Efeito do extrato Sast-MeOH_R frente às contrações induzidas por $CaCl_2$ em meio despolarizante nominalmente sem Ca^{2+}

Nas concentrações de 27 e 81 $\mu\text{g/mL}$, o extrato Sast-MeOH_R não inibiu de forma significativa as contrações induzidas pelo aumento na concentração extracelular de $CaCl_2$ em meio despolarizante (KCl 70 mM) nominalmente sem Ca^{2+} . Entretanto, nas concentrações de 500 e 750 $\mu\text{g/mL}$, as curvas cumulativas ao $CaCl_2$ foram desviadas para direita de forma não paralela e com inibição do E_{max} (Gráfico 6). Os valores de CE_{50} do $CaCl_2$ passaram de $1,1 \pm 0,3 \times 10^{-3}$ M para $4,0 \pm 3,0 \times 10^{-3}$; $7,5 \pm 4,3 \times 10^{-2}$ e $7,8 \pm 4,0 \times 10^{-2}$ M. Enquanto que os valores de E_{max} para as concentrações de 81, 500 e 750 $\mu\text{g/mL}$ foram $96,8 \pm 2,2$; $41,9 \pm 13,2$ e $35 \pm 8,2\%$, não apresentando diferença significativa entre as concentrações de 500 e 750 $\mu\text{g/mL}$ para estes valores.

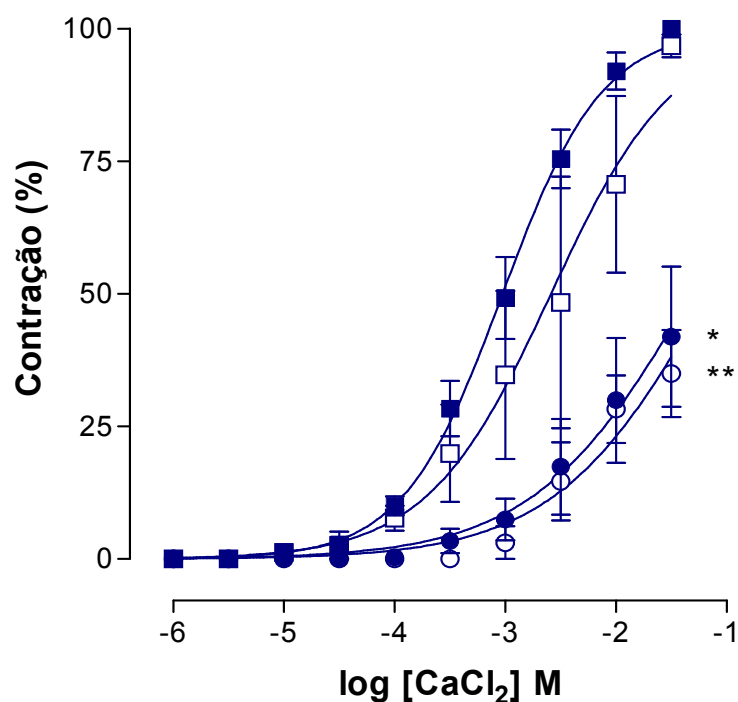


Gráfico 6 – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao CaCl_2 em meio despolarizante nominalmente sem Ca^{2+} na ausência (■) e na presença do extrato Sast-MeOHR nas concentrações de 81 (□), 500 (●) e 750 $\mu\text{g/mL}$ (○) em íleo isolado de cobaia ($n = 3$). Os símbolos e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one-way* seguido por Bonferroni; * $p < 0,05$ e ** $p < 0,001$ (controle vs. Sast-MeOHR).

3.4 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio

3.4.1 Efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)

O extrato Sast-MeOH_R (0,1 – 750 µg/mL) relaxou o íleo isolado de cobaia pré-contraído com carbacol na ausência ($CE_{50} = 20,1 \pm 8,6$ µg/mL) e na presença ($CE_{50} = 92,8 \pm 46,1$ µg/mL) de 5 mM de CsCl, um bloqueador não seletivo dos canais de potássio (LATORRE et al., 1989). A potência relaxante do extrato Sast-MeOH_R foi reduzida 4,5 vezes quando comparada ao relaxamento produzido pelo extrato Sast-MeOH_R na ausência de CsCl (Gráfico 7).

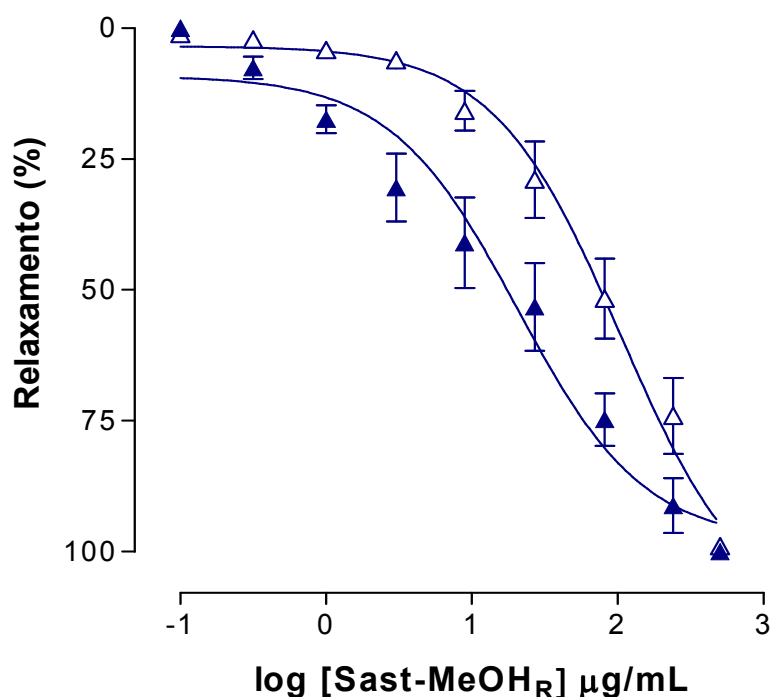


Gráfico 7 – Efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol na ausência (▲) e na presença (Δ) de 5 mM de CsCl, em íleo isolado de cobaia (n = 5). Os símbolos e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente.

4 Triagem farmacológica comportamental e determinação da DL₅₀ do extrato Sast-MeOH_R

Observando os parâmetros citados por Almeida et al. (1999), como por exemplo: hiperatividade, agressividade, tremores, convulsões, dentre outros, tanto os camundongos machos como as fêmeas não apresentaram alterações de comportamento após a administração do extrato Sast-MeOH_R nas doses utilizadas (2500 e 5000 mg/kg v.o. e 1000 e 2000 mg/kg i.p.) durante o tempo de observação de 3 horas. Esses resultados indicam que Sast-MeOH_R não apresentou sinais tóxicos nas condições avaliadas nem alterações no sistema nervoso central.

Foi observado também que não houve mortes de animais durante as 72 horas após a administração de Sast-MeOH_R, não sendo, portanto possível a determinação da DL₅₀.

5 Avaliação da atividade antidiarréica dos extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F

5.1 Diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos

No modelo de diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos, os resultados da administração oral de loperamida (10 mg/kg) e do extrato Sast-MeOH_R nas doses de 250, 500 e 750 mg/kg mostraram que houve inibição significativa e dependente da dose de $97,9 \pm 2,1$; $34,3 \pm 5,6$; $47,8 \pm 9,7$ e $70,1 \pm 6,3$, respectivamente, quando comparados ao controle negativo (solução salina 0,9% + cremofor[®]) em relação a frequência de defecação (Gráfico 8A). E em relação às fezes líquidas, tanto a loperamida (10 mg/kg) e como o extrato Sast-MeOH_R nas doses de 125, 250, 500, e 750 mg/kg apresentaram inibição significativa e dependente de dose de $100 \pm 0,01$; $43,6 \pm 4,4$; $58,0 \pm 8,5$; $80,6 \pm 12,6$ e $100 \pm 0,01$, respectivamente (Gráfico 8B).

Diferentemente, o extrato Sast-MeOH_F (Gráfico 9A) apresentou efeito inibitório significativo sobre a frequência de defecação apenas nas doses de 500 e 750 mg/kg ($48,7 \pm 7,4$ e $42,3 \pm 9,8\%$, respectivamente). Já em relação

a fezes líquidas, o extrato Sast-MeOH_F apresentou efeito inibitório nas doses de 250, 500 e 750 mg/kg, apresentando uma inibição significativa e dependente de dose de $32,9 \pm 10,1$; $80,6 \pm 11,1$ e $88,4 \pm 5,2\%$, respectivamente (Gráfico 9B).

Em relação à frequência de defecação, apenas Sast-MeOH_R produziu efeito inibitório dependente de dose, apresentando DE₅₀ de $309,6 \pm 28,5$ mg/kg. Entretanto, em relação a fezes líquidas, o extrato Sast-MeOH_R (DE₅₀ = $152,1 \pm 32,5$ mg/kg) foi mais potente que o Sast-MeOH_F (DE₅₀ = $268,4 \pm 35,2$ mg/kg) em inibir a diarreia.

Portanto, tanto Sast-MeOH_R quanto Sast-MeOH_F produziram um marcante efeito antidiarréico em camundongos neste modelo de indução, como pode ser observado pela redução da frequência de defecação e do número de fezes líquidas.

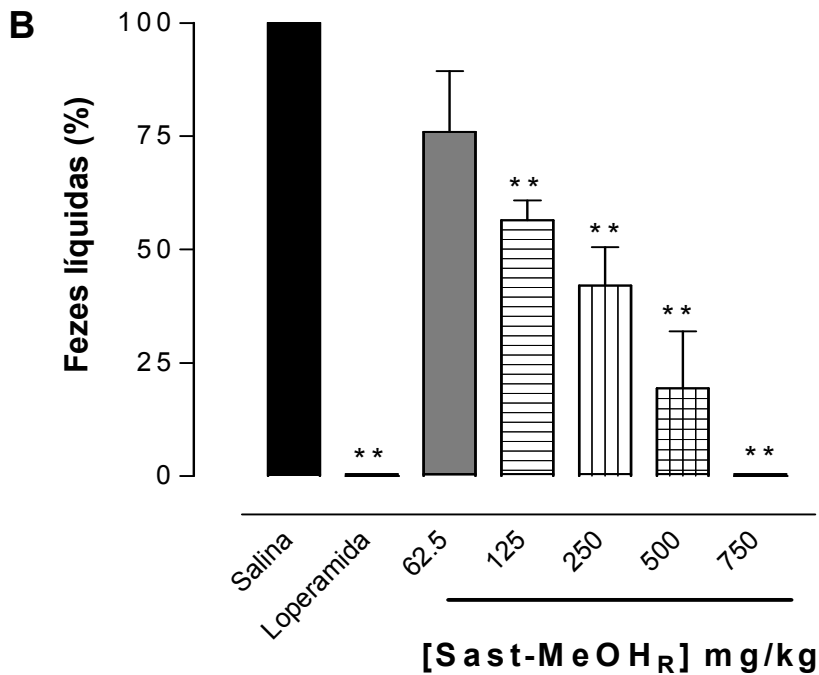
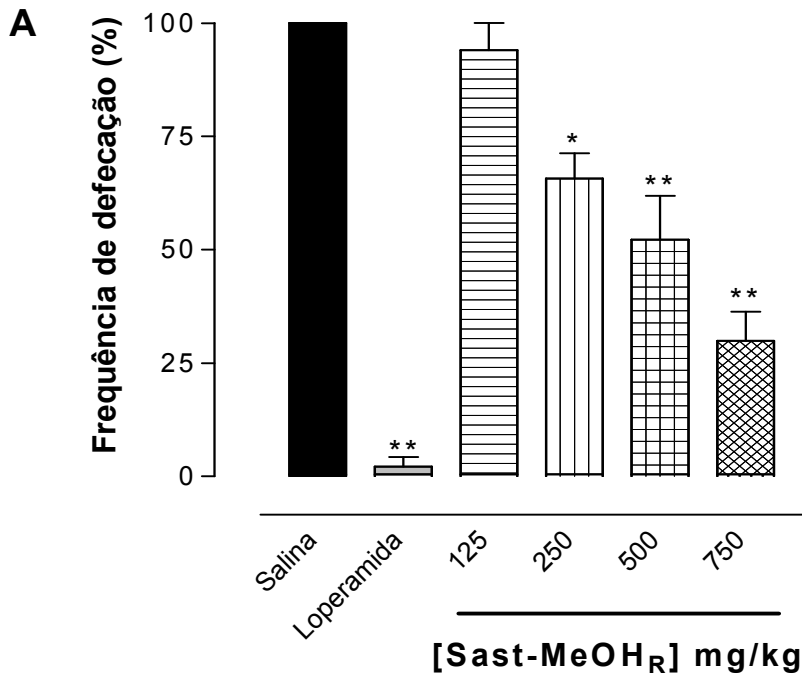


Gráfico 8 – Efeito antidiarréico do extrato Sast-MeOH_R no modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos (n = 6). **A:** Percentagem da frequência de defecação e **B:** Percentagem de fezes líquidas. As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; **p* < 0,05 e ***p* < 0,001 (Salina vs. Loperamida/Sast-MeOH_R).

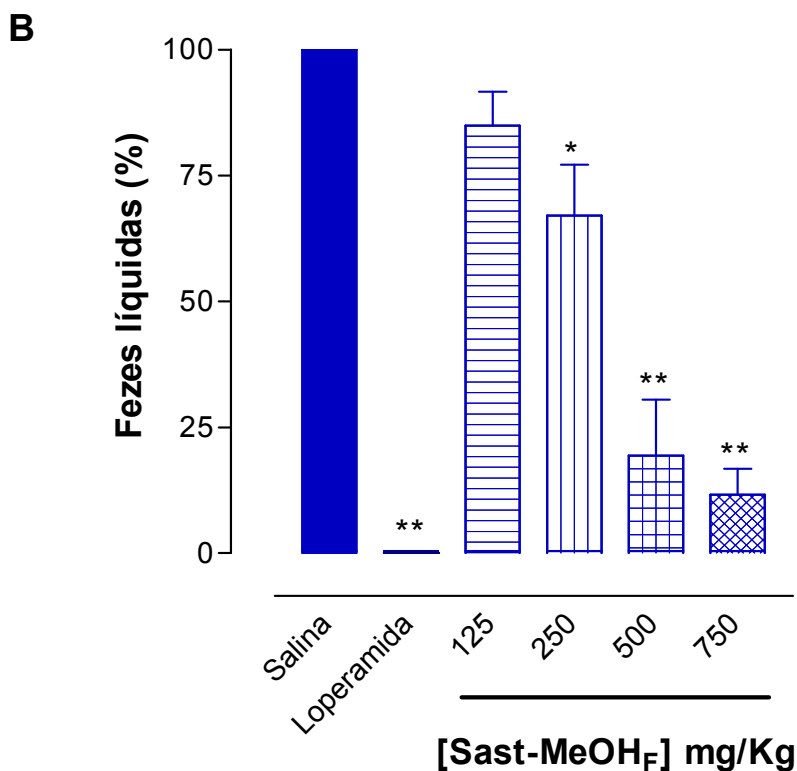
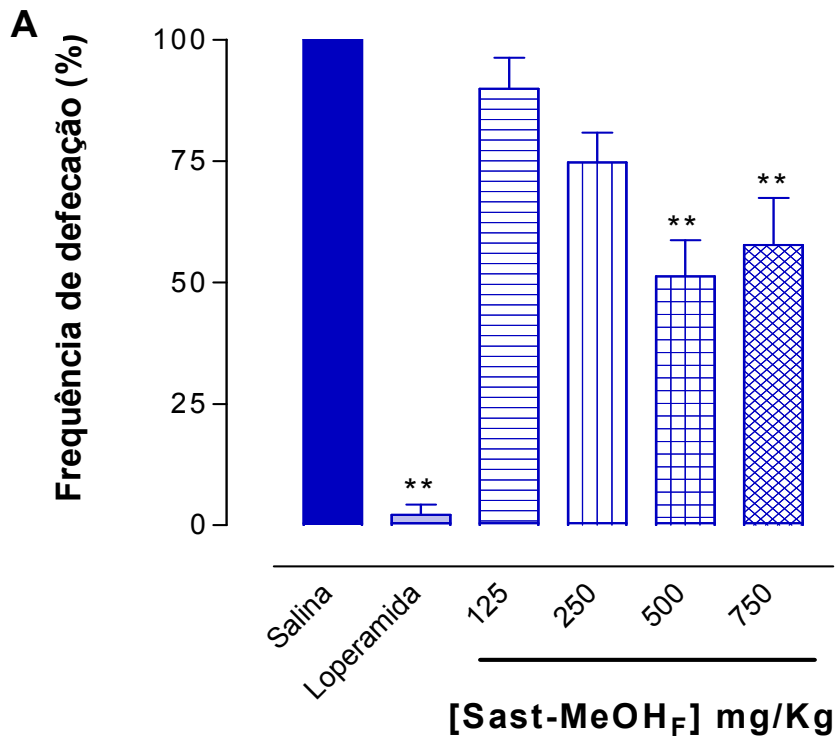


Gráfico 9 – Efeito antidiarréico do extrato Sast-MeOH_F no modelo de diarréia induzida por óleo de rícino em camundongos (n = 6). **A**: Percentagem da frequência de defecação e **B**: Percentagem de fezes líquidas. As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; **p* < 0,05 e ***p* < 0,001 (Salina vs. Loperamida/Sast-MeOH_F).

5.2 Trânsito intestinal normal em camundongos

No modelo de motilidade intestinal em camundongos, o resultado da administração oral de atropina (2 mg/kg) mostra que houve uma inibição significativa cerca de $32,7 \pm 3,6\%$ da distância percorrida pelo carvão ativado no intestino de camundongos, quando comparado ao controle negativo (solução salina 0,9% + cremofor[®]). Entretanto, tanto o extrato Sast-MeOH_R como o Sast-MeOH_F, nas doses de 125, 250 ou 500 mg/kg, não inibiram a distância percorrida pelo marcador (Gráfico 10).

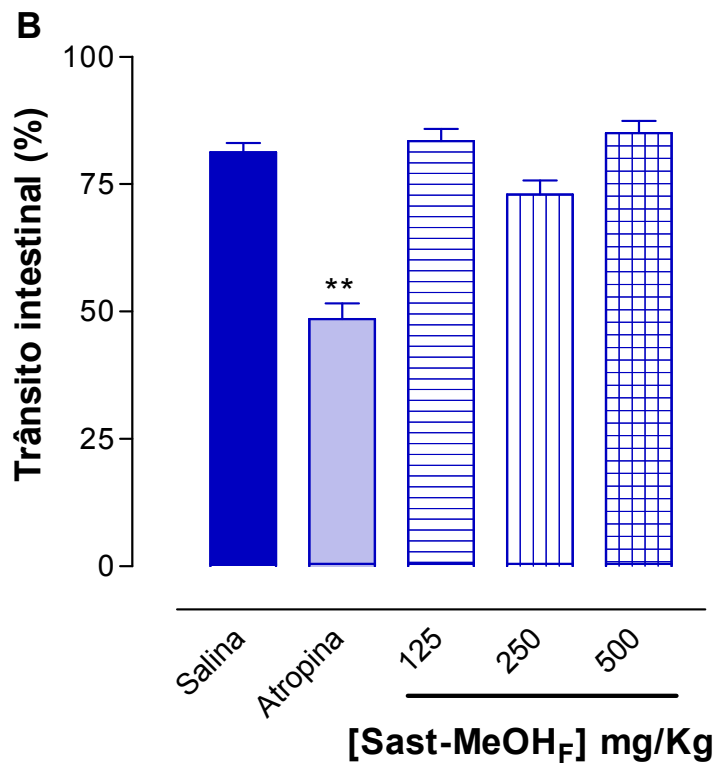
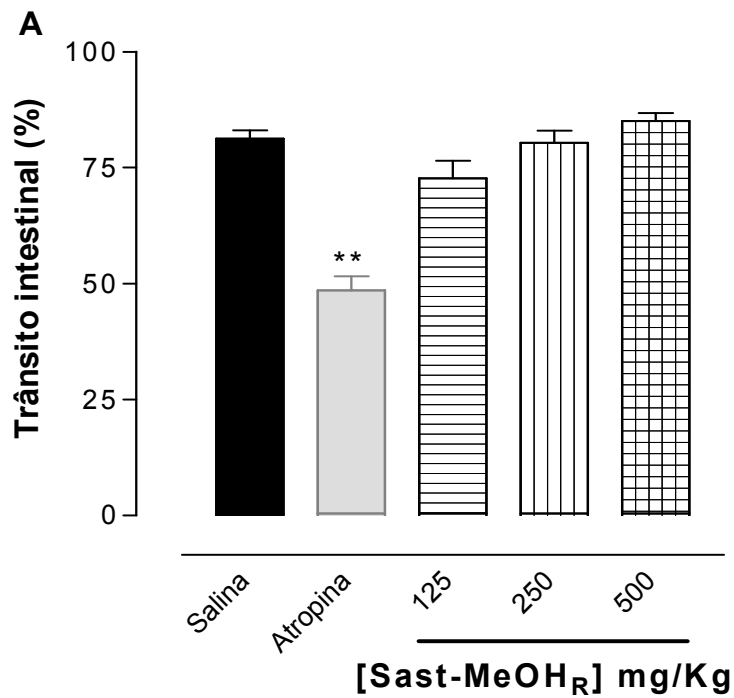


Gráfico 10 – Efeito dos extratos Sast-MeOH_R (**A**) e Sast-MeOH_F (**B**) sobre o trânsito intestinal de camundongos (n = 6). As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; ***p* < 0,001 (Salina vs. Atropina).

5.3 Acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos

Semelhante a loperamida ($69,2 \pm 1,5\%$), os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F inibiram, de maneira dependente da dose e significativa, o conteúdo de fluido intestinal induzido pelo óleo de rícino nas doses de 25, 50, 75, 100 ou 125 mg/kg, quando comparados ao controle negativo (solução salina 0,9% + cremofor[®]). No entanto, os valores de inibição foram de $21,6 \pm 7,5$; $30,4 \pm 4,9$; $42,2 \pm 2,4$; $60,8 \pm 3,0$ e $71,1 \pm 2,4\%$, respectivamente para o extrato Sast-MeOH_R e de $37,2 \pm 6,4$; $52,9 \pm 4,0$; $51,0 \pm 4,5$ e $59,3 \pm 2,5\%$, respectivamente, para Sast-MeOH_F, quando comparados ao controle negativo (Gráfico 11).

O extrato Sast-MeOH_R ($DE_{50} = 38,3 \pm 10,4$ mg/kg) foi cerca de duas vezes mais potente que o Sast-MeOH_F ($DE_{50} = 78,6 \pm 6,4$ mg/kg) em inibir o conteúdo de fluido intestinal.

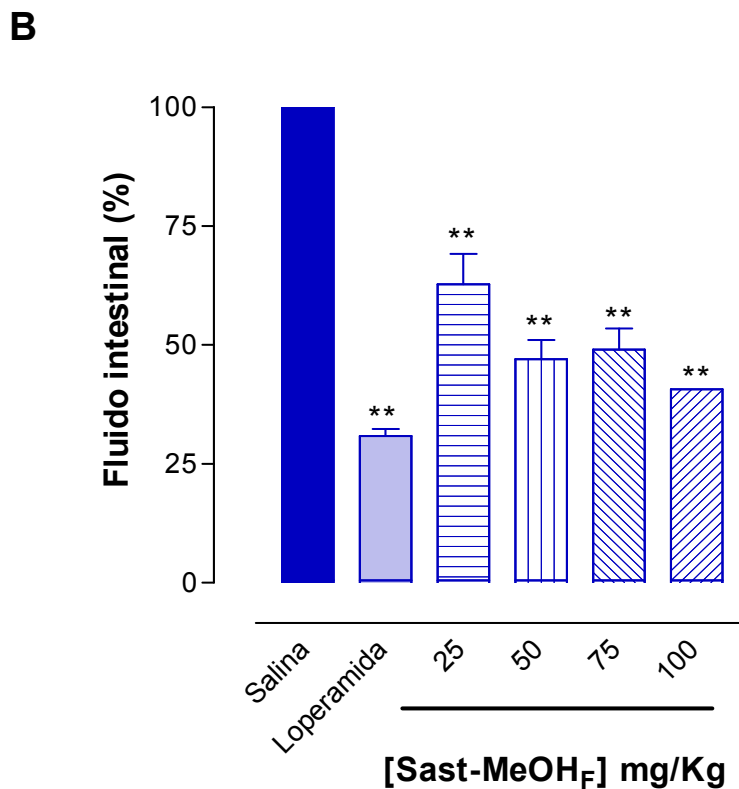
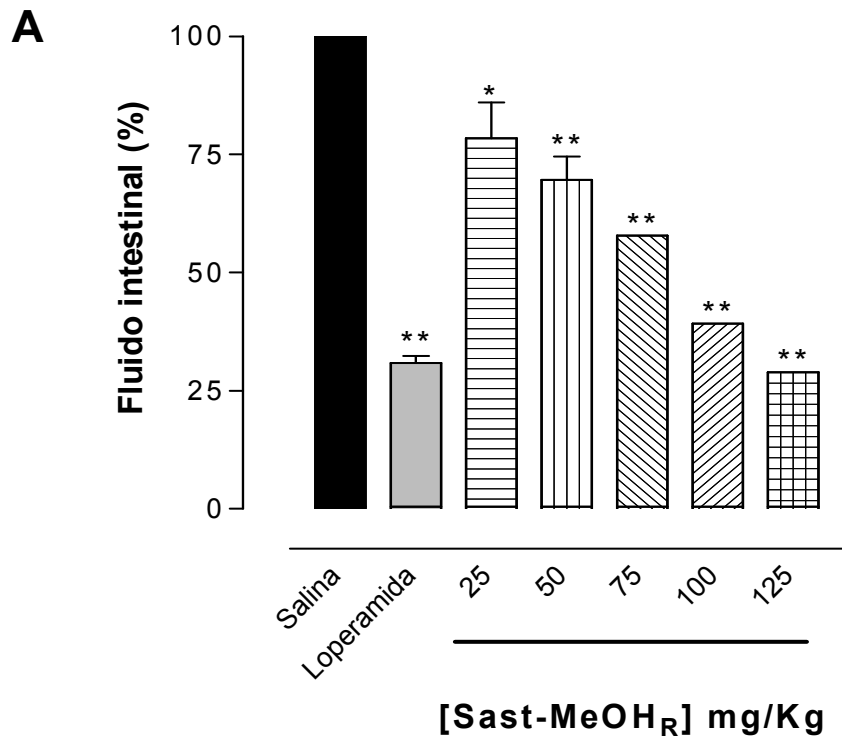


Gráfico 11 – Efeito dos extratos Sast-MeOH_R (A) e Sast-MeOH_F (B) no acúmulo de fluido intestinal induzido pelo óleo de rícino em camundongos (n = 6). As colunas e as barras verticais representam a percentagem da média e o e.p.m., respectivamente. ANOVA *one way* seguido por Bonferroni; **p* < 0,05 e ***p* < 0,001 (Salina vs. Loperamida/Sast-MeOH_R).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, foram investigados os efeitos citotóxicos em eritrócitos de ratos, a atividade antiespasmódica em íleo isolado de cobaia e uma possível toxicidade aguda do extrato metanólico bruto obtido das raízes (Sast-MeOH_R) de *Solanum asterophorum*. Além disso, foi investigada e comparada a atividade antidiarréica dos extratos metanólicos brutos obtidos das raízes (Sast-MeOH_R) e das folhas (Sast-MeOH_F) desta espécie em camundongos.

Demonstra-se, pela primeira vez, um efeito dual (espasmogênico e antiespasmódico) do extrato Sast-MeOH_R em íleo de cobaia, uma baixa atividade hemolítica apenas numa alta concentração (500 µg/mL) e ausência de toxicidade em camundongos quando administrado por via oral ou intraperitoneal, além dos extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F apresentarem uma marcante atividade antidiarréica.

Baseado na premissa de que Oliveira et al. (2006a) demonstraram que, em íleo de cobaia, o extrato obtido das folhas (Sast-MeOH_F) apresenta atividade antiespasmódica, em parte, por bloquear o influxo de Ca²⁺ através dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_v), somado ao fato de que várias espécies de *Solanum* apresentam atividade antiespasmódica (BOYD, 1928; BHAKUNI et al., 1969; ABRAHAM et al., 1986; SHUM; CHIU, 1991; MIR BABAYEV; GASANOV; KNIGHT, 1993; CAVALCANTE, 2001; CLAUDINO, 2003; SANTOS et al., 2003; SILVA, 2005; OLIVEIRA et al., 2006a; SANTOS, 2006; COSTA, 2006; CORREIA, 2007; GARCIA, 2007; SILVA, 2007), e que outras espécies também são utilizadas na medicina popular para o tratamento da diarréia (COUNE; DENOEL, 1975; MAIKERE-FANIYO et al., 1989; HEDBERG et al., 1983; CHHABRA et al., 1993; ABEBE, 1986) resolveu-se fazer uma monitoração comparativa das atividades antiespasmódica e antidiarréica entre as folhas e as raízes de *Solanum asterophorum*.

Visto que vários estudos apontam espécies de *Solanum* apresentando efeitos citotóxicos, por exemplo: *Solanum incanum* Chinese que possui atividade citotóxica em hepatócitos humanos (Hep3B) e em fibroblastos de pele normal (HSU et al., 1996; KUO et al., 2000), *Solanum rostratum* Dunal

e *Solanum americanum* Mill. por apresentarem atividade hemolítica em eritrócitos humanos (HARDMAN et al., 1983), e mais recentemente *Solanum asperum* Rich. e *Solanum agrarium* Sendtner por apresentarem atividade hemolítica moderada em eritrócitos de rato (LIMA et al., 2009; CORREIA et al., 2009), e pelo fato de que o extrato Sast-MeOH_F não apresentou atividade lítica em eritrócitos (OLIVEIRA, 2006), avaliou-se inicialmente o efeito citotóxico do extrato Sast-MeOH_R nas concentrações de 81, 243 e 500 µg/mL em eritrócitos de rato. Esse estudo preliminar permitiu uma escolha segura nas concentrações utilizadas nos protocolos experimentais realizados com o objetivo de investigar os seus possíveis efeitos antiespasmódicos.

O eritrócito é um tipo de célula que contém alta concentração de ácidos graxos polinsaturados, oxigênio molecular e íons ferro no estado ligado (NIKI et al., 1991). Por essa razão, é esperado que a sua membrana celular tenha uma alta vulnerabilidade a reações envolvendo radicais livres e seja muito susceptível a hemólise (BRANDÃO et al., 2005). Os eritrócitos fornecem um modelo simples para estudar efeito protetor ou tóxico de uma grande variedade de substâncias ou situações associadas com estresse oxidativo (LEXIS; FASSETT; COOMBES, 2006; EISELE et al., 2006). Para tanto, a investigação da atividade hemolítica constitui um modelo experimental usando células sanguíneas vermelhas como membranas alvo para compreender melhor o mecanismo ação de substâncias.

Com isso, foi observado que o extrato Sast-MeOH_R não induziu hemólise nas concentrações de 81 e 243 µg/mL. Entretanto, apresentou uma baixa atividade hemolítica apenas na concentração de 500 µg/mL (Gráfico 1), sugerindo que o extrato Sast-MeOH_R, provavelmente, apresente baixa ou nenhuma toxicidade quando testado *in vitro* em outras células ou tecidos.

O modelo do músculo liso intestinal é um meio importante para se investigar mecanismos de ação de substâncias que possam ser utilizadas em vários processos fisiopatológicos, como, diarréias e cólicas intestinais. Baseado no fato de que o extrato obtido das folhas de *Solanum asterophorum*, Sast-MeOH_F, apresentou efeito sobre o músculo liso intestinal (OLIVEIRA et al., 2006a), resolveu-se realizar inicialmente uma triagem farmacológica preliminar do extrato obtido das raízes (Sast-MeOH_R) em íleo de cobaia, visando comparar os efeitos antiespasmódicos apresentado pelos extratos

obtidos das raízes com os das folhas. Com base na análise dos resultados obtidos nessa triagem, observou-se que, diferente do extrato obtido das folhas, o extrato Sast-MeOH_R apresenta efeito dual, tanto espasmogênico quanto espasmolítico.

Semelhante ao que Oliveira et al. (2006a) observaram, o extrato Sast-MeOH_R antagonizou as contrações fásicas induzidas por carbacol (CI₅₀ = 48,1 ± 8,7 µg/mL) e por histamina (CI₅₀ = 105,0 ± 16,2 µg/mL) (Gráfico 2). Porém, o Sast-MeOH_R foi em torno de 2 vezes mais potente em antagonizar essas contrações quando comparado ao extrato obtido das folhas.

Interessantemente, quando o extrato Sast-MeOH_R foi aplicado sobre o tônus basal para verificar se o mesmo seria capaz de inibir as contrações induzidas pelos agentes contráteis, observou-se um efeito espasmogênico próprio. O mesmo efeito já havia sido observado com outras espécies de *Solanum*, como *Solanum melongena* (SHUM; CHIU, 1991; MANS et al., 2004), *Solanum xanthocarpum* Schrad. & Wendl (GUPTA; GUPTA, 1967; GUPTA et al., 1967) e *Solanum paraibanum* Agra (SILVA, 2007).

Como o extrato Sast-MeOH_R apresentou um perfil de contração (efeito espasmogênico) similar ao do carbacol, levantou-se a hipótese de que o mesmo estaria agindo via receptores muscarínicos colinérgicos para exercer seu efeito espasmogênico. Para tanto, avaliou-se o efeito contrátil desse extrato na presença de atropina, um antagonista muscarínico não seletivo (JAISWAL et al., 1991). Na presença de 10⁻⁶ (CE₅₀ = 158,3 ± 48,5 µg/mL) e de 10⁻⁵ M (CE₅₀ = 227,3 ± 24,8 µg/mL) de atropina, as contrações cumulativas induzidas pelo extrato Sast-MeOH_R foram significativamente desviadas para a direita e de forma não paralela com redução do E_{max}, sendo abolidas na presença de 3 x 10⁻⁵ M de atropina, sugerindo que o efeito espasmogênico induzido pelo extrato envolve um antagonismo não competitivo dos receptores muscarínicos (Gráfico 3).

Além disso, levantou-se a hipótese de que o extrato Sast-MeOH_R também estaria agindo bloqueando os receptores muscarínicos para promover sua atividade antiespasmódica, uma vez que apresentou uma maior potência em inibir as contrações fásicas induzidas por carbacol do que por histamina. Para verificar essa hipótese, decidiu-se caracterizar o antagonismo exercido pelo extrato Sast-MeOH_R frente às curvas concentrações-resposta cumulativas

induzidas pelo carbacol (CCh). Foi observado que na presença do Sast-MeOH_R houve um desvio das curvas cumulativas ao CCh para direita, de forma não paralela e com redução do E_{max} (Gráfico 4), sugerindo um antagonismo do tipo não-competitivo dos receptores muscarínicos e que o extrato Sast-MeOH_R pode estar agindo por um mecanismo de ação comum à via de sinalização dos agonistas testados anteriormente.

O íon cálcio (Ca²⁺) é responsável por desencadear uma variedade de processos celulares nos neurônios, músculos e muitas células não-excitáveis e tem como função mais importante a sinalização celular quando do aumento da [Ca²⁺]_i (BERRIDGE; DUPONT, 1995; BERRIDGE, 1997; BERRIDGE; BOOTMAN; LIPP, 1998, BERRIDGE; LIPP; BOOTMAN, 2000; SCHUSTER; MARHL; HÖFER, 2002). O Ca²⁺, um regulador celular universal (CAMPBELL, 1983), é um sinal primário responsável pela ativação da contração do músculo liso (NEERING; MORGAN, 1980; MORGAN; MORGAN, 1982). A universalidade do Ca²⁺ como um mensageiro intracelular depende de sua enorme versatilidade. Esta versatilidade é utilizada para diversos processos além da contração muscular, tais como fertilização, proliferação, aprendizagem e memória, apoptose, necrose e secreção (BERRIDGE; LIPP; BOOTMAN, 2000).

O músculo liso é o principal tipo de músculo que controla a maioria dos sistemas de órgãos ocos do corpo (WATTERSON; RATZ; SPIEGEL, 2005). A contração do músculo liso é disparada principalmente pelo aumento da concentração de Ca²⁺ intracelular ([Ca²⁺]_i), e pode ser alcançada tanto via despolarização de membrana, levando ao aumento da [Ca²⁺]_i e contração muscular, como pela ligação do agonista ao receptor, que pode ser independente do potencial de membrana (SOMLYO; SOMLYO, 2003), originalmente designados por acoplamentos eletromecânico e farmacomecânico (SOMLYO; SOMLYO, 1968). Agonistas como a serotonina, carbacol e histamina ligam-se a receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e ativam a cascata de fosfoinositídeos, usualmente através da produção de IP₃ mediada pela proteína G_q, estimulando, assim a liberação de Ca²⁺ do RS (FUKATA; AMANO; KAIBUCHI, 2001). Os agonistas contráteis podem também elevar a [Ca²⁺]_i através de receptores de rianodina e estimular a entrada de Ca²⁺ através dos múltiplos tipos de canais, incluindo canais de Ca²⁺ operados

por estoque, por receptor ou por voltagem (SANDERS, 2001; McFADZEAN; GIBSON, 2002).

Apesar da resposta inicial a um agonista em muitas células musculares depender da liberação de Ca^{2+} de estoques intracelulares (BERRIDGE; IRVINE; PUTNEY, 1984; BERRIDGE; IRVINE, 1989), geralmente precedida por uma diminuição rápida do conteúdo de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2) na membrana plasmática e por aumento da produção de IP_3 (ABDELLATIF; AKTAR; HAWTORNE, 1977; BERRIDGE; IRVINE, 1989), no músculo longitudinal de intestino o mecanismo é diferente. Em estudos realizados com este tecido, que é frequentemente utilizado como modelo de músculo liso visceral, foi demonstrado que a quantidade de IP_3 , gerado em resposta tanto à despolarização como ao carbacol, é relativamente pequena quando comparada ao músculo liso vascular (BEST; BOLTON, 1986; SALMON; BOLTON, 1988) e que a contração induzida por vários agonistas é dependente do influxo de Ca^{2+} proveniente de fontes extracelulares (BEST; BROOKS; BOLTON, 1985).

Em íleo de cobaia, vários agentes contráteis, como os agonistas muscarínicos (TRIGGLE et al., 1989) e o KCl (TRIGGLE; TRIGGLE, 1976; HURWITZ et al., 1980), causam uma resposta contrátil bifásica, consistindo em uma contração inicial transiente – componente fásico (< 30 s), seguido por uma contração sustentada – componente tônico, que se desenvolve lentamente ao longo de 15 minutos e é mantida durante o período de exposição ao agente contrátil (TRIGGLE; TRIGGLE, 1976; VAN BREEMEN; AARONSON; LOUTZENHISER, 1979; BOLTON, 1979; HURWITZ et al., 1980). Esta resposta bifásica é devido à fonte dual de Ca^{2+} no músculo liso. É sugerido que a contração fásica é causada por liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares mediados por IP_3 (ABDEL-LATIF, 1989; KOBAYASHI et al., 1989). Por outro lado, a contração tônica induzida por agonistas muscarínicos em íleo de cobaia é atribuída ao influxo de Ca^{2+} através dos canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_v), uma vez que a contração tônica é suprimida pelo bloqueador de Ca_v , verapamil (JIM et al., 1981).

Em músculo liso de íleo de cobaia, tanto a contração fásica como a tônica induzida por carbacol são dependes do Ca^{2+} extracelular, uma vez que ambas as contrações foram inibidas na ausência de Ca^{2+} extracelular (HONDA; TAKANO; KAMIYA, 1996). A remoção de íons Ca^{2+} do meio externo bloqueia

totalmente a resposta contrátil tanto a agentes despolarizantes como a agonistas em poucos segundos, sugerindo que as fontes intracelulares de Ca^{2+} não contribuem significativamente para o nível de tensão atingido (NOUAILHETAS et al., 1985). No entanto, a influência do Ca^{2+} extracelular é relativamente maior na resposta contrátil tônica comparado com a fásica (TRIGGLE et al., 1979).

Baseado no fato de que os mecanismos envolvidos na manutenção da fase tônica da contração são diferentes em relação aos da fase fásica em íleo isolado (ABDELLATIF, 1989; KOBAYASHI et al., 1989; HONDA; TAKANO; KAMIYA, 1996), resolveu-se verificar se, assim como o extrato obtido das folhas (OLIVEIRA et al., 2006a), o extrato Sast-MeOH_R também promoveria o relaxamento do íleo pré-contraído com KCl, carbacol e histamina.

Como o íleo é um órgão totalmente dependente de variação do potencial de membrana (NOUAILHETAS et al., 1985) e como o componente tônico da contração induzida por agonistas de acoplamento misto (UNNO; KOMORI; OHASHI, 1995; BOLTON et al., 1981) ou por um agente despolarizante (KCl) é mantido quase que exclusivamente por influxo de cálcio através dos Ca_V (BOLTON, 1979; REMBOLD, 1996; BOLTON et al., 2006), levantou-se a hipótese de que o extrato Sast-MeOH_R poderia estar agindo por bloqueio do influxo de Ca^{2+} através dos Ca_V .

Para verificar esta hipótese, avaliou-se o efeito do extrato Sast-MeOH_R sobre o componente tônico da contração induzida por KCl (acoplamento eletromecânico) ou por carbacol ou por histamina, que agem por acoplamento misto (BOLTON et al., 1981) em íleo de cobaia. Como mostra o gráfico 5, o extrato Sast-MeOH_R induziu relaxamento do íleo pré-contraído com todos os agentes contráteis utilizados, sendo mais potente em relaxar o íleo pré-contraído com carbacol do que com KCl e histamina. Provavelmente, essa maior potência se deva a presença de um número maior de receptores muscarínicos (CAUFIELD, 1993).

Como em íleo de cobaia, o extrato Sast-MeOH_R inibiu as contrações tônicas induzidas pelos agentes contráteis utilizados, pode-se sugerir que, em nível funcional, o extrato Sast-MeOH_R pode estar inibindo o influxo de Ca^{2+} através dos Ca_V para produzir efeito espasmolítico não seletivo em íleo de cobaia, uma vez que, a manutenção da contração tônica é

majoritariamente sustentada pelo influxo de Ca^{2+} através dos Ca_v (JIM et al., 1981).

Esta hipótese foi confirmada pela observação de que em meio despolarizado nominalmente sem Ca^{2+} as curvas cumulativas ao CaCl_2 na presença do extrato Sast-MeOH_R foram deslocadas para direita de forma não paralela e com redução significativa do E_{max} (Gráfico 6). Entretanto, como, mesmo na presença do extrato (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$), houve um nível de aproximadamente 60% de contração em relação ao controle, sugere-se que o bloqueio do influxo de cálcio através dos Ca_v não é o principal mecanismo de ação relaxante do extrato Sast-MeOH_R em íleo de cobaia, devendo haver outros mecanismos envolvidos.

O movimento dos íons K^+ através de canais localizados na membrana regulam o influxo de Ca^{2+} através dos Ca_v (THORNELOE; NELSON, 2005), dessa forma, criou-se a hipótese de que o extrato Sast-MeOH_R poderia estar ativando os canais de K^+ e bloqueando, assim, indiretamente os canais Ca_v .

Os canais de potássio desempenham um papel chave na regulação do potencial de membrana e na excitabilidade celular, sendo a contração do músculo liso dependente do balanço entre o aumento da condutância ao íon K^+ , levando a uma hiperpolarização/repolarização, e a diminuição da condutância ao K^+ , levando a uma despolarização (KNOT; BRAYDEN; NELSON, 1996). Eles estão envolvidos em várias funções fisiológicas, tais como, potencial de membrana celular e secreção de hormônios e de neurotransmissores. Sua atividade pode ser regulada por voltagem, Ca^{2+} ou por neurotransmissores e conseqüentemente as vias de sinalização que eles estimulam (ALEXANDER; MATHIE; PETERS, 2007).

Os ativadores de canais de K^+ são substâncias que incluem um grupo de diversas moléculas com um largo potencial terapêutico (QUEST, 1992; EMPFIELD; RUSSELL; TRAINOR, 1995). Estes compostos abrem os canais de K^+ , causando hiperpolarização de membrana através do aumento do efluxo de K^+ , desta forma causando diminuição da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ e conseqüente relaxamento do músculo liso (QUEST; COOK, 1989; WESTON; EDWARDS, 1992).

A associação entre o aumento da atividade dos canais de K^+ e o relaxamento do músculo liso vem sendo estudada em vários tecidos e com diversos canais de K^+ . Alguns autores apresentam evidências da participação de vários canais de K^+ na regulação do músculo liso, como por exemplo: K_v em íleo de cobaia (LIMA, 2004; CAVALCANTE, 2008) e aorta de rato (RIBEIRO et al., 2007a); BK_{Ca} em íleo de cobaia (SILVA; NOUAILHETAS; ABOULAFIA, 1999; CAVALCANTE, 2001; CAVALCANTE, 2008; LIMA, 2008), músculo longitudinal de íleo de cobaia (UYAMA; IMAIZUMI; WATANABE, 1993), traquéia de cobaia (HIRAMATSU et al., 1994, RIBEIRO et al., 2007b), artéria mesentérica de rato (OLIVEIRA et al., 2004), traquéia de cão (WADE; SIMS, 1993), traquéia de porco (KUME et al., 1994; KANNAN; JOHNSON, 1995; YAMAKAGE; HIRSHMAN; CROXTON, 1996), útero de rata (LIMA, 2008, TRAVASSOS et al., 2009), aorta de coelho (DEMIREL et al., 1994), artérias submucosas e mesentéricas de cobaia (HILL et al., 1997) e no miométrio humano (ANWER et al., 1993, MEERA et al., 1995). SK_{Ca} em íleo de cobaia (CAVALCANTE, 2008, MACÊDO, 2008), útero de rata (SILVA; OKUYAMA; PAIVA, 1996) e em aorta de rato (SILVA et al., 1994); K_{ATP} em íleo de cobaia (CAVALCANTE, 2008, MACÊDO, 2008), traquéia de cobaia (SHIKADA; TANAKA, 1995), músculo longitudinal de íleo de rato (DAVIES; McCURRIE; WOOD, 1996) e de cobaia (SUN; BENISHIN, 1994) em uretra de cobaia (TERAMOTO; BRADING; ITO, 1999) e em traquéia de gato (TERAMOTO; NAKASHIMA; ITO, 2000).

No presente estudo, foi investigada a participação dos canais de K^+ no efeito relaxante do extrato Sast-MeOH_R em íleo de cobaia, utilizando como ferramenta farmacológica um bloqueador não seletivo de canais de K^+ , o CsCl (LATORRE et al., 1989). O fato da curva de relaxamento deste extrato ter sido deslocada para direita na presença de CsCl, é sugestivo de que haja a participação da abertura de canais de K^+ no mecanismo de ação antiespasmódica do Sast-MeOH_R em íleo de cobaia (Gráfico 7).

Como várias espécies de *Solanum* são utilizadas no tratamento de diarreias e os extratos das folhas e das raízes de *Solanum asterophorum* Mart. apresentam atividade antiespasmódica, criou-se a seguinte hipótese, será que estes extratos podem realmente apresentar metabólitos com atividade antidiarréica?

Uma das classes de metabólitos especiais mais frequentes em espécies do gênero *Solanum* é a dos alcalóides, sendo solasonina e solamargina, os dois alcalóides esteroidais encontrados em mais de 100 espécies de *Solanum* (BLANKEMEYER et al., 1998; MESIA-VELA et al., 2002). Aos alcalóides são atribuídas propriedades tóxicas (JADHAY; SHARMA; SALUNKHE, 1981; BLANKEMEYER et al., 1998). Devido ao grande interesse em compostos produzidos por plantas da família Solanaceae na medicina tradicional, diversos estudos buscando avaliar a atividade toxicológica em espécies de *Solanum* têm sido realizadas (SHAKUNDA; CHESTER, 1976; MARUO; BERNARDI; SPINOSA, 2003, HEO; LIM, 2005).

Oliveira (2006) demonstrou que o extrato Sast-MeOH_F não produziu alterações comportamentais e nem induziu mortes em camundongos na avaliação da toxicidade aguda. Como este é um trabalho pioneiro em relação às raízes de *S. asterophorum*, passou-se a avaliar o potencial toxicológico agudo do extrato Sast-MeOH_R e realizar uma monitoração farmacológica em modelos experimentais *in vivo*. A administração oral do extrato Sast-MeOH_R nas doses de 2500 e 5000 mg/kg via oral e 1000 e 2000 mg/kg intraperitoneal em camundongos Swiss de ambos os sexos, não produziu alterações comportamentais características de toxicidade como a sedação, agressividade, micção, diarreia, convulsão, perda do reflexo corneal e auricular, piloereção, contorções abdominais, dentre outras, nem tampouco induziu morte em camundongos. Com isso, não foi possível calcular a DL₅₀ para o extrato testado.

O fato dos extratos obtidos das raízes e das folhas serem destituídos de toxicidade sistêmica nos permitiu uma escolha segura das doses utilizadas nos protocolos experimentais realizados com o objetivo de investigar o efeito antidiarréico dos extratos desta espécie.

A diarreia resulta do rápido deslocamento do bolo fecal pelo intestino grosso (GUYTON; HALL, 1998). Para restaurar este processo, muitos pacientes necessitam de terapia antidiarréica, que objetiva aumentar a resistência ao fluxo e aumentar a absorção mucosal e diminuir a secreção (AKINDELE; ADEYEMI, 2006).

Para determinar o efeito antidiarréico dos extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F, foi utilizado o teste com óleo de rícino, que é amplamente

empregado para a triagem de drogas com esta propriedade. Uma das vantagens deste modelo é a grande reprodutibilidade de evacuação de fezes não formadas uma hora após a administração do laxante (BORRELLI et al., 2006).

Os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F foram capazes de inibir a diarreia neste modelo tanto em relação à frequência de defecação quanto ao número de fezes líquidas (Gráficos 8 e 9), sugerindo que os dois extratos apresentam princípios ativos com atividade antidiarréica. No entanto, o extrato obtido das raízes apresentou um efeito antidiarréico mais potente do que as folhas, sugerindo que os princípios ativos antidiarréicos estejam mais presentes nas raízes do que nas folhas. E essa inibição pode ser por uma alteração na motilidade intestinal inibindo o trânsito ou pelo aumento da absorção de água e eletrólitos no trato gastrointestinal (TGI), uma vez que diminuiu os números de bolos fecais líquidos.

Clinicamente a diarreia é uma consequência dos distúrbios da função intestinal na qual há uma secreção intestinal excessiva, absorção intestinal prejudicada e/ou rápido trânsito (MENEZES et al., 1994). Portanto, o efeito antidiarréico dos extratos, Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F, foi estudado nos modelos experimentais de diarreia induzida por óleo de rícino, de trânsito intestinal e de acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos.

É relatado na literatura que drogas que inibem o trânsito intestinal em estados fisiopatológicos podem ser eficazes no alívio da diarreia (BORRELLI, 2006). O marcador à base de carvão ativado utilizado no modelo de trânsito gastrointestinal tem sido usado por mais de 60 anos como uma ferramenta simples para avaliação do efeito de laxativos (GAGINELLA et al., 1994). Este método é um indicador da distância máxima percorrida pelo marcador e consiste na administração deste marcador (carvão ativado) e na avaliação do trajeto do mesmo no intestino delgado durante um período de tempo (GURGEL, 2000).

Curiosamente, os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F não apresentaram efeito inibitório sobre a propulsão intestinal, sendo incapazes de inibir a distância percorrida pelo marcador (Gráfico 10), sugerindo assim que o

mecanismo de ação antidiarréico tanto do Sast-MeOH_R como do Sast-MeOH_F não envolve mudanças na motilidade intestinal.

Apesar de, usualmente, achar-se que o intestino delgado tem apenas a função absorptiva, ele também tem a capacidade de secretar água e eletrólitos. Esta capacidade secretória excessiva é demonstrada de forma evidente através da administração de grande quantidade de óleo de rícino, sendo este um distúrbio ocorrido na diarreia (GURGEL, 2000).

Com isso, avaliou-se o efeito dos extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F no modelo de acúmulo de fluido intestinal induzido por óleo de rícino em camundongos, onde após a administração do óleo, avalia-se a quantidade de fluido em relação ao controle.

Tanto o extrato Sast-MeOH_R como Sast-MeOH_F apresentaram efeito inibitório sobre o acúmulo de fluido intestinal (Gráfico 11), sugerindo que o mecanismo de ação antidiarréico de ambos os extratos envolve alterações na secreção intestinal. Sendo o extrato obtido das raízes duas vezes mais potente que o extrato obtido das folhas, reforçando a idéia de que os princípios ativos antidiarréicos estejam mais presentes nas raízes do que nas folhas.

Assim, demonstra-se neste trabalho que o extrato Sast-MeOH_R apresenta baixo efeito hemolítico apenas em alta concentração e induz efeito antiespasmódico em íleo de cobaia, que parece ser devido à ativação de canais de K⁺, o que indiretamente bloquearia o influxo de Ca²⁺ através dos canais Ca_V. Além disso, demonstra-se que os extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F apresentam atividade antidiarréica através de alterações na secreção e não na motilidade intestinal.

Os resultados mais importantes desse estudo são as demonstrações, pela primeira vez, das atividades antidiarréica da espécie *Solanum asterophorum* Mart., o que seguramente trará uma grande contribuição para a farmacologia desta espécie, além do fato do extrato obtido das raízes ser mais potente que o das folhas tanto em relação a atividade antiespasmódica como antidiarréica.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, A. A.; AKTAR, R. A.; HAWTORNE, J. N. Acetylcholine increases the breakdown of triphosphoinositide of rabbit iris muscle prelabeled with [³²P]phosphate. **Biochemical Journal**, v. 162, p. 61-73, 1977.

ABDEL-LATIF, A. A. Calcium mobilizing receptors, polyphospholinositides, generation of second messengers and contraction in mammalian smooth muscle: historical perspectives and current status. **Life Science**, v. 45, p. 757-86, 1989.

ABEBE, W. A survey of prescriptions used in traditional medicine in Gondar region, northwestern Ethiopia: general pharmaceutical practice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 18(2), p. 147-165, 1986.

ABRAHAM, Z.; BHAKUNI, S. D. GARG, H. S.; GOEL, A. K.; MEHROTRA, B. N.; PATNAIK, G. K. Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 24, p. 48-68, 1986.

AGRA, M.F.; BHATTACHARYYA, J. Ethnomedicinal and phytochemical investigation on the *Solanum* species in the Northeast of Brazil. In: NEE, M.; SYMON, D.E.; LESTER, R.N.; JESSOP, J.P. (Editors). *Solanaceae IV*, **Royal Botanic Gardens**, Kew, p. 341-343, 1999.

AGRA, M. F. A new species of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* (Solanaceae) from Chapada da Diamantina, Bahia, Brazil. **Novon**, v. 9(3), p. 292-295, 1999.

AKINDELE, A. J.; ADEYEMI, O. O. Evaluation of the antidiarrhoeal activity of *Byrsocarpus coccineus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 20-25, 2006.

ALEXANDER, S. P. H.; MATHIE, A.; PETERS, J. A. Guide to Receptors and Channels (GRAC), 2nd edition (2007 Revision). **British Journal of Pharmacology**, v. 150 (Suppl. 1), p. S160 – S168, 2007.

ALMEIDA, C. E.; KARNIKOWSKI, M. G. O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Revista de Saúde pública**, v. 29(6), p. 428-33, 1995.

ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANAS-JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.80, p.72-76, 1999.

ANWER, K.; OBERTI, C.; PEREZ, G.J.; PEREZ-REYES, N.; McDOUGALL, J.K.; MONGA, M.; SANBORN, B.M.; STEFANI, E.; TORO, L. Calcium-activated K⁺ channels as modulators of human myometrial contractile activity. **American Journal of Physiology**, v. 265, n. 4, p. C976-C985, 1993.

BERRIDGE, M. J.; BOOTMAN, M. D.; LIPP, P. Calcium – a life and death signal. **Nature**, v. 395, p. 645 – 648, 1998.

BERRIDGE, M. J.; IRVINE, R. F. Inositol phosphates and cell signalling. **Nature**, v. 341, p. 197-205, 1989.

BERRIDGE, M. J.; IRVINE, R. F.; PUTNEY, J. W. Jr. The second messenger linking receptor activation to internal Ca^{2+} release in liver. **Nature**, v. 309, p. 63-66, 1984.

BERRIDGE, M. J.; LIPP, P.; BOOTMAN, M. D. The versatility and universality of calcium signaling. **Nature Reviews**; v. 1, p. 11-21, 2000.

BERRIDGE, M. J. Elementary and global aspects of calcium signalling. **The Journal of Physiology**, v. 499, p. 291 – 306, 1997.

BEST, L.; BROOKS, K. J.; BOLTON, T. B. Relationship between stimulated inositol lipid hydrolysis and contractility in guinea-pig visceral longitudinal smooth muscle. **Biochemical Pharmacology**, v. 34, p. 2297-2301, 1985.

BEST, L.; BOLTON, T. B. Depolarization of guinea-pig visceral smooth muscle causes hydrolysis of inositol phospholipids. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 53, p. 78-82, 1986.

BHAKUNI, O. S.; DHAR, M. L.; DHAR, M. M.; DHAWAN, B. N.; MEHROTRA, B. N. – Screening of Indian plants for biological activity. Part II. **Indian Journal Biology**, v. 7, p. 250-262. 1969.

BLANKEMEYER, J. T.; MCWILLIAMS, M. L.; RAYBURN, J. R.; WEISSENBERG, M.; FRIEDMAN, M. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 383–389, 1998.

BOHS, L. Major clades in *Solanum* based on *ndhF* sequences. In Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden (R.C. Keating; V.C. Hollowell & T.B. Croat, eds.). A festschrift for William G. D'Arcy: the legacy of a taxonomist. St. Louis, **Missouri Botanical Garden Press**, v. 104, p. 27-49, 2005.

BOLTON, T. B. Mechanism of action of transmitters and other substances on smooth-muscle. **Physiological Reviews**, v. 59, n. 3, p. 606-718, 1979.

BOLTON, T. B.; CLARK, J. P.; KITAMURA, K.; LANG, R. J. Evidence that histamine and carbachol may open the same ion channels in longitudinal smooth muscle of guinea-pig ileum. **The Journal of Physiology**, v. 320, p. 363-379, 1981.

BOLTON, T. B. Calcium events in smooth muscles and their interstitial cells; physiological roles of sparks. **The Journal of Physiology**, v. 570, p. 5-11, 2006.

BORRELLI, F.; CAPASSO, F.; CAPASSO, R.; ASCIONE, V.; AVIELLO, G.; LONGO, L.; IZZO, A. A. Effect of *Boswellia serrata* on intestinal motility in rodents: inhibition of diarrhoea without constipation. **British Journal of Pharmacology**, v. 148, p. 553-560, 2006.

BOYD, L. J. Pharmacology of the homeopathic drugs. **Journal American Institute of Homeopathy**, v. 21, p. 209, 1928.

BRANDÃO, R.; LARA, F. S.; PAGLIOSA, L. B.; SOARES, F. A.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W.; FARINA, M. Hemolytic effects of sodium selenite and mercuric chloride in human blood. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 28, p. 397–407, 2005.

CAUFIELD, M. P. Muscarinic receptors - characterization, coupling and function. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 58(3), p. 319-79, 1993.

CAVALCANTE, F. A. Mecanismo de ação espasmolítica de solavetivona, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* Agra & Nee (SOLANACEAE). 2001. **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

CAVALCANTE, F. A. Investigação dos efeitos citotóxico e espasmolítico do lapachol e de seus derivados naturais e sintéticos: relação estrutura-atividade e mecanismo de ação. 2008. p. 177. **Tese (Doutorado)**. Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

CHHABRA, S. C.; MAHUNNAH, R. L. A.; MSHIU, E. N. Plants used in traditional medicine in eastern tanzania. VI. Angiosperms (Sapotaceae to Zingiberaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39(2), p. 83-103, 1993.

CLAUDINO, F. S. Atividade espasmolítica de extratos obtidos de *Solanum jabrense* Agra e Nee (SOLANACEAE). **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.

CORREIA, A. C. C. Efeito comparativo entre os extratos obtidos das partes aéreas e dos frutos de *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae) em músculo liso. 2007. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)**. Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

CORREIA, A. C. C.; MACÊDO, C. L.; MONTEIRO, F. S.; SOUZA, F. H. T., PESSÔA, H. L. F.; MIRANDA, G. E. C.; DIAS, C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CAVALCANTE, F. A.; SILVA, B. A. Evaluation of hemolytic and spasmolytic activities of *Sargassum polyceratum* Montagne (Sargassaceae) In: **8th International Symposium on Poisonous Plants**, 2009; João Pessoa. Program and Abstracts: Único.

COSTA, V. C. O. Investigação da Atividade Espasmolítica de *Solanum asperum* Rich. e *Solanum paludosum* Moric.: um estudo comparativo. 2006.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas).
Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

COUNE, C.; DENOEL, A. Phytochemical study of central african solanaceae. Alkaloids of solanum dasyphyllum. **Planta Medica**, v. 28(5), p. 168, 1975.

DAVIES, M. P.; McCURRIE, J. R.; WOOD, D. Comparative effects of K⁺ channel modulating agents on contractions of rat intestinal smooth muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 297, n. 3, p. 249 – 256, 1996.

DEMIREL, E.; RUSKO, J.; LASKEY, R.E.; ADAMS, D.J.; VAN BREEMEN, C. TEA inhibits ACh-induced EDRF release: endothelial Ca²⁺-dependent K⁺ channels contribute to vascular tone. **The American Journal of Physiology**, v. 267, n. 2, p. H1135 – H1141, 1994.

DICARLO, G. D.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Effect of quereetine on the gastrintestinal tract in rats and mice. **Phytotherapy Research**, v. 8, p. 42-45, 1994.

DOMINGUEZ, X. A.; ALCORN, J. B. Screening of medicinal plants used by huastec mayans of northeastern mexico. **Journal of Ethnopharmacology**, v.13, n.2, p.139-156, 1985.

EISELE, K.; LANG, P. A.; KEMPE, D. S.; KLARL, B. A.; NIEMOLLER, O.; WIEDER, T.; HUBER, S. M.; DURANTON, C.; LANG, F. Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by mercury ions. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 210, p. 116–122, 2006.

EMPFIELD, J. R.; RUSSELL, K.; TRAINOR, D. A. Potassium channel openers: therapeutic possibilities. **Pharmacy News**, v. 6, p. 23-27, 1995.

FUKATA, Y.; AMANO, M.; KAIBUCHI, K. Rho–Kaibuchi, K-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, p. 32-39, 2001.

GAGINELLA, T. S.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; AUTORE, G.; CAPASSO, F. Nitric oxide as a mediator of bisacodyl and phenolphthalein laxative action: induction of nitric oxide synthase. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 270, p. 1239-1245, 1994.

GARCIA, F. M. Monitoração da Atividade Espasmolítica de Produtos obtidos de *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae). **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

GUPTA, S. S.; GUPTA, N. K. Effect of *Solanum xanthocarpum* and *Clerodendron srratum* on histamine release from tissues. **Indian Journal of Medicinal Sciences**, v. 21, p. 795-799, 1967.

GUPTA, S. S.; VERMA, S. C.; SINGH, C.; KHANDELWAL, P.; GUPTA, N. K. Chemical and pharmacological studies on *Solanum xanthocarpum* (Kantakari). **Indian Journal of Medicinal Research**, v. 55, p. 723-732, 1967.

GUYTON, A. C, HALL, J. E. Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças. Editora Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 457-489, 1998.

GURGEL, L. A. AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DA ATIVIDADE ANTIDIARRÉICA DO LÁTEX DO CROTON URUCURANA BAILL. **Dissertação (Mestrado)**. Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

HARDMAN, J. T.; BECK, M. L.; OWENSBY, C. E. Range Forb Lectins. **Transfusion**, v. 23, n. 6, p. 519 – 522. 1983.

HEDBERG, I.; HEDBERG, O.; MADATI, P. J.; MSHIGENI, K. E.; MSHIU, E. N.; SAMUELSSON, G. Inventory of plants used in traditional medicine in tanzania. Part iii. Plants of the families Papilionaceae-Vitaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 9, n. 2/3, p. 237-260, 1983.

HEO, K. S.; LIM, K. T. Glicoprotein isolated from *Solanum nigrum* L. modulates the apoptotic-related signals in 12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate-stimulated MCF-7 cells. **Journal of Medicinal Food**, v. 8(1), p. 69-77, 2005.

HILL, C. E.; KIRTON, A.; WU, D. D.; VANNER, S. J. Role of maxi-K⁺ channels in endothelin-induced vasoconstriction of mesenteric and submucosal arterioles. **American Journal of Physiology-Gastrintestinal and Liver Physiology**, v. 36, n. 5, p. G1087 – G1093, 1997.

HONDA, K.; TAKANO, Y.; KAMIYA, H. Involvement of protein kinase C in muscarinic agonist-induced contractions of guinea pig ileal longitudinal muscle. **General Pharmacology**, v. 27, n. 6, p. 957 – 961, 1996.

HSU, S. H.; TSAI, T. R.; LIN, C.N.; YEN, M. H.; KUO, K. W. Solamargine purified from *Solanum incanum* Chinese herb triggers gene expression of human TNFR I which may lead to cell apoptosis. **Biochemistry Biophysical Research Communications**, v. 299 (1), p. 1-5, 1996.

HUNZIKER, A. T. Genera solanacearum: The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system. **A. R. Gantner Verlag, Köenigstein – Germany**, p. 500, 2001.

HURWITZ, L.; MCGUFFEE, L. J.; LITTLE, S. A.; BLUMBERG, H. Evidence for two distinct types of potassium-activated calcium channels in an intestinal smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 214, p. 574 – 581, 1980.

JADHAY, S. J.; SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. **Toxicology**, v. 9(1), 1981.

JAIN, S. P.; PURI, H. S. Ethnomedicinal plants of jaunsar-bawar hills, uttar pradesh, india. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12, n. 2, p. 213-222, 1984.

JAISWAL, N.; LAMBRECHT, G.; MUTSCHLER, E.; TACKER, R.; MALIK, K. U. Pharmacological characterization of the vascular muscarinic receptors mediating relaxation and contraction in rabbit aorta. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 258(3), p. 842 – 850, 1991.

JIM, K.; HARRIS, A.; ROSENBERG, L. B.; TRIGGLE, D. J. Stereoselective and non-stereoselective effects of D 600 (Methoxyverapamil) in smooth muscle. **The European Journal of Pharmacology**, v. 76, p. 67-72, 1981.

KANNAN, M. S.; JOHNSON, D. E. Modulation of nitric oxide-dependent relaxation of pig tracheal smooth muscle by inhibitors of guanylyl cyclase and calcium activated potassium channels. **Life Science**, v. 56, n. 25, p. 2229 – 2238, 1995.

KOBAYASHI, S.; KITAZAWA, T.; SOMLYO, A. V.; SOMLYO, A. P. Cytosolic heparin inhibits muscarinic and α -adrenergic Ca^{2+} -release in smooth muscle: physiological role of inositol 1,4,5-trisphosphate in pharmacomechanical coupling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, p. 17997 – 18004, 1989.

KNOT, H. T.; BRAYDEN, E. J.; NELSON, M. T. Calcium channels and potassium channels. In BÁRÁNY, M. *Biochemistry of Smooth Muscle Contraction*. San Diego, Academic Press, 203 – 219, 1996.

KUME, H.; HALL, I.P.; WASHBAU, R.J.; TAKAGI, K.; KOTLIKOFF, M.I. β -Adrenergic agonists regulate K_{Ca} channels in airway muscle by cAMP-dependent and -independent mechanisms. **Journal of Clinical Investigation**, v. 93, n. 1, p. 371 – 379, 1994.

KUO, K.; HSU, S.; LI, Y.; LIN, W.; LIU, L.; CHANG, L.; LIN, C.; SHEU, H. Anticancer activity evaluation of the *Solanum* glycoalkaloid solamargine. **Biochemistry Pharmacology**, v. 60, (12), p. 1865-1873, 2000.

LATORRE, R.; OBERHAUSER, A.; LABARCA, P.; ALVAREZ, O. Varieties of calcium-activated potassium channels. **Annual Review of Physiology**, v. 51, p. 385 – 399, 1989.

LEXIS, L. A.; FASSETT, R. G.; COOMBES, J. S. α -Tocopherol and α -lipoic acid enhance the erythrocyte antioxidant defence in cyclosporine A-treated rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 98, p. 68 – 73, 2006.

LIMA, L. O.; SILVA, A. D. S.; SILVA, P. C. B.; CORREIA, A. C. C.; MACÊDO, C. L.; PESSÔA, H. L. F.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A.; CAVALCANTE, F. A. Evaluation of the Cytotoxic and Spasmolytic Activities of *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae). In: **8th International Symposium on Poisonous Plants**, 2009, João Pessoa. Program and Abstracts, 2009. v. Único, p. 58.

LIMA, J. T. Ação espasmolítica do 3, 4, 5, 8-tetrametoxi-(6, 7, 2'', 3'')-furanoflavona. Obtida de *Diplotropis ferruginea* Benth. (FABACEAE), envolve ativação de canais de potássio. 2004. p. 107. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Laboratório de

Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004.

MACÊDO, C. L. Envolvimento dos canais de potássio na ação espasmolítica do ácido 8(17),12E,14-labdatrieno-18-óico (labdano-302), isolado de *Xylopiá langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul. em óleo isolado de cobaia. 2008. p. 77. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

McFADZEAN, I.; GIBSON, A. The developing relationship between receptor-operated and store-operated calcium channels in smooth muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 135, p. 1-13, 2002.

MAIKERE-FANIYO, R.; VAN PUYVELDE, L.; MUTWEWINGABO, A.; HABIYAREMYE, F. X. Study of rwandese medicinal plants used in the treatment of diarrhea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, n. 2, p. 101-109, 1989.

MANS, D. R. A.; TOELSIE, J.; MOHAN, S.; JURGENS, S.; MUHRINGEN, M.; ILLES, S.; MACNACK, R.; BIPAT, R. Spasmogenic effect of a *Solanum melongena* leaf extract on guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 329-333, 2004.

MARUO, V. M.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Toxicological evaluations of long-term consumption of *Solanum lycocarpum* St. Hill fruits in male and female adult rats. **Phytomedicine**, v. 10, p. 48-52, 2003.

MATHAN, V. I. Diarrhoeal diseases. **British Medical Bulletin**, v. 54, p. 402 – 419, 1998.

MEERA, P.; ANWER, K.; MONGA, M.; OBERTI, C.; STEFANI, E.; TORO, L.; SAMBOR, B. M. Relaxin stimulates myometrial calcium-activated potassium channel activity via protein kinase A. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 38, n. 2, p. C312 – C317, 1995.

MENEZES, M. A. S.; VIANA, G. S. B.; VIETLA, S. N. R.; CORRÊA, R. A.; FEIJÓ, S. G. F. Estudo farmacológico. In: VIANA, G. S. B.; MATOS, F. J. A.; BANDEIRA, M. A. M.; RAO, V. S. N. **Aroeira do sertão** (Myracrodruon urundeuva Fr. All.). Fortaleza: UFC, v. 187(4), p. 83-174, 1994.

MESIA-VELA, S.; SANTOS, M. T.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, v. 9, p. 508-514, 2002.

MIR BABAYEV, N. F.; GASANOV, G. G.; KNIGHT, D. W. Plants of the republic of azerbaijan with potential medicinal applications. **International Journal of Pharmacology**, v. 31(1), p. 47-54, 1993.

MORGAN, J. P.; MORGAN, K. G. Vascular smooth muscle: the first recorded Ca^{2+} transients. **Pflügers Archives**, v. 395, p. 75 – 77, 1982.

NEE, M. Synopsis of *Solanum* in the New World. In: Nee M, Symon DE, Lester RN, Jessop JP. Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization. Royal Botanic Gardens Kew, p. 285-333, 1999.

NEERING, I. R.; MORGAN, K. G. Use of aequorin to study excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscle. **Nature**, v. 288, p. 585–587, 1980.

NEUBIG, R. R.; SPEDDING, M.; KENAKIN, T.; CHRISTOPOULOS, A. International union of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 55, n. 4, p. 597– 606, 2003.

NIKI, E.; YAMAMOTO, Y.; KOMURO, E.; SATO, K. Membrane damage due to lipid oxidation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. S201 – S205, 1991.

NOUAILHETAS, V. L. A.; SHIMUTA, S. I.; PAIVA, A. C. M.; PAIVA, T. B. Calcium and sodium dependence of the biphasic response of the guinea-pig ileum agonists. **European Journal of Pharmacology**, v. 116, p. 41 – 47, 1985.

OLIVEIRA, A. P.; FURTADO, F. F. ; ALMEIDA, F. R. C. ; MEDEIROS, I. A. Involvement of calcium activated large conductance potassium channel BK_{Ca} in vasorelaxant effect of labdane-302. In: XXXVI Congresso brasileiro de farmacologia, 2004, Águas de Lindóia-SP. XXXV **Congresso Brasileiro de Farmacologia**. São Paulo-SP: SBFTE, v. UNICO. p. 268 – 269, 2004.

OLIVEIRA, R. C. M. Efeito antiinflamatório, antinociceptivo e espasmolítico de *Solanum megalonyx* Sendtn. e *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae): um estudo comparativo. 2006. **Tese** (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

OLIVEIRA, R. C. M.; LIMA, J. T.; RIBEIRO, L. A. A.; SILVA, J. L. V.; MONTEIRO, F. S.; ASSIS, T. S.; AGRA, M. F.; SILVA, T. M. S.; ALMEIDA, F. R. C.; SILVA, B. A. Spasmolytic Action of the Methanol Extract and Isojuripidine from *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae) Leaves in Guinea-Pig Ileum. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v. 61c, p. 799-805, 2006a.

OLIVEIRA, R. C. M. ; MONTEIRO, F. S. ; SILVA, J. L. V. ; RIBEIRO, L. A. A. ; SANTOS, R. F. ; DUARTE, J. C. ; AGRA, M. F. ; SILVA, T. M. S. ; ALMEIDA, Fernanda Regina de Castro ; SILVA, B. A. . Extratos metanólico e acetato de etila de *Solanum megalonyx* Sedtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em íleo isolado de cobaia: um estudo comparativo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 146-151, 2006b.

PROKOF'EVA, N. G.; UTKINA, N. K.; CHAIKINA, E. L.; MAKARCHENKO, A. E. Biological activities of marine sesquiterpenoid quinones: structure–activity relationships in cytotoxic and hemolytic assays. **Physiology of Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B: v. 139, p. 169 – 173, 2004.

QUEST, U. Potassium channel openers: pharmacological and clinical aspects. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 6, p. 279–293, 1992.

QUEST, U.; COOK, N. S. Moving together: K⁺-channel openers and ATP-sensitive K⁺-channels. **Trends Pharmacological Science**, v. 10, p. 431–435, 1989.

RAO, V. S. N.; SANTOS, F. A.; SOBREIRA, T. T.; SOUZA, M. F.; MELO, C. L.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosae*. **Planta Médica**, v. 63, p. 146-149, 1997.

RIBEIRO, L. A. A.; TAVARES, J. F.; ANDRADE, N. C.; SILVA, M. S.; SILVA, B. A. Vasorelaxant effect of 8(17),12E,14-labdatrien-18-oic acid (labdane-302) in rat aorta involves K⁺ channels. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 2007a.

RIBEIRO, L. A. A.; TAVARES, J. F.; ANDRADE, N. C.; SILVA, M. S.; SILVA, B. A. O Ácido (8)17,12E,14-labdatrieno-18-óico (labdano302), diterpeno tipo labdano isolado de *Xylopija langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae) relaxa a traquéia isolada de cobaia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 197 – 203, 2007b.

ROBERT, A.; NEZARMIS, J. E.; LANCASTER, C.; HENCHAR, A. I.; KLEPPRE, M. S. Enteropooling Assay: A test for diarrhea produced by prostaglandins. **Prostaglandins**, v. 11, p. 809-814, 1976.

SALMON, D. M. W.; BOLTON, T. B. Early events in inositol phosphate metabolism in longitudinal smooth muscle from guinea-pig intestine stimulated with carbachol. **Biochemical Journal**, v. 254, p. 553 – 557, 1988.

SANDERS, K. M. Mechanisms of calcium handling in smooth muscles. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1438-1449, 2001.

SANTOS, R. F.; SILVA, B. A.; CAVALCANTE, F. A.; CLAUDINO, F. S.; SOUSA, J. P.; MEDEIROS, A. F. D.; ALARCÓN, K. M.; SILVA, T. M. S. Estudo comparativo do efeito espasmolítico entre *Solanum agrarium* Sendtner e *Solanum stipulaceum* Roem & Schult. In: SOUZA, M. F. V. **Iniciados**. 9 ed. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, p. 98 – 114, 2003.

SANTOS R. F. Ação espasmolítica de retusin, flavonóide isolado de *Solanum paludosum* Moric. e de seu derivado metilado em íleo isolado de cobaia. 2006. p. 77. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa Universidade Federal da Paraíba, 2006.

SCHUSTER, S.; MARHL, M.; HÖFER, T. Modelling of simple and complex calcium oscillations. **European Journal of Biochemistry**, v. 269, p. 1333 – 1355, 2002.

SHAKUNDA, C.; CHESTER, A. S. Teratological and toxicological studies of alkaloidal and phenolic compounds from *Solanum tuberosum* L. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 36(2), p. 227-237, 1976.

SHIKADA, K.; TANAKA, S. K⁺ channel openers produce epithelium-dependent relaxation of the guinea-pig trachea. **European Journal of Pharmacology**, v. 282, n. 1-3, p. 193 – 197, 1995.

SHUM, O. L.; CHIU, K. W. Hipotensive action of *Solanum melongena* on normotensive rats. **Phytotherapy Research**, v. 5, n. 2, p. 76 – 81, 1991.

SILVA, E. G.; OKUYAMA, P.; PAIVA, T. B. Role of Ca²⁺-dependent K⁺ channels in the membrane potential and contractility of uterus from spontaneously hypertensive rats. **Pathophysiology**, v. 3, n. 4, p. 259-265, 1996.

SILVA, B. A.; NOUAILHETAS, V. L. A.; ABOULAFIA, J. Desensitization to ANG II in guinea-pig ileum depends on membrane repolarization: role of maxi-K⁺ channel. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 277, n. 4, p. C739 – C745, 1999.

SILVA, J. L. V. Monitoração da atividade vasorelaxante de produtos obtidos das partes aéreas de *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae), 2005. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2005.

SILVA, P. C. B. Investigação da atividade espasmolítica de *Solanum paraibanum* Agra: um estudo comparativo. 2007. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)** – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

SILVA, T. M. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17(1), p. 35-38, 2007.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological Reviews**, v. 83, p. 1325 – 1358, 2003.

SOMLYO, A. V.; SOMLYO, A. P. Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 159 p. 129 – 145, 1968.

SOUZA, E. C. Perfil etimológico das diarreias agudas em crianças atendidas em um pronto socorro de hospital regional da cidade de São Paulo. **Dissertação (Mestrado)** Faculdade de Medicina/USP, São Paulo, 2000.

SUN, Y. -D.; BENISHIN, C. G. – K⁺ channel openers relax longitudinal muscle of guinea-pig ileum. **European Journal of Pharmacology**, v. 271, p. 453 – 459, 1994.

TERAMOTO, N.; BRADING, A. F.; ITO, Y. Glibenclamide-sensitive K⁺ channels underlying levromakalim-induced relaxation in pig urethra. **European Journal of Pharmacology**, v. 365, n. 2-3, p. 291 – 300, 1999.

TERAMOTO, N.; NAKASHIMA, T.; ITO, Y. Properties and pharmacological modification of ATP-sensitive K⁺ channels in cat thacheal myocytes. **British Journal of Pharmacology**, v. 130, n. 3, p. 625 – 635, 2000.

THORNELOE, K. S.; NELSON, M. T. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 83, p. 215 – 242, 2005.

TRAVASSOS, R. A.; MACEDO, C. L.; CORREIA, A. C. C.; PESSÔA, H. L. F.; TAVARES, J. F.; SILVA, M, S; SILVA, B. A. Involvement of K⁺ channels on tocolytic effect and investigation of hemolytic activity of labdane-302. In: **41º Congresso Brasileiro de Farmacologia**, Ribeirão Preto, São Paulo, 2009.

TRIGGLE, C. R.; TRIGGLE, D. J. An analysis of the action of cations of the lanthanide series on the mechanical responses of guinea-pig ileal longitudinal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 254, p. 39 – 54, 1976.

TRIGGLE, D. J.; ZHENG, W.; HAWTHORN, M.; KWON, Y. W.; WEI, X. Y.; JOSLYN, A.; FERRANTE, J.; TRIGGLE, A. M. Calcium channels in smooth muscle. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 560, p. 215 – 229, 1989.

UNNO, T.; KOMORI, S.; OHASHI, H. Inhibitory effect of muscarinic receptor activation on Ca²⁺ channel current in smooth muscle cells of guinea-pig ileum. **The Journal of Physiology**, v. 484, n. 3, p. 567 – 581, 1995.

UYAMA, Y.; IMAIZUMI, Y.; WATANABE, M. Cyclopiazonic acid, an inhibitor of Ca²⁺-ATPase in sarcoplasmic reticulum, increases excitability in ileal smooth muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, n. 2, p. 565 – 572, 1993.

VAN BREEMEN, C.; AARONSON, P.; LOUZENHISER, R. Sodium-Calcium interaction in mammalian smooth muscle. **Pharmacological Reviews**, v. 30, p. 167 – 208, 1979.

WADE, G. R.; SIMS, S. M. Muscarinic stimulation of tracheal smooth muscle cell activates large-conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channel. **American Journal of Physiology**, v. 265, n. 3, p. C658 – C665, 1993.

WATTERSON, K. R.; RATZ, P. H.; SPIEGEL, S. The role of sphingosine-1-phosphate in smooth muscle contraction. **Cellular Signalling**, v. 17, p. 289 – 298, 2005.

WESTON, A. H.; EDWARDS, G. Recent progress in potassium channel opener pharmacology. **Biochemistry Pharmacological**, v. 43, n. 1, p. 47-54, 1992.

YAMAKAGE, M.; HIRSHMAN, C. A.; CROXTON, T. L. Sodium nitroprusside stimulates Ca^{2+} -activated K^+ channels in porcine tracheal smooth muscle cells. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 14, n. 3, p. L338-L345, 1996.

ZAMORA-MARTINEZ, M. C.; POLA, C. N. P. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, n. 3, p. 229-257, 1992.

ZARGARI, A. Medicinal plants. vol 3, 5th ed, Tehran University Publications, no 1810/3, Tehran, Iran. **Book**, v.3,p. 889, 1992.

*Considerações
finais*

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na investigação do potencial toxicológico e antiespasmódico do extrato metanólico obtido das raízes (Sast-MeOH_R) *Solanum asterophorum*, bem como, da monitoração farmacológica da atividade antidiarréica dos extratos metanólicos obtidos das raízes (Sast-MeOH_R) e das folhas (Sast-MeOH_F) desta espécie, em modelos *in vivo* e *in vitro*, pode-se concluir que:

- Assim como o extrato Sast-MeOH_F (OLIVEIRA et al., 2006a), o extrato Sast-MeOH_R, provavelmente, apresenta baixa ou nenhuma toxicidade quando testado *in vitro*;
- Em íleo de cobaia, diferente do extrato Sast-MeOH_F (OLIVEIRA et al., 2006a), o extrato Sast-MeOH_R apresenta um efeito dual: espasmogênico e antiespasmódico;
- O efeito espasmogênico induzido pelo extrato Sast-MeOH_R envolve a participação de receptores muscarínicos, uma vez que o tratamento com atropina inibiu a atividade espasmogênica do extrato;
- ✓ Essa ação antiespasmódica do extrato Sast-MeOH_R envolve a participação de canais de K⁺, o que indiretamente bloquearia o influxo de Ca²⁺ através dos canais Ca_v.
- Assim como o extrato obtido das folhas, Sast-MeOH_R (OLIVEIRA et al., 2006a), o extrato Sast-MeOH_R não apresenta toxicidade sistêmica, uma vez que os animais não apresentaram alterações de comportamento após a sua administração durante o tempo de observação de 3 horas e não houve mortes de animais durante as 72 horas;
- Tanto o Sast-MeOH_R como o Sast-MeOH_F apresentam princípios ativos com atividade antidiarréica, pois produziram um significativo efeito

antidiarréico em camundongos, havendo redução da frequência de defecação e do número de fezes líquidas;

- O mecanismo de ação antidiarréico dos extratos Sast-MeOH_R e Sast-MeOH_F não envolve mudanças na motilidade intestinal, mas sim alterações na secreção intestinal;
- O extrato obtido das raízes se mostrou mais potente tanto nos experimentos *in vivo* como nos experimentos *in vitro*, sugerindo que os princípios ativos com ação antiespasmódica e antidiarréica estão mais concentrados nas raízes do que nas folhas.

Referências

REFERÊNCIAS

ABEBE, W. A survey of prescriptions used in traditional medicine in Gondar region, northwestern Ethiopia: general pharmaceutical practice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 18(2), p. 147-165, 1986.

ABRAHAM, Z.; BHAKUNI, S. D. GARG, H. S.; GOEL, A. K.; MEHROTRA, B. N.; PATNAIK, G. K. Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 24, p. 48-68, 1986.

AGRA, M.F.; BHATTACHARYYA, J. Ethnomedicinal and phytochemical investigation on the Solanum species in the Northeast of Brazil. In: NEE, M.; SYMON, D.E.; LESTER, R.N.; JESSOP, J.P. (Editors). Solanaceae IV, **Royal Botanic Gardens**, Kew, p. 341-343, 1999.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007.

AGRA, M. F.; ROCHA, E. A.; FORMIGA, S. C.; LOCATELLI, E. Plantas medicinais dos Cariris Velhos, Paraíba, Parte I: subclasse Asteridae. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 75, n. 3, p. 61-64. 1994.

AKINDELE, A. J.; ADEYEMI, O. O. Evaluation of the antidiarrhoeal activity of *Byrsocarpus coccineus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 20-25, 2006.

ALEIXO, M. J. Diarréia do viajante. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 19, p. 253-9, 2003.

ALMEIDA, E. R.; SANTOS, E. R.; BARRETO LINS, C. F.; MELLO, A. C.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. The presence of acetylcholine in fruits of *Solanum melongena* L. **Revista do Instituto da Universidade Federal Pernambuco, Recife** 22 ½, 1985.

ALMEIDA, C. E.; KARNIKOWSKI, M. G. O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Revista de Saúde pública**, v. 29(6), p. 428-33, 1995.

AMMON, H. V.; PHILLIPS, S. F. Inhibition of colonic water and electrolyte absorption by fatty acids in man. **Gastroenterology**, v. 64, p. 744-749, 1973.

ATTA-UR-RAHMAN, C.; IQBAL, M. In: The alkaloids 50. San Diego, **Academic Press**, p. 102, 1998.

AVERY, M. E.; SNYDER, J. D. Oral therapy for acute diarrhea. The underused simple solution. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 891-894, 1990.

BERN, C.; MARTINES, J.; DE ZOYSA, I.; GLASS, R. I. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. **Bull. World Health Organ.**, v. 70, p. 705-714, 1992.

BHAKUNI, O. S.; DHAR, M. L.; DHAR, M. M.; DHAWAN, B. N.; MEHROTRA, B. N. – Screening of Indian plants for biological activity. Part II. **Indian Journal Biology**, v. 7, p. 250-262. 1969.

BHAKUNI, D. S.; GOEL, A. K.; JAIN, S.; MEHROTRA, B. N.; PATNAIK, G. K.; PRAKASH, V. Screening of Indian plants for biological activity: Part XIII. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 26(11), p. 883-904, 1988.

BHANDARI, M. K.; BHAN, M. K.; SAZAWAL, S. Mortality associated with acute watery diarrhea, dysentery and persistent diarrhea in rural North India. **Acta Paediatrica Supplement**, v. 381, p. 3-6, 1992.

BLAUSTEIN, M. P. Sodium/Calcium exchange in cardiac, smooth and skeletal muscles: key to the control of contractility. In: Hoffman JF, Glebisch G (Eds) *Current Topics in Membranes and Transport*. **Academic Press**, Inc, San Diego, v. 34, p. 289–330, 1989.

BOHS, L. Major clades in *Solanum* based on *ndhF* sequences. In *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* (R.C. Keating; V.C. Hollowell & T.B. Croat, eds.). A festschrift for William G. D'Arcy: the legacy of a taxonomist. St. Louis, **Missouri Botanical Garden Press**, v. 104, p. 27-49, 2005.

BORRELLI, F.; CAPASSO, F.; CAPASSO, R.; ASCIONE, V.; AVIELLO, G.; LONGO, L.; IZZO, A. A. Effect of *Boswellia serrata* on intestinal motility in rodents: inhibition of diarrhoea without constipation. **British Journal of Pharmacology**, v. 148, p. 553-560, 2006.

BOYD, L. J. Pharmacology of the homeopathic drugs. **Journal American Institute of Homeopathy**, v. 21, p. 209, 1928.

BRIGHT-ASARE, P.; BINDER, H. J. Stimulation of colonic secretion of water and electrolytes by hydroxyl fatty acids. **Gastroenterology**, v. 64, p. 81-88, 1973.

BROWN, J. H.; TAYLOR, P. Muscarinic receptor agonists and antagonists. In: BRONTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. (Org.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11 ed. USA: Mc Graw Hill, cap. 7, p. 183-200, 2006.

BRUCE, G. A.; MICHAEL, P. W. The biochemical basis of the regulation of smooth muscle contraction. **TIBS**, v. 19, p. 362-368, 1994.

CACERES, A.; CANO, O.; SAMAYOA, B.; AGUILAR, L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84

plants against enterobacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30(1), p. 55-73, 1990.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.179-189, 2000.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.131-134, 2005.

CAPASSO, F.; MASCOLO, N.; AUTORE, G.; ROMANO, V. Laxatives and the production of autocooids by rat colon. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 38, p. 627-629, 1986.

CAPASSO, F.; TAVARES, I. A.; BENNETT, A. PAF formation by human gastrointestinal mucosa/submucosa in vitro: release by ricinoleic acid, and inhibition by 5-aminosalicylic acid. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 44, p. 771-772, 1992.

CARVALHO, L.A.F.; COSTA, L.H.P.D.; DUARTE, A.C. Diversidade taxonômica das solanáceas que ocorrem no sudeste brasileiro - listagem dos táxons. **Revista Brasileira de Geografia**, v. 58 (1), p. 95-110, 1996.

CASTEELS, R.; SUZUKI, H. The effect of histamine on the smooth muscle cells of the ear of the rabbit. *Pfluegers Arch.* **European Journal of Physiology**, v. 387, p. 17-25, 1980.

CAVALCANTE, F. A. Mecanismo de ação espasmolítica de solavetivona, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* Agra & Nee (SOLANACEAE). 2001. **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

CHAGNON, A. Travelers' diarrhea. **Revista Prata**, v. 46, n. 2, p. 189-195, 1996.

CHAH, K. F.; MUKO, K. N.; OBOEGBULEM, S. I. Antimicrobial activity of methanolic extract of *Solanum torvum* fruit. **Fitoterapia**, v. 71, n. 2, p. 187-189, 2000.

CLAUDINO, F. S. Atividade espasmolítica de extratos obtidos de *Solanum jabrense* Agra e Nee (SOLANACEAE). **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.

CORREIA, L. L.; MCAULIFFE, J. F. Saúde materno-infantil. In: ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA-FILHO, N. Epidemiologia e saúde. 5. ed. Rio de Janeiro: **Medsa**, p. 375-403, 1999.

CORREIA, A. C. C. Efeito comparativo entre os extratos obtidos das partes aéreas e dos frutos de *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae) em músculo liso. 2007. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Farmácia). Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

COSTA, V. C. O. Investigação da Atividade Espasmolítica de *Solanum asperum* Rich. e *Solanum paludosum* Moric.: um estudo comparativo. 2006. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

COUNE, C.; DENOEL, A. Phytochemical study of central african solanaceae. Alkaloids of *solanum dasyphyllum*. **Planta Medica**, v. 28(5), p. 168, 1975.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 52-60, 1997.

DHAWAN, P. S.; DESAI, H. G. Prevention of gastrointestinal diseases. **The national Medical journal of India**, v. 9(2), p. 72-75, 1996.

DI CARLO, G.; AUTORE, G.; IZZO, A. A.; MAIOLINO, P.; MASCOLO, N.; VIOLA, P.; DIURNO, M. V.; CAPASSO, F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 45(12), p. 1054-1059, 1993.

DOMINGUEZ, X. A.; ALCORN, J. B. Screening of medicinal plants used by huastec mayans of northeastern mexico. **Jounal of Ethnopharmacology**, v.13, n.2, p.139-156, 1985.

DWORKIN, B.; WORMSER, G. P.; ROSENTHAL, W. S.; HEIER, S. K.; BRAUNSTEIN, M.; WEISS, L.; JANKOWSKI, R.; LEVY, D.; WEISELBERG, S. Gastrointestinal manifestations of the acquired immunodeficiency syndrome: a review of 22 cases. **American Journal of Gastroenterology**, v. 80, p. 774-778, 1985.

EL KHAIR, Y. M.; SALIH, M. H. Investigation of the alkaloidal content of *solanum dubium* l. Growing in sudan. **Fitoterapia**, v. 50, p. 255-258, 1979.

E SA, R. D. C. D. S.; VIREQUE, A. A.; REIS, J. E. D. P.; GUERRA, M. D. O. Evaluation of the toxicity of *solanum lycocarpum* in the reproductive system of male mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73(1/2), p. 283-287, 2000.

ESTRADA-SOTO, S.; RODRÍGUEZ-AVILEZ A.; CASTAÑEDA-ÁVILA, C., CASTILLO-ESPAÑA, P.; NAVARRETE-VÁZQUEZ, G.; HERNÁNDEZ, L.; AGUIRRE-CRESPO, F. Spasmolytic action of *Lepechinia caulescens* is through calcium channel blockade and NO release. **Jounal of Ethnopharmacology**, v.114, p. 364-370, 2007.

EVANS, W. C.; SOMANABANDHU, A. Nitrogen-containing non-steroidal secondary metabolites of *Solanum*, *Cyphomandra*, *Lycianthes* and *Margaranthus*. **Phytochemistry**, v. 19(11), p. 2351-2356, 1980.

EXTON, J. H. New Developments in phospholipase D. **Journal of Biological Chemistry** v. 272, n. 25, p. 15579 - 15582, 1997.

FARTHING, M. J. Diarrhoea: a significant worldwide problem. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 14, p. 65–69, 2000.

FAUVEAU, V.; HENRY, F. J.; BRIEND, A.; YUNUS, M.; CHAKRABORTY, J. Persistent diarrhea as a cause of childhood mortality in rural Bangladesh. **Acta Paediatrica Supplement**, v. 381, p. 12-14, 1992.

FERREIRA, F.; SOULÉ, S.; VAZQUES, A.; MOYNA, P.; KENNE, L. Steroid saponins from *Solanum laxum*. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1409-1416, 1996.

FIELD, M.; SEMRAD, C. E. Toxigenic diarrreas, congenital transport. **Annual Review of Physiology**, v. 55, p. 631-655, 1993.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **MultiCiência: construindo a história dos produtos naturais**, v. 7, 2006.

GAGINELLA, T. S.; PHILLIPS, S. F. Ricinoleic acid: current view of an ancient oil. **Digestive diseases**, v. 20, p. 1171 – 1177, 1975.

GAGINELLA, T. S.; BASS, P. Laxatives: an update on mechanism of action. **Life Sciences**, v. 23, p. 1001-1010, 1978.

GAGINELLA, T. S.; BASS, P.; OLSEN, W.; SHUG, A. Fatty acid inhibition of water absorption and energy production in the hamster jejunum. **FEBS Letters**, v. 53, p. 347 – 350, 1975.

GAGINELLA, T. S.; CHADWICK, V. S.; DEBONGNIE, J. C.; LEWIS, J. C.; PHILLIPS, S. F. Perfusion of rabbit colon with ricinoleic acid: Dose-related mucosal injury fluid secretion and increased permeability. **Gastroenterology**, v. 73, p. 95-101, 1977.

GAGINELLA, T. S. Laxative drugs. In **Textbook of Basic and Clinical Pharmacology**. ed. Munson P, Mueller R, Breese G. New York: Chapman & Hall, 1994.

GARCIA, F. M. Monitoração da Atividade Espasmolítica de Produtos obtidos de *Solanum asperum* Rich. (Solanaceae). **Dissertação (Mestrado)**. Laboratório de Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

GONZALEZ, E. S.; CALVO, L. E. R.; ARBELO, T. F. Diarrea Persistente. **Revista de la Sociedad Venezolana de Gastroenterologia**, v. 49, p. 74-81, 1995.

GOTTLIEB, O. R.; MORS, W. A. Fitoquímica Amazônica: uma apreciação em perspectiva. **Interciência**, v. 34, p. 252, 1978.

GUERRANT, R. L.; SCHORLING, J. B.; MCAULIFFE, J. F.; DE SOUZA, M. A. Diarrhea as a cause and an effect of malnutrition: diarrhea prevents catch-up growth and malnutrition increases diarrhea frequency and duration. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 47, n.1, pt 2, p. 28-35, 1992.

GURGEL, L. A. AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DA ATIVIDADE ANTIDIARRÉICA DO LÁTEX DO CROTON URUCURANA BAILL. **Dissertação (Mestrado)**. Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

HEDBERG, I.; HEDBERG, O.; MADATI, P. J.; MSHIGENI, K. E.; MSHIU, E. N.; SAMUELSSON, G. Inventory of plants used in traditional medicine in tanzania. Part iii. Plants of the families Papilionaceae-Vitaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 9, n. 2/3, p. 237-260, 1983.

HSU, S. H.; TSAI, T. R.; LIN, C.N.; YEN, M. H.; KUO, K. W. Solamargine purified from *Solanum incanum* Chinese herb triggers gene expression of human TNFR I which may lead to cell apoptosis. **Biochemistry Biophysical Research Communications**, v. 299 (1), p. 1-5, 1996.

HUNZIKER, A. T. Genera solanacearum: The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system. **A. R. Gantner Verlag, Koenigstein - Germany**. 500p, 2001.

IBARROLA, D. A.; HELLIÓN-IBARROLA, M. C.; MONTALBETTI, Y.; HEINICHEN, O.; ALVARENGA, N.; FIGUEREDO, A.; FERRO, E. A. Isolation of hypotensive compounds from *Solanum sisymbriifolium* Lam. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 3, p. 301-307, 2000.

JAIN, S. P.; PURI, H. S. Ethnomedicinal plants of jaunsar-bawar hills, uttar pradesh, india. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12, n. 2, p. 213-222, 1984.

JOHNSON, I. S.; ARMSTRONG, J. G.; GORMAN, M.; BURNETT, J. P., Jr. The Vinca Alkaloids: a New Class of Oncolytic Agents. **Cancer Research**, v. 23, n. 81, p. 1390-1427, 1963.

KARAKI, H.; OZAKI, H.; HORI, M.; MITSUI-SAITO, M.; AMANO, K.-I.; HARADA, K.-I.; MIYAMOTO, S.; NAKAZAWA, H.; WON, K.-J.; SATO, K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. **Pharmacol. Rev.**, v. 49, n. 2, p. 157-230, 1997.

KRISTINE, E. J.; STULL, J. T. Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. **Annual Review of Physiology**, v. 51, p. 299-313, 1989.

KUO, K.; HSU, S.; LI, Y.; LIN, W.; LIU, L.; CHANG, L.; LIN, C.; SHEU, H. Anticancer activity evaluation of the *Solanum* glycoalkaloid solamargine. **Biochemistry Pharmacology**, v. 60, (12), p. 1865-1873, 2000.

KUSANO, G.; TAKAHASHI, A.; SUGIYAMA, K.; NOZOE, S. – Antifungal properties of solanum alkaloids. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, n. 12, p. 4862-4867. 1987.

LEE, Y. Y.; HASHIMOTO, F.; YAHARA, S.; NOHARA, T.; YOSHIDA, N. Steroidal glycosides from *solanum dulcamara*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n.3, p. 707-709, 1994.

LIMA, A. A. M.; MOORE, S. R.; BARBOZA, M. S. J.; SOARES, A. M.; SCHLEUPNER, M. A.; NEWMAN, R. D.; SEARS, C. L.; NATARO, J. P.; FEDORKO, D. P.; WUHIB, T.; SCHORLING, J. B.; GUERRANT, R. L. Persistent diarrhea signals a critical period of increased diarrhea burdens and nutritional shortfalls: a prospective cohort study among children in Northeastern Brazil. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, p. 1643-1651, 2000.

MAIKERE-FANIYO, R.; VAN PUYVELDE, L.; MUTWEWINGABO, A.; HABIYAREMYE, F. X. Study of rwandese medicinal plants used in the treatment of diarrhea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, n. 2, p. 101-109, 1989.

MALPASS, G. N. Century old botanicals. **The American Journal of Pharmaceutical**, p. 117: 298, 1945.

MANDELL, G. L.; DOUGLAS, R. G.; BENNETT, J. E. Principles and practice of infectious diseases. 1. ed. Londres: **Churchill Livingstone Inc.**, c. 2, p. 52-53, 1997.

MARTINEZ, C. A.; BARUA, D.; MERSON, M. H. Control of diarrhoeal diseases. **World Health Stat.** v. 41, p. 74-81, 1988.

MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; AUTORE, G.; BARBATO, F.; CAPASSO, F. Nitric oxide and castor oil-induced diarrhea. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 268, p. 291-295, 1994.

MATHAN, V. I. Tropical sprue in southern India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, v. 82, p. 10-14, 1988.

MATHAN, V. I. Diarrhoeal diseases. **British Medical Bulletin**, v. 54, p. 402 – 419, 1998.

MENTZ, L. A.; OLIVEIRA, P. L. *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. **Pesquisas (Botânica)**, v. 54, p. 5 – 327, 2004.

MIR BABAYEV, N. F.; GASANOV, G. G.; KNIGHT, D. W. Plants of the republic of azerbaijan with potential medicinal applications. **International Journal of Pharmacology**, v. 31(1), p. 47-54, 1993.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, p. 105-111, 2001.

MUNI, I. A.; BHATTI, W. H.; SCHERMEISTER, L. J.; VINCENT, M. C. Cytotoxicity of North Dakota plants e in vitro studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, p. 50-54, 1967.

MURAKAMI, K.; EZIMA, H.; TAKAISHI, Y.; TAKEDA, Y.; FUJITA, T.; SATO, A.; NAGAYAMA, Y.; NOHARA, T. Studies on the constituents of *solanum* plants. V. The constituents of *S. Lyratum* Thunb. *Li Chem Pharm Bull*; v. 33(1), p. 67-73, 1985.

NEE, M. Synopsis of *Solanum* in the New World. In: Nee M, Symon DE, Lester RN, Jessop JP. *Solanaceae IV: Advances in Biology and Utilization*. Royal Botanic Gardens Kew, p. 285-333, 1999.

NEILD, T. O.; KOTE, C. N. Relation between membrane potential and contractile force in smooth muscle of the rat tail artery during stimulation by norepinephrine, 5-hydroxytryptamine, and potassium. **Circulation Research**, v. 60(5), p. 791-795, 1987.

NELSON, M. T.; STANDEN, N. B.; WORLEY, J. F. Noradrenaline contracts arteries by activating voltage-dependent calcium channels. **Nature**, v. 336, p. 3382-3385, 1988.

OLIVEIRA, R. C. M.; LIMA, J. T.; RIBEIRO, L. A. A.; SILVA, J. L. V.; MONTEIRO, F. S.; ASSIS, T. S.; AGRA, M. F.; SILVA, T. M. S.; ALMEIDA, F. R. C.; SILVA, B. A. Spasmolytic Action of the Methanol Extract and Isojuripidine from *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae) Leaves in Guinea-Pig Ileum. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v. 61c, p. 799-805, 2006a.

OLIVEIRA, R. C. M. ; MONTEIRO, F. S. ; SILVA, J. L. V. ; RIBEIRO, L. A. A. ; SANTOS, R. F. ; DUARTE, J. C. ; AGRA, M. F. ; SILVA, T. M. S. ; ALMEIDA, Fernanda Regina de Castro ; SILVA, B. A. . Extratos metanólico e acetato de etila de *Solanum megalonyx* Sedtn. (Solanaceae) apresentam atividade espasmolítica em íleo isolado de cobaia: um estudo comparativo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 146-151, 2006b.

OMENA, M. L. R. A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do bioma caatinga. **Saúde Ambiente**, v. 2, p. 92-107, 2007.

PARENTE, C. E. T.; ROSA, M. M. T. Plantas comercializadas como medicinais no Município de Barra do Piraí, RJ. *Rodriguésia*, v. 52, p. 47-59, 2001.

PATHELA, P.; HASAN, K. Z.; ROY, E.; HUQ, F.; SIDDIQUE, A. K.; SACK, R. B. Diarrheal illness in a cohort of children 0-2 years of age in rural Bangladesh: I. Incidence and risk factors. **Acta Pediátrica**, v. 95, p. 430-437, 2006.

PEREZ G. R. M.; PEREZ L. J. A.; GARCIA, D. L. M.; SOSSA M., H. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, n. 1, p. 43 – 48, 1998.

PERROT, E.; PARIS, R. R. Les plantes medicinales. Part I. Presses universitaires dex France, Paris, France. **Book**, 1971.

PHILLIPS, R. A.; LOVE, A. H. G.; MITCHELL, T. G.; NEPTUNE, E. M. Cathartics and the sodium pump. **Nature**, v. 206, p. 1367-1368, 1965.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 19, p. 306-320, 2006.

RATZ, P. H.; BERG, K. M. ; URBAN, N. H. ; MINER, A. S. Regulation of smooth muscle calcium sensivity: KCl as calcium-sensitizing stimulus. **American Journal Physiology Cell Physiology**, v. 288, p. C769 – C783, 2005.

REMBOLD, C. M. Electromechanical and pharmacomechanical coupling. In: Bárány; M. **Biochemistry of smooth contraction**. San Diego, Academic Press, p. 227 – 239, 1996.

RIBEIRO, E. A. N.; BATITUCCI, M. C. P.; LIMA, J. A. T.; ARAÚJO, I. G. A.; MAUAD, H.; MEDEIROS, I. A. Cardiovascular effects induced by the aqueous fraction of the ethanol extract of the stem of *Solanum stipulaceum* in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 34 – 35, 2002.

RIBEIRO, R.; FIUZA DE MELO, M. M. R.; BARROS, F.; GOMES, C.; TROLIN, G. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medical plants used in the state of São Paulo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 15, n. 3, p. 261-269, 1986.

SANTOS, R. F.; SILVA, B. A.; CAVALCANTE, F. A; CLAUDINO, F. S.; SOUSA, J. P.; MEDEIROS, A. F. D.; ALARCÓN, K. M.; SILVA, T. M. S. Estudo comparativo do efeito espasmolítico entre *Solanum agrarium* Sendtner e *Solanum stipulaceum* Roem & Schult. In: SOUZA, M. F. V. **Iniciados**. 9 ed. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, p. 98 – 114, 2003.

SANTOS R. F. Ação espasmolítica de retusin, flavonóide isolado de *Solanum paludosum* Moric. e de seu derivado metilado em íleo isolado de cobaia. 2006. p. 77. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa Universidade Federal da Paraíba, 2006.

SCHECTER, M.; MARANGONI, D. V. Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; YESILADA, E. Tradicional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 61-66, 2005.

SCHILLER, L. R.; SELLIN, J. H. Diarrhea. In: FELDMAN, M.; FRIEDMAN, L.; BRANDT, L. J. Editors. Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease. 8th edition. Philadelphia: WB Saunders Co. p. 159-86, 2006.

SHUM, O. L.; CHIU, K. W. Hipotensive action of *Solanum melongena* on normotensive rats. **Phytotherapy Research**, v. 5, n. 2, p. 76 – 81, 1991.

SILVA, J. L. V. Monitoração da atividade vasorelaxante de produtos obtidos das partes aéreas de *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae), 2005. **Dissertação (Mestrado)** Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2005.

SILVA, P. C. B. Investigação da atividade espasmolítica de *Solanum paraibanum* Agra: um estudo comparativo. 2007. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)** – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

SILVA, T. M. S., CARVALHO, M. G., BRAZ-FILHO, R., AGRA, M. F. Ocorrência de Flavonas, Flavonóis e seus Glicosídeos em Espécies do Gênero *Solanum* (Solanaceae) **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 517 – 522, 2003.

SILVA, T. M. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17(1), p. 35-38, 2007.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiological Reviews**, v. 83, p. 1325 – 1358, 2003.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. **Journal of Physiology**, v. 522, p. 177 – 185, 2000.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, Go, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 135-142, 2006.

TEIXEIRA, J. C. Associação entre cenários de saneamento e indicadores de saúde em crianças: estudo em áreas de assentamento subnormal em Juiz de Fora – MG. 2003; 278. **Tese** (Doutorado em Saneamento) – Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

TOTSUKAWA, G.; YAMAKITA, Y.; YAMASHIRO, S.; HARTSHORNE, D. J.; SASAKI, Y.; MATSUMURA, F. Distinct Roles of ROCK (Rho-kinase) and MLCK in

Spatial Regulation of MLC Phosphorylation for Assembly of Stress Fibers and Focal Adhesions in 3T3 Fibroblasts. **The Journal of Cell Biology**, v. 150, p. 797 – 806, 2000.

UCHIDA, M.; KATO, Y.; MATSUELDA, K.; SHODA, R.; MURAOKA, A.; YAMATO, S. Involvement of nitric oxide from nerves on diarrhea induced by castor oil in rats. **The Japanese Journal of Pharmacology**, 82: 168-170, 2000.

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

VITALI, F.; FONTE, G.; SSAIJA, A.; TITA, B. Inhibition of intestinal motility and secretion by extracts of *Epilobium* spp. in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 342–348, 2006.

VUORELA, P.; LEINONEN, M.; SAIKKU, P.; TAMMELA, P.; RAUHA, J. P.; WENNBERG, T.; VUORELA, H. Natural products in the process of finding new drug candidates. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11(1), p. 1375-1389, 2004.

WANYONYI, A. W.; CHHABRA, S. C.; MKOJI, G.; EILERT, U.; NJUE, W. M. Bioactive steroidal alkaloid glycosides from *Solanum aculeastrum*. **Phytochemistry**, v. 59, n. 1, p. 79-84, 2002.

WATTERSON, K. R.; RATZ, P. H.; SPIEGEL, S. The role of sphingosine-1-phosphate in smooth muscle contraction. **Cellular Signalling**, v. 17, p. 289 – 298, 2005.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**, v. 27, p.201-206, 2003.

World Health Organization. Persistent diarrhoea still a serious and difficult problem. In: International Centre For Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh – Glimpse, v. 14:1, 1992.

World Health Organization (WHO). Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDS Epidemic Update June 2008. Geneva: UNAIDS/WHO; 2008.

ZAMORA-MARTINEZ, M. C.; POLA, C. N. P. Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. **Journal of Ethnopharmacology**, v.35, n.3, p.229-257, 1992.

ZARGARI, A. Medicinal plants. vol 3, 5th ed, Tehran University Publications, no 1810/3, Tehran, Iran. **Book**, v.3,p. 889, 1992.

Anexos

Anexo A – Certidão de Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFAL.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



Maceió – AL, 23/04/2009

Senhor (a) Pesquisador (a), Fabiana de Andrade Cavalcante
Polyana Cristina Barros Silva
Terezinha da Rocha Ataíde

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 17/04/2009 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 027241/2008-11 sob o título **Avaliação da atividade antidiarréica e antiespasmódica de *Solanum asterophorum* Mart**, de sua autoria, vem por meio deste instrumento comunicar sua aprovação com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o(a) pesquisador(a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Res. CNS, 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra - referidas.

(*) Áreas temáticas especiais

Prof. Dr. Walter Matias Lima
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa

Anexo B – Avaliação da atividade comportamental do extrato Sast-MeOH_R nas doses de 2500 e 5000 mg/Kg v.o. e 1000 e 2000 mg/Kg i.p.

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA NO SISTEMA NERVOSO

(0) Sem efeito (-) Efeito diminuído (+) Efeito aumentado

| SNC ESTIMULANTE | 30 min. | 1 h | 2 h | 3 h |
|------------------------------|----------------|------------|------------|------------|
| Hiperatividade | | | | |
| Agressividade | | | | |
| Tremores | | | | |
| Convulsão | | | | |
| Piloereção | | | | |
| SNC DEPRESSOR | 30 min. | 1 h | 2 h | 3 h |
| Sedação | | | | |
| Ataxia | | | | |
| Catatonía | | | | |
| Analgesia | | | | |
| Perda do reflexo corneal | | | | |
| Perda do reflexo auricular | | | | |
| OUTROS COMPORTAMENTOS | 30 min. | 1 h | 2 h | 3 h |
| Ambulação | | | | |
| Escalar | | | | |
| Contorções abdominais | | | | |

| SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO | 30 min. | 1 h | 2 h | 3 h |
|-------------------------------------|----------------|------------|------------|------------|
| Diarréia | | | | |
| Constipação | | | | |
| Tônus muscular | | | | |
| Micção | | | | |
| Salivação | | | | |
| Cianose | | | | |
| MORTE | 30 min. | 1 h | 2 h | 3 h |