



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes
de *Solanum paniculatum* L.: um estudo comparativo**

JOEDNA CAVALCANTE PEREIRA

João Pessoa-PB

2013

JOEDNA CAVALCANTE PEREIRA

**Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes
de *Solanum paniculatum* L.: um estudo comparativo**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso
de Graduação em Farmácia, do Centro
de Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.**

ORIENTADORA:

Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva

**João Pessoa-PB
2013**

JOEDNA CAVALCANTE PEREIRA

**Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes
de *Solanum paniculatum* L.: um estudo comparativo**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia, do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. Bagnólia Araújo da Silva
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientadora**

**Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessôa
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinadora**

**Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador**

**Prof. Dr. Cibério Landim Macêdo
(Faculdade de Ciências Médicas)
Suplente**

P436a Pereira, Joedna Cavalcante.

Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes de *Solanum paniculatum* L.: um estudo comparativo / Joedna Cavalcante Pereira. – João Pessoa : [s.n.], 2013.

98 f. : il.

Orientadora: Bagnólia Araújo da Silva.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

1. *Solanum paniculatum*. 2. Ação espasmolítica. 3. Óleo de cobaia.

BS/CCS/UFPB

CDU: 615 (043.2)

Dedicat6rias

Aos amores da minha vida, Irenice Cavalcante de Lira e Genivaldo Rodrigues de Lira. Por serem os melhores pais que Deus poderia me dar. Por toda a dedicação e amor depositados em mim e pela confiança incondicional. Por vocês é que carrego em mim a coragem e força de sempre seguir em frente.

Às minhas irmãs Kaliane Wilma Cavalcante de Lira e Rafaelle Cavalcante de Lira e ao meu cunhado Josélio Joubert dos Santos Paulo, que considero um verdadeiro irmão. Obrigada pelo companheirismo, pelas palavras de conforto nos momentos difíceis e pelo incentivo que sempre me deram na vida acadêmica e pessoal.

À minha sobrinha Júlia Cavalcante Paulo. Por ser uma das melhores coisas na minha vida. Pela alegria que sempre trás consigo apesar de tão pequena. Obrigada pelo seu sorriso e com ele me fazer tão feliz.

À minha avó Jalmira Candeia pelo maior exemplo de lutas e vitórias e por me apoiar em cada decisão.

A vocês dedico.

Agradecimientos

Tantas foram as pessoas que me fizeram chegar até aqui, com suas formas mais variadas de ajuda, desde palavras de incentivo até puxões de orelha dados, por isso hoje agradeço:

A Deus, por me tornar capaz de dar sempre o passo adiante, colocando em meu caminho obstáculos para me fazer cada vez mais forte. Por ser tão maravilhoso na minha vida e por tornar possível a realização de tantos sonhos. Por me mostrar que o caminho certo nem sempre é o que planejo, mas quem tem as melhores coisas guardadas para minha vida.

À Bagnólia Araújo da Silva, minha orientadora. Por ter me acolhido durante todo esse tempo de Iniciação Científica. Pelo exemplo de profissional e com isso me fazer amar ainda mais o que faço e ter certeza do caminho que tomei na vida. Por todas as conversas, risos e palavras de conforto, transmitindo muitos ensinamentos valiosos e imprescindíveis à minha formação pessoal e profissional.

À Profa. Dra. Fabiana de Andrade Cavalcante por sua paciência, dedicação e indispensável colaboração na reta final da confecção deste trabalho.

À Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva pela gentileza em ceder os extratos para o objeto de estudo deste trabalho.

Aos Professores Doutores Robson Cavalcante Veras e Hilzeth de Luna Freire Pessoa por aceitarem participar desta importante etapa na minha formação e pelas contribuições a este trabalho, assim como ao Prof. Dr. Cibério Landim Macêdo, por aceitar à suplência e pelas contribuições ao trabalho escrito.

A todos os Professores que fazem parte do Curso de Graduação em Farmácia, em especial a: Adalberto Coelho, Alba Caiaffo, Arnaldo Medeiros, Bagnólia Araújo, Eduardo Oliveira, Elizete Ventura, Francisca Inês, João Vianney, Pablo Queiroz, Patrícia Simões, Robson Veras, Samuel Meira e Zélia Braz por deixar sempre claro que ser Professor não é apenas transmitir o conhecimento e sim extrair do aluno aquilo que ele tem de melhor.

A todos os colegas e amigos que fazem ou fizeram parte do Laboratório de Farmacologia Funcional Prof. George Thomas do Programa de Pós-graduação em produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do CCS/UFPB, entre eles: Aline de Freitas Brito, Ana Carolina de Carvalho Correia, Ana Caroline de Lima Silva, Cibério Landim Macêdo, Cybelle de Arruda Navarro Silva, Fernando Ramos Queiroga, Fabio de

Souza Monteiro, Filipe Rodolfo Moreira Borges de Oliveira, Gislaine Alves de Oliveira, Giuliana Amanda de Oliveira, Giulyane Targino Aires Moreno, Hannah Olga Pereira Rodovalho, Italo Rossi Roseno Martins, José Lucas Ferreira Marques Galvão, José Rabelo, Juliana da Nóbrega Carreiro, Kimã Barbosa Meira, Luiz Henrique Agra, Maria Alice Miranda Bezerra Medeiros, Maria da Conceição Correia Silva, Millena de Melo Medeiros, Polyana Cristina Barros Silva, Rafael de Almeida Travassos, Sarah Rebeca Dantas Ferreira e Tamyris Freires Ferreira pela ajuda, amizade e convivência. Em especial, Iara Leão Luna de Souza, Layanne Cabral da Cunha Araújo, Luiz Henrique César Vasconcelos, Paula Benvindo Ferreira e Renata de Souza Sampaio por toda ajuda na realização desse trabalho, apoio científico e de bancada.

Aos professores e alunos da disciplina de Farmacodinâmica do Departamento de Ciências Farmacêuticas, onde fui monitora em 2011-2012 por proporcionarem a experiência em sala de aula e ter a certeza de que profissão mais bonita que Educador não há.

A todos os amigos que fazem parte da “Turma Feliz, Farmácia 2013.1”, por serem a minha família durante esses últimos 5 anos, por todas as conversas, risos e sorrisos, pelos momentos de angústias no qual compartilhamos inúmeras vezes, pelo apoio um ao outro quando a caminhada ficava mais pesada, mas principalmente por se fazerem sempre presentes independente de momentos bons ou ruins, tenho certeza que vou levar muitas dessas amizades por toda a minha vida. Em especial, Bruna Caldas Cardoso, Felipe Nóbrega, Francisco Casimiro Júnior, Genivaldo dos Reis Neto, Herta Ellen Moreira, Jéssica Hanne Araújo, Juliana Constantino Monteiro, Lídia Lúcia Bezerra, Liliane de Queirós Souza, Maria da Conceição Correia Silva, Renata Rodrigues e Thaylan Martins de Souza.

Aos indescritíveis Gislaine Alves de Oliveira e Italo Rossi Roseno Martins, por me fazerem acreditar cada vez mais em mim, por estarem sempre do meu lado, por me fazer ter a certeza que os terei sempre perto e que irão comigo para onde eu for. Obrigada por toda a paciência e por toda a dedicação.

Aos melhores amigos que poderia ter: Alice Dal Piva, Alysson Neri, Amanda Cardoso, Camylla Vieira, Filipe Belmont, Guilherme Santana, Hery Diniz, Izabelly Guimarães, Jéssica Karoline Nascimento, Maria Clotilde Sampaio, Maria Eduarda Sampaio, Peterson Filipe, Shymene Ferreira e Vivaldo Neto. Por tornarem infinita

uma amizade de escola, não deixando que o laço se desfaça nunca e por tornar essa minha caminhada sempre mais agradável, por me conhecer, entender e apoiar em todos os momentos, pelas palavras de conforto e pelos puxões de orelha, não seria a mesma sem a força de cada um.

Aos funcionários da Coordenação de Farmácia, Odaíza Nunes e Petrônio, em especial Odaíza por sempre ter um sorriso e palavra de apoio a oferecer, pela dedicação e compromisso sempre.

Aos técnicos de laboratório Bernadete Helena Cavalcanti, Igara Oliveira, Renata Medeiros, Ricardo e Uytacira Veloso, pela ajuda e ensinamentos durante as aulas.

Ao José Crispim Duarte pela competência e auxílio técnico nos mais variados problemas no Laboratório e no Biotério.

Ao Luís Cordeiro e Adriano Cordeiro pela colaboração no Biotério e no laboratório, por sua prestatividade e dedicação.

À Mônica por sua alegria, bom humor e por manter nosso ambiente de trabalho/estudo sempre melhores para nossas tarefas diárias.

À Universidade Federal da Paraíba, instituição responsável pela minha formação profissional.

A toda minha família, tias, tios, primos, primas que sempre torceram pela realização de mais essa etapa.

A todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a produção desta dissertação de mestrado.

Muito obrigada,

Joedna Cavalcante Pereira

A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É esta a emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e arte. O homem que desconhece esse encanto, incapaz de sentir admiração e estupefação, esse já está, por assim dizer, morto e tem os olhos extintos.

Albert Einstein

Resumo

RESUMO

Solanum paniculatum L. é conhecida popularmente como “jurubeba-verdadeira”. Recentemente, foram demonstradas atividades espasmolítica e antidiarreica, para o extrato etanólico bruto das partes aéreas desta espécie (CLEMENTINO-NETO, 2012). Diante disso, o objetivo desse trabalho foi investigar e comparar uma possível atividade espasmolítica dos extratos etanólicos obtidos das partes aéreas (SP-EtOH_{PA}) e das raízes (SP-EtOH_R) de *Solanum paniculatum* em modelos de músculo liso, e elucidar o mecanismo de ação do extrato que apresentar a maior potência em um dos órgãos testados. **Aorta de rato:** SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL, n = 3) relaxaram a órgão pré-contraído com fenilefrina (3×10^{-7} M) na presença ($E_{\max} = 59,3 \pm 7,1$ e $57,0 \pm 3,2\%$ respectivamente) ou na ausência ($E_{\max} = 58,3 \pm 6,7$ e $66,3 \pm 4,1\%$ respectivamente) do endotélio funcional. **Traqueia de cobaia:** SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL, n = 3) relaxaram o órgão pré-contraído com carbacol (CCh, 10^{-6} M) na presença ($E_{\max} = 56,8 \pm 2,7$ e $52,7 \pm 2,9\%$ respectivamente) ou na ausência ($E_{\max} = 30,0 \pm 1,5$ e $73,6 \pm 9,2\%$, respectivamente) do epitélio funcional. **Útero de rata:** SP-EtOH_{PA} (243 e 729 µg/mL, n = 3) não apresentou efeito tocolítico frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina ($E_{\max} = 6,3 \pm 3,5\%$) e por 10^{-5} M de CCh ($E_{\max} = 0,3 \pm 0,3\%$), enquanto que SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL) inibiu de maneira significativa as contrações fásicas induzidas por ocitocina (10^{-2} UI/mL) ou por CCh (10^{-5} M) ($E_{\max} = 40,2 \pm 10,2$ e $47,0 \pm 8,9\%$, respectivamente). **Íleo de cobaia:** SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL, n = 3) inibiu de maneira significativa as contrações fásicas induzidas por CCh ($E_{\max} = 65,3 \pm 8,5\%$) ou por histamina (10^{-6} M, $E_{\max} = 58,8 \pm 3,9\%$). Clementino-Neto (2012) relatou que o SP-EtOH_{PA} apresentou efeito espasmolítico frente às contrações fásicas induzidas por CCh ($E_{\max} = 81,2 \pm 5,4\%$) e por histamina ($E_{\max} = 93,9 \pm 1,2\%$). Diante disso, decidiu-se investigar o mecanismo de ação do SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia por este apresentar melhor eficácia neste órgão. O SP-EtOH_{PA} (0,1 – 729 µg/mL, n = 5) relaxou de maneira dependente de concentração e significativa o íleo de cobaia pré-contraído com 40 mM de KCl ($CE_{50} = 47,5 \pm 4,4$ µg/mL), com 10^{-6} M de CCh ($CE_{50} = 49,9 \pm 7,3$ µg/mL) ou com 10^{-6} M de histamina ($CE_{50} = 65,0 \pm 5,3$ µg/mL), sendo 1,3 vezes mais potente para KCl quando comparado a histamina. Como o passo comum da via de sinalização destes agentes contráteis são os canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_V), investigou-se a participação destes no mecanismo de ação do SP-EtOH_{PA}, n = 5. As curvas controle cumulativas ao $CaCl_2$ foram desviadas para direita de forma não paralela e com redução do E_{\max} de 100% para $27,7 \pm 3,0\%$ e o valor de CE_{50} do $CaCl_2$ passou de $1,4 \pm 0,1 \times 10^{-3}$ M para $6,5 \pm 0,7 \times 10^{-3}$ M na maior concentração do extrato (729 µg/mL), porém sem dependência de concentração, sugerindo que o extrato poderia está agindo indiretamente sobre os Ca_V . Como os Ca_V são modulados pelos canais de K^+ , investigou-se a participação desses canais (n = 5). A potência relaxante do SP-EtOH_{PA} ($CE_{50} = 65,0 \pm 5,3$ µg/mL) foi reduzida quando na presença de CsCl, um bloqueador inespecífico dos canais de K^+ ($CE_{50} = 89,0 \pm 3,0$ µg/mL), sugerindo a modulação positiva desses canais, o que levaria a uma hiperpolarização de membrana com consequente bloqueio dos Ca_V e relaxamento do músculo liso intestinal.

Palavras-chave: *Solanum paniculatum*, ação espasmolítica, íleo de cobaia.

Abstract

ABSTRACT

Solanum paniculatum L. popularly known as "jurubeba-verdadeira." Recently been demonstrated spasmolytic and antidiarrheal activities for the crude ethanolic extract of the aerial parts of this species. Therefore, the aim of this work was to investigate and compare possible spasmolytic activity of ethanolic extracts extracted of the aerial parts (SP-EtOH_{PA}) and roots (SP-EtOH_R) of *Solanum paniculatum* in smooth muscle models and elucidate action mechanism of the extract to present the better spasmolytic effect in one of the tested organs. **Rat aorta:** SP-EtOH_{PA} and SP-EtOH_R (243 and 729 µg/mL, n = 3) relaxed organ to pre-contracted with phenylephrine (3×10^{-7} M) in the presence ($E_{\max} = 59.3 \pm 7.1$ and $57.0 \pm 3.2\%$, respectively) or absence ($E_{\max} = 58.3 \pm 6.7$ and $66.3 \pm 4.1\%$ respectively) functional endothelium. **Guinea pig trachea:** SP-EtOH_{PA} and SP-EtOH_R (243 and 729 µg/mL, n = 3) relaxed organ pre contracted with carbachol (CCh, 10^{-6} M) in the presence ($E_{\max} = 56.8 \pm 2.7$ and $52.7 \pm 2.9\%$, respectively) or absence ($E_{\max} = 30.0 \pm 1.5$ and $73.6 \pm 9.2\%$, respectively) of the functional epithelium. **Rat uterus:** SP-EtOH_{PA} (243 and 729 µg/mL, n = 3) had no significantly tocolytic effect front of phasic contractions induced by 10^{-2} UI/mL of oxytocin ($E_{\max} = 6.3 \pm 3.5\%$) and 10^{-5} M CCh ($E_{\max} = 0.3 \pm 0.3\%$), while SP-EtOH_R (243 and 729 mg/ mL) inhibited in a significant way the phasic contractions induced by oxytocin (10^{-2} UI/mL) or CCh (10^{-5} M) ($E_{\max} = 40.2 \pm 10.2$ and $47.0 \pm 8.9\%$, respectively). **Guinea pig ileum:** SP-EtOH_R (243 and 729 µg/mL, n = 3) inhibited significantly the phasic contractions induced by CCh ($E_{\max} = 65.3 \pm 8.5\%$) or histamine (10^{-6} M, $E_{\max} = 58.8 \pm 3.9\%$). Clementino-Neto (2012) related that SP-EtOH_{PA} showed spasmolytic effect front of the phasic contractions induced by CCh ($E_{\max} = 81.2 \pm 5.4\%$) and histamine ($E_{\max} = 93.9 \pm 1.2\%$). Thus, So we decided to characterize the action mechanism of SP-EtOH_{PA} on this organ that proved to be more effective. SP-EtOH_{PA} (0.1 to 729 µg/mL, n = 5) relaxed the ileum in a significant and concentration-dependent manner with 40 mM KCl ($EC_{50} = 47.5 \pm 4.4$ µg/mL), 10^{-6} M CCh ($EC_{50} = 49.9 \pm 7.3$ µg/mL) or 10^{-6} M histamine ($EC_{50} = 65.0 \pm 5.3$ µg/mL) and 1.3 times more potent to KCl when compared to histamine. How the common pathway of signaling of these contractile agents are the voltage-gated Ca^{2+} channels (Ca_v), we investigated their involvement in mechanism of action of SP-EtOH_{PA}, n = 5. The control cumulative curves of $CaCl_2$ were diverted to the right a non-parallel form and reduction of the E_{\max} to 100% fo $27.7 \pm 3.0\%$ and EC_{50} of $CaCl_2$ value increased from $1.4 \pm 0.1 \times 10^{-3}$ M to $6.5 \pm 0.7 \times 10^{-3}$ M at the highest concentration of the extract (729 µg/mL), but without concentration dependence, suggesting the extract could act indirectly on Ca_v . As Ca_v are modulated by K^+ channels, we investigated the involvement of these channels (n = 5). The relaxing potency of SP-EtOH_{PA} ($EC_{50} = 65.0 \pm 5.3$ µg/mL) was reduced in the presence of CsCl, a nonspecific blocker of K^+ channels ($EC_{50} = 89.0 \pm 3.0$ µg/mL), suggesting the upregulation of these channels, leading to hyperpolarization the membrane with consequent blocking of Ca_v and relaxation of intestinal smooth muscle.

Keywords: *Solanum paniculatum*, spasmolytic action, guinea pig ileum.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Foto de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)31
- Figura 2** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em anéis de aorta de rato pré-contraídos com 3×10^{-7} M de fenilefrina na presença (**A**) e na ausência (**B**) de endotélio funcional.52
- Figura 3** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_R em anéis de aorta de rato pré-contraídos com 3×10^{-7} M de fenilefrina na presença (**A**) e na ausência (**B**) de endotélio funcional.53
- Figura 4** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em anéis de traqueia de cobaia pré-contraídos com 10^{-6} M de carbacol na presença (**A**) e na ausência (**B**) de epitélio funcional...55
- Figura 5** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_R em anéis de traqueia de cobaia pré-contraídos com 10^{-6} M de carbacol na presença (**A**) e na ausência (**B**) de epitélio funcional..56
- Figura 6** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (**A**), por 10^{-5} M de carbacol (**B**) ou por 10^{-5} M de histamina (**C**) em íleo de cobaia.66
- Figura 7** – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 10^{-6} M de histamina na ausência (**A**) e na presença (**B**) de 5 mM de CsCl em íleo de cobaia.71
- Figura 8** – Esquema representativo do mecanismo de ação relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo isolado de cobaia.....82

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Efeito do SP-EtOH_{PA} frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻² UI/mL de ocitocina (**A**) e por 10⁻⁵ M de carbacol (**B**) em útero de rata.....59
- Gráfico 2** – Efeito do SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻² UI/mL de ocitocina (**A**) e por 10⁻⁵ M de carbacol (**B**) em útero de rata.....60
- Gráfico 3** – Efeito do SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻⁶ M de carbacol (**A**) e de histamina (**B**) em íleo de cobaia.....63
- Gráfico 4** – Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (●), 10⁻⁵ M de CCh (▲) e 10⁻⁶ M de histamina (■) em íleo de cobaia67
- Gráfico 5** – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺ na ausência (●) e na presença do extrato SP-EtOH_{PA} nas concentrações de 27 (■), 81 (▲), 243 (▼) e 729 (◆) µg/mL, em íleo de cobaia69
- Gráfico 6** – Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 10⁻⁶ M de histamina na ausência (■) e na presença (▲) de 5 mM de CsCl, em íleo de cobaia72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Valores de E_{max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por 3×10^{-7} M de fenilefrina em anéis de aorta de rato53
- Tabela 2** – Valores de E_{max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas 10^{-6} M de carbacol em anéis de traqueia de cobaia....57
- Tabela 3** – Valores de E_{max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina e por 10^{-5} M de carbacol em útero de rata61
- Tabela 4** – Valores de E_{max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-6} M de carbacol e de histamina em íleo de cobaia64
- Tabela 5** – Valores de E_{max} (%) e de CE_{50} (μ g/mL) do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl, por 10^{-5} M de carbacol ou por 10^{-6} M histamina em íleo de cobaia67
- Tabela 6** – Valores de E_{max} (%) e de CE_{50} (M) do $CaCl_2$ na ausência (controle) e na presença do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia.....69
- Tabela 7** – Valores de E_{max} (%) e de CE_{50} (μ g/mL) do extrato SP-EtOH_{PA} na ausência (controle) e na presença de CsCl72

LISTA DE ABREVIATURAS

[(Ca²⁺)₄-CaM]	complexo cálcio-calmodulina
[Ca²⁺]	concentração de Ca ²⁺
[Ca²⁺]_c	concentração de Ca ²⁺ citosólico
[K⁺]_e	concentração extracelular de potássio
AA	ácido araquidônico
AC	ciclase de adenilil
ACh	acetilcolina
AMP_c	monosfato cíclico de adenosina
ANOVA	análise de variância
ATP	trifosfato de adenosina
BK_{Ca}	canais de potássio ativados por cálcio de grande condutância
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
CEUA	Comissão de Ética no Uso Animal
CE₅₀	concentração de uma substância necessária para produzir 50% de seu efeito máximo
CI₅₀	concentração de uma substância que inibem 50% do efeito máximo produzido por um agonista
CPI-17	inibidor da fosfatase da miosina potencializado pela PKC
DAG	diacilglicerol
e.p.m.	erro padrão da média
E_{max}	efeito máximo

FEN	fenilefrina
G_{q/11}	proteína G _q ou proteína G ₁₁
G_{αq}	subunidade α da proteína G _q
G_{12/13}	proteína G ₁₂ ou proteína G ₁₃
GC_s	ciclase de guanilil solúvel
GMPc	monofosfato cíclico de guanosina
GPCR	receptor acoplado à proteína G
GTP	trifosfato de guanosina
Hist	histamina
IP₃	1,4,5-trifosfato de inositol
IP₃ R	receptor de IP ₃
K_{ATP}	canais de potássio sensíveis ao ATP
K_{Ca}	canais de potássio ativados por cálcio
K_v	canais de potássio dependentes de voltagem
MLC	cadeia leve da miosina
MLCK	cinase da cadeia leve da miosina
MLCP	fosfatase da cadeia leve da miosina
MYPT1	subunidade 1 condutora da fosfatase da miosina
NO	óxido nítrico
OCI	ocitocina
PIP₂	4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol
PKA	proteína cinase dependente de AMPc
PKG	proteína cinase dependente de GMPc
PLC	fosfolipase C
PLD	fosfolipase D
PMCA	Ca ²⁺ -ATPase da membrana plasmática

RENAFITO	Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
RhoA	pequena proteína G ligante de GTP
RhoGEFs	pequena proteína G associada a um fator de troca de nucleotídeos de guanina
ROCK	cinase dependente de RhoA
RyR	receptor de rianodina
RS	retículo sarcoplasmático
SERCA	Ca ²⁺ -ATPase do retículo endo-sarcoplasmático
SK_{Ca}	canais de potássio ativados por cálcio de pequena condutância
SP-EtOH_{PA}	extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> L.
SP-EtOH_R	extrato etanólico bruto obtido das raízes de <i>S. paniculatum</i> L.
TEA⁺	íon tetraetilamônio
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

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	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1 Produtos Naturais e a Fitoterapia no Brasil	27
2.2 A família Solanaceae, o gênero <i>Solanum</i> e a espécie <i>Solanum paniculatum</i> L.	30
2.3 Fisiologia da contração e relaxamento do músculo liso	33
3 OBJETIVOS	38
3.1 Geral	39
3.2 Específicos	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 Material	41
4.1.1 Material Botânico.....	41
4.1.2 Produtos-teste	41
4.1.3 Animais.....	41
4.1.4 Drogas e Reagentes.....	42
4.1.5 Soluções nutritivas	42
4.1.6 Preparação da solução dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R para os ensaios farmacológicos	43
4.1.7 Aparelhos	43
4.2 Métodos	44
4.2.1 Triagem farmacológica preliminar	44
4.2.1.1 Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por FEN em aorta isolada de rato	44
4.2.1.2 Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por CCh em traqueia isolada de cobaia	45

4.2.1.3 Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R frente às contrações fásicas induzidas por ocitocina ou por CCh em útero isolado de rata	46
4.2.1.4 Efeito do extrato SP-EtOH _R frente às contrações fásicas induzidas por CCh ou por histamina em íleo isolado de cobaia	47
4.2.2 Investigação do mecanismo de ação do extrato SP-EtOH _{PA} em íleo isolado de cobaia.....	48
4.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por CCh ou por histamina.....	48
4.2.2.2 Avaliação do influxo de cálcio no efeito relaxante do extrato SP-EtOH _{PA} ...	48
4.2.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} frente às contrações induzidas por CaCl ₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca ²⁺	48
4.2.2.3 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio no efeito relaxante produzido pelo extrato SP-EtOH _{PA}	49
4.2.2.3.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por histamina, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl).....	49
4.3 Análise estatística	49
5 RESULTADOS.....	50
5.1 Triagem farmacológica preliminar	51
5.1.1 Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por FEN em aorta isolada de rato	51
5.1.2. Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R sobre as contrações tônicas induzidas por CCh em traqueia isolada de cobaia	54
5.1.3 Efeito dos extratos SP-EtOH _{PA} e SP-EtOH _R frente às contrações fásicas induzidas por ocitocina ou por CCh em útero isolado de rata	58
5.1.4 Efeito do extrato SP-EtOH _R frente às contrações fásicas induzidas por CCh ou por histamina em íleo isolado de cobaia	62
5.2 Investigação do mecanismo de ação do extrato SP-EtOH _{PA} em íleo isolado de cobaia.....	65

5.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por CCh ou por histamina.....	65
5.2.2 Avaliação do influxo de cálcio no efeito relaxante do extrato SP-EtOH _{PA}	68
5.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} frente às contrações induzidas por CaCl ₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca ²⁺	68
5.2.3 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio no efeito relaxante produzido pelo extrato SP-EtOH _{PA}	70
5.2.3.1 Efeito do extrato SP-EtOH _{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por histamina, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)	70
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS.....	83
ANEXO	97
Anexo A: Certidão de aprovação da Comissão Ética no Uso Animal (CEUA).....	98

i Introdução

Os produtos naturais são utilizados desde os primórdios da humanidade. A busca por alívio e cura de doenças por meio da ingestão de ervas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Cerca de 30% de todas as drogas disponíveis como agentes terapêuticos são produtos naturais ou derivados deles (CALIXTO, 2005).

Diversas razões foram apresentadas para explicar o sucesso de produtos naturais na descoberta de drogas: alta diversidade química, criação de moléculas biologicamente ativas através da evolução e a semelhança estrutural com alvos proteicos em muitas espécies (HENKEL et al., 1999; FEHER; SCHMIDT, 2003).

Os produtos naturais, especialmente os de origem vegetal, continuam sendo fontes de substâncias potencialmente aplicáveis com propriedades biológicas, farmacológicas ou terapêuticas (CALIXTO, 2005). Estima-se que das 300 mil espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos farmacêuticos (BRANDÃO et al., 2010).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, contando com uma flora rica, na qual se estima existir aproximadamente 55 mil espécies vegetais, sendo assim um vasto celeiro de moléculas a serem descobertas, vislumbrando sua utilização como fonte de recursos terapêuticos (FOGLIO et al., 2006). Esse fato desperta grande interesse de comunidades científicas em 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).

Os estudos envolvendo plantas medicinais aumentam mundialmente devido a fatores como: a exigência da população por um modelo de vida mais saudável e natural. Apesar dos obstáculos presentes no desenvolvimento de fármacos baseados em derivados de plantas, o interesse da indústria farmacêutica pela procura de substâncias vegetais biologicamente ativas foi reativado na década de 90. Embora avanços tecnológicos importantes tenham sido conquistados pela química sintética, muitos compostos bioativos isolados de plantas são formados por

misturas de moléculas complexas, tornando sua obtenção no laboratório um processo por vezes inviável (WALSH; FISCHBACH, 2010).

Nesse sentido, o interesse em investigar produtos de plantas ou seus derivados com atividade sobre a musculatura lisa reside no fato de que substâncias espasmolíticas têm uma vasta aplicação em vários processos fisiopatológicos, tais como: hipertensão, arritmia cardíaca, angina pectoris, asma, espasmos tanto uterinos como intestinais e diarreia. Além disso, como os mecanismos de contração e de relaxamento muscular envolvem mobilizações de íons cálcio e este íon medeia grande parte das ações de substâncias no nosso organismo, o modelo do músculo liso se apresenta como meio relativamente simples e eficaz para se investigar mecanismos de ação de substâncias que envolvem a sinalização do cálcio (WEBB, 2003).

Dentre os vários gêneros presentes na família Solanaceae, destaca-se o gênero *Solanum*, que possui várias atividades farmacológicas descritas e relacionadas à musculatura lisa (OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2007; CLAUDINO, 2003; CAVALCANTE et al., 2013; SANTOS et al., 2003; CORREIA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2006a,b; SILVA, 2005; SANTOS, 2006; SILVA, 2005; SANTOS, 2006; COSTA, 2006; MONTEIRO et al., 2012; CORREIA et al., 2011).

Diante do exposto, objetivou-se investigar uma possível atividade espasmolítica de *S. paniculatum* L., utilizando como modelo experimental a musculatura lisa vascular, das vias aéreas superiores, uterina e intestinal através da comparação dos efeitos apresentados pelos extratos obtidos das partes aéreas com os obtidos das raízes da espécie citada.

*2 Revisão
bibliográfica*

2.1 Produtos Naturais e a Fitoterapia no Brasil

A busca para o alívio e/ou a cura das doenças pelo homem por milhares de anos era conseguida através da utilização dos produtos naturais, os quais existiam na forma de tinturas, chás e pós (BALICK, 1997; VIEGAS-JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Antes da “era sintética”, no início do ano de 1900, registrou-se que 80% dos remédios eram obtidos através de raízes, cascas e folhas (McCHESNEY; VENKATARAMAN; HENRI, 2007).

Na década de 40, com a segunda guerra mundial, os conflitos entre os povos impulsionaram o desenvolvimento tecnológico, principalmente da indústria farmacêutica. Esta aproveitou o desenvolvimento da informática e investiu no planejamento racional de fármacos. A ideia que se tinha era a de que seria possível a descoberta de moléculas biologicamente ativas e que combateriam todos os males da sociedade. Porém, a indústria farmacêutica divulgou que em 2004 o investimento na química computacional não correspondeu a um aumento proporcional no lançamento de fármacos inovadores. Além disso, a maioria da população não tem poder aquisitivo para compra de medicamentos inovadores (VIEGAS-JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Diante disso, houve um ressurgimento dos produtos naturais para a descoberta de novos fármacos ou mesmo de fitoterápicos, o que incentivou a pesquisa científica para a comprovação dos efeitos observados empiricamente (SIXEL; PECINALLI, 2005).

A atual relevância da medicina tradicional para a humanidade é atestada por números da Organização Mundial de Saúde (OMS), que estima que entre 75 e 80% da população mundial utiliza essa modalidade de medicina (ALVES; ROSA, 2005) e aproximadamente 25% dos medicamentos prescritos são ainda provenientes, direta ou indiretamente, das plantas (FOWLER, 2006).

Em estudo realizado por Agra et al. (2008) foi demonstrado que o uso da medicina tradicional em todas as partes do mundo tem crescente importância econômica, principalmente através da utilização de plantas medicinais que têm uma posição respeitável atualmente, especialmente nos países em desenvolvimento, onde o serviço de saúde moderno é limitado e representa a única forma de tratamento acessível.

Nas últimas décadas, o interesse pela fitoterapia teve um aumento considerável entre usuários, pesquisadores e serviços de saúde (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011). Os produtos naturais vêm recuperando espaço e importância na indústria farmacêutica, sendo fonte e inspiração para uma grande fração da atual farmacopeia (KINGSTON, 2011).

Independente da razão pela qual os produtos naturais são largamente usados na produção de drogas, alguns dados merecem ser destacados. Em uma extensa análise de novas drogas introduzidas entre 1981 e 2008, 33% das 1024 novas substâncias químicas foram produtos naturais ou derivados destes, com outros 5% criados a partir de um produto natural. Ao considerar as atividades farmacológicas, 68,3% de agentes anti-infecciosos (bactericidas, antifúngicos, antiparasitários e antivirais) foram classificados como de origem natural ou oriundos destes, enquanto que na área de tratamento do câncer cerca de 80% das novas drogas descobertas são produtos naturais ou inspirados nestes (CRAGG; GROTHAUS; NEWMAN, 2009).

É visível o interesse em trabalhar com fitoterapia nos últimos anos. Na última década, registrou-se um aumento expressivo no interesse em substâncias derivadas de espécies vegetais, o que incentivou a pesquisa científica para a comprovação dos efeitos observados empiricamente. Outro fator que incentiva esses estudos com espécies vegetais é a complexidade na descoberta de novas drogas; alguns estudos mostram que são necessários de sete a dez anos para o desenvolvimento completo de um novo medicamento (FLISCHER; MONTARI, 1995; CALIXTO, 2000; SIXEL; PECINALLI, 2005). O Brasil, com tamanha biodiversidade, tem condições de ser um dos principais países a adotar a fitoterapia como uma alternativa segura e eficaz no tratamento de várias patologias, nesse sentido algumas medidas foram adotadas pelo Governo Federal (OLIVEIRA, 2013).

Foi aprovado em junho 2006 o Decreto 5.813 que cria a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, a qual estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações voltadas à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, assim como ao fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, ao uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde (BRASIL, 2006).

O passo seguinte dado pelo Governo Federal em relação ao uso de plantas medicinais no Brasil foi a criação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) em 2008. Criada com a finalidade de auxiliar o desenvolvimento de toda cadeia produtiva e orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (RENAFITO). A RENISUS é composta por uma lista de 71 espécies vegetais já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais, considerando o conhecimento tradicional e popular, e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis (BRASIL, 2012). Estão presentes na RENISUS espécies listadas pelo seu nome científico (BRASIL, 2009).

Atualmente, 12 medicamentos fitoterápicos estão disponibilizados na rede pública de saúde para o tratamento da dor, de inflamações e de disfunções, além de outras doenças de baixa gravidade sendo eles: espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), guaco (*Mikania glomerata*), alcachofra (*Cynara scolymus*), aroeira (*Schinus terebenthifolius*), cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana*), garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens*), isoflavona-de-soja (*Glycine max*), unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*), hortelã (*Mentha x piperita*), babosa (*Aloe vera*), salgueiro (*Salix alba*), plantago (*Plantago ovata forssk*). (BRASIL, 2013a).

Quanto à comercialização de medicamentos fitoterápicos, as principais classes terapêuticas comercializadas no Brasil são indicadas como psicolépticos (sedativos, ansiolíticos e antidepressivos), antivaricosos, anti-hemorroidários, auxiliares digestivos e hepáticos, antiespasmódicos, tônicos, laxantes, descongestionantes, antigripais e para auxiliar na circulação cerebral (VALEZE; BREZAN, 2011). No Brasil, as especialidades farmacêuticas mais comercializadas são o Tebonin[®] e o Tanakan[®] (*Gingko biloba*) indicados para distúrbios vestibulares e cerebrais, o Laitan[®] (*Piper methysticum*) indicado como ansiolítico (SCHULZ; HANSEL; TYLER, 2002) e o Acheflan[®] (*Cordia verbenacea* DC.) indicado como anti-inflamatório de uso tópico (HENRIQUE et al., 2009).

Apesar dos esforços realizados ao longo da última década, observa-se certa discrepância entre a enorme biodiversidade brasileira e a evolução da produção de fitoterápicos no país. Dessa forma, faz-se necessário maior incentivo por parte do governo federal e real esforço por parte dos cientistas brasileiros em comprovar as indicações das plantas medicinais utilizadas pela população e/ou pesquisar drogas complexas que possam vir a se tornarem fitoterápicos (OLIVEIRA, 2013).

2.2 A família Solanaceae, o gênero *Solanum* e a espécie *Solanum paniculatum* L.

No nordeste brasileiro estão presentes várias famílias de Angiospermas, dentre elas destaca-se a Solanaceae A. L. Jussieu, constituída por aproximadamente 100 gêneros e 2.500 espécies (OLMSTEAD et al., 2008), com distribuição cosmopolita, tendo a América do Sul como um dos principais centros de diversidade e endemismo (HUNZIKER, 2001), possuindo importância econômica, tanto por suas espécies serem utilizadas na alimentação humana, sendo exemplos 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, como por exemplo, a atropina (*Atropa belladonna* L.), a nicotina (*Nicotiana tabacum* L.), entre outras (AGRA, 2000).

O gênero *Solanum*, pertencente à família Solanaceae, é um dos mais amplos do reino vegetal com cerca de 1500 espécies (BOHS, 2007). No Brasil, o gênero está representado por 260 espécies, das quais 127 são endêmicas (AGRA, 2004). Estas espécies podem ser encontradas na região Sudeste (CARVALHO; COSTA; DUARTE, 2001), Sul (MENTZ; OLIVEIRA, 2004) e Nordeste (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007), sendo que 22 destas são encontradas na Paraíba (AGRA; NURIT-SILVA; BERGER, 2009).

Em relação às atividades biológicas apresentadas por espécies do gênero *Solanum*, pode-se citar as atividades hipotensora, apresentada por *Solanum paniculatum* L., *Solanum stipulaceum* Roem. & Schult., *Solanum melongena* L. e *Solanum sisymbriifolium* Lam. (ALMEIDA et al., 1985; RIBEIRO et al., 1986; SHUM; CHIU, 1991; IBARROLA et al., 2000; RIBEIRO et al., 2002); antitumoral, relatada para *Solanum dulcamara* L. e *Solanum sodomaeum* L. (KUPCHAN et al., 1965; CHAM, 1994); depressora sobre o sistema nervoso central, referida para *Solanum nigrum* L. (PEREZ et al., 1998); antimicrobiana, mencionada para *Solanum torvum* Sw. (CHAH; MUKO; OBOEGBULEM, 2000); moluscicida, apresentada por *Solanum aculeastrum* Dunal (WANYONYI et al., 2002) e antidiarreica evidenciada pelas espécies *Solanum paludosum* Moric., *Solanum asterophorum* Mart e *Solanum*

paniculatum L. (LIMA et al., 2010; SILVA et al., 2012, CLEMENTINO-NETO, 2012; VASCONCELOS et al., 2012).

Há comprovações de atividades farmacológicas relacionadas à musculatura lisa, como por exemplo: *Solanum dulcamara* L. (BOYD, 1928), *Solanum torvum* Sw. (BHAKUNI et al., 1969), *Solanum indicum* L. (ABRAHAM et al., 1986), *Solanum paraibanum* Agra (OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2007), *Solanum jabrense* Agra & Nee (CLAUDINO, 2003; CAVALCANTE et al., 2013), *Solanum agrarium* Sendtn. (SANTOS et al., 2003; CORREIA, 2007), *Solanum megalonyx* Sendtn e *Solanum asterophorum* Mart. (OLIVEIRA et al., 2006a,b), *Solanum paludosum* (SILVA, 2005; SANTOS, 2006), *Solanum asperum* Rich. (COSTA, 2006; CORREIA, 2007; GARCIA, 2007) e *Solanum paludosum* Moric. (ATAÍDE, 1982; SILVA et al., 2002; DUARTE et al., 2003; SILVA, 2005; SANTOS, 2006; COSTA, 2006; MONTEIRO et al., 2012; CORREIA et al., 2011)

Solanum paniculatum L. (Figura 1) é uma espécie arbustiva, com até 3 metros de altura, conhecida popularmente como “jurubeba-verdadeira”, “jurupeba”, “juripiba”, “jurubebinha”, “jupeba”, “juvena” e “juuína” (CORRÊA, 1974; MATOS-FILHO, 1997; RODRIGUES; CARVALHO, 2001; SANTOS, 1996). É encontrada na zona tropical do continente americano, ocorrendo das Guianas até os estados de Minas Gerais e São Paulo, principalmente em lavouras, pastagens, beiras de estradas, rios e terrenos baldios (COSTA, 1975).

Figura 1 – Fotografia de *Solanum paniculatum* L.



Fonte: <http://www.rain-tree.com/Plant-Images/>

Na medicina popular, as raízes, o caule, as folhas e os frutos de *S. paniculatum* são empregados como tônicos, antianêmicos, anti-inflamatórios, carminativos, colagogos, estimulantes digestivos, diuréticos, emenagogos, febrífugos, hepatoprotetores, estomáquicos, cicatrizantes e no tratamento de hidropisias e tumores do útero e abdômen (COSTA, 1940; CRUZ, 1995, MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000).

Vale ressaltar que *S. paniculatum* pertence à Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), que por sua vez é constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS (BRASIL, 2013). Além disso, é encontrada na primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira como específica para anemia e desordens do fígado (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1959).

Esta espécie também é utilizada em várias formulações farmacêuticas, incluindo: chás, infusões, decocções, extratos, tinturas e elixires etanólicos (COSTA, 1940). A infusão de suas flores é indicada para bronquites, a da sua raiz macerada para artrites e seus frutos para anemia (MATOS, 1987). Além disso, é observada a sua presença na composição de alguns fitoterápicos já existentes no mercado, como por exemplo, Ierobina® e Infalivina®, ambos utilizados para o tratamento de transtornos gástricos ou dispepsias (BOTION et al., 2006).

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado no Chemical Abstract, NAPRALERT (NATural PROducts ALERT) e em diversos sites científicos, verificou-se diversas atividades farmacológicas para esta espécie. Mesia-Vela et al. (2002) ao investigarem a atividade antiulcerogênica de várias partes da planta, verificaram que os extratos aquosos das raízes, do caule e das flores desta espécie inibiram a secreção de ácido gástrico, enquanto o extrato dos frutos estimulou a secreção. A raiz apresentou maior atividade antissecretora de ácido gástrico em relação às demais partes estudadas e nenhum efeito foi observado com o extrato das folhas.

Ribeiro et al. (2007) relataram a atividade antioxidante *in vitro* para os extratos etanólico e aquoso das folhas de *S. paniculatum*. Burger et al. (2008) descreveram a atividade coagulante *in vitro* para as frações acetato de etila e metanólica dos frutos de *S. paniculatum*, empregando a peçonha da serpente *Bothrops pauloensis*. Segundo os autores, a atividade apresentada pelas frações está relacionada à presença dos alcaloides característicos da família Solanaceae.

Em decorrência da grande utilização de *S. paniculatum* pela população com finalidades medicinais, as atividades mutagênica, antimutagênica e citotóxica foram avaliadas *in vivo* empregando-se extratos etanólicos das folhas e frutos. O extrato das folhas não apresentou ação mutagênica, no entanto, em doses elevadas (300 mg/kg), exibiu atividade citotóxica. Já o extrato dos frutos apresentou atividade mutagênica na dose de 200 mg/kg e ação citotóxica na dose de 300 mg/kg (VIEIRA, 2007). O potencial citotóxico também foi avaliado *in vitro*, empregando células somáticas de *Drosophila melanogaster*, sendo a espécie classificada como de baixa citotoxicidade (taxa de sobrevivência de 84% para *S. paniculatum* e 87% para controle negativo) (RIBEIRO et al., 2008).

Do ponto de vista químico, foram isolados dessa planta muitos compostos esteroides e alcaloides. Dentre os alcaloides inclui-se a jurubebina, a jubebina e a solanina, além de resinas (SIQUEIRA-JACOUND; PEREIRA; LAINETTI, 1982; COSTA, 1940). Foram detectadas nos frutos a frutose, glicose e galactose (LEEKNING; ROCCA, 1968) e a solanina foi isolada de suas raízes e caules (SIQUEIRA; MACAN, 1976). Saponinas também foram encontradas nas raízes deste vegetal (SCHREIBER et al., 1965). Esses compostos apresentam ainda algum efeito tóxico, de modo que não se recomenda a ingestão frequente de preparações de jurubeba (ZURLO; BRANDÃO, 1990).

Recentemente, foi demonstrado que extrato etanólico obtido das partes aéreas de *Solanum paniculatum* SP-EtOH_{PA} apresentou efeitos antidiarreico em camundongos e espasmolítico em íleo de cobaia (CLEMENTINO-NETO, 2012).

2.3 Fisiologia da contração e do relaxamento do músculo liso

Sabendo-se da importância dos produtos naturais como fonte de substâncias potencialmente terapêuticas, há um grande interesse em se investigar drogas obtidas diretamente de plantas ou seus derivados que atuem na musculatura lisa, visto que esse músculo é o principal responsável pelo controle da maioria dos órgãos e sistemas do corpo. As células da musculatura lisa estão presentes nas paredes de vários órgãos, incluindo os vasos sanguíneos, estômago, intestinos, bexiga e vias aéreas. A regulação da contração do músculo liso apresenta um papel importante em muitos processos fisiopatológicos autonômicos. Por exemplo, a contração anormal do músculo liso é importante em condições, como a hipertensão

arterial, vasoespasmos cerebrais e coronarianos, asma brônquica, disfunção erétil e possíveis complicações no trabalho de parto (WEBB, 2003).

No músculo liso um aumento na concentração citosólica de cálcio livre ($[Ca^{2+}]_c$) é a causa primária para a produção da contração. Esta elevação no conteúdo citosólico de Ca^{2+} também está envolvida na proliferação celular do músculo liso (VAN BREEMEN; SAIDA, 1989).

O Ca^{2+} é um importante segundo mensageiro que desempenha um papel essencial a uma grande variedade de processos biológicos, incluindo a regulação enzimática, expressão gênica, tráfego de proteína, proliferação celular, apoptose e a coordenação do acoplamento excitação-contração do músculo (CARAFOLI, 2002). Em geral, existem duas fontes deste íon sinalizador na célula: uma extracelular, que permite o influxo de Ca^{2+} para o citoplasma através dos canais na membrana plasmática, e outra intracelular, representada pelos estoques internos, principalmente o retículo sarcoplasmático (RS), que liberam Ca^{2+} para o citosol (PAN; MA, 2003).

A principal porta de entrada para o Ca^{2+} que vem do meio extracelular são os canais de cálcio dependentes de voltagem (Ca_V) (CATTERALL, 2005), os quais estão presentes na membrana celular da maioria das células excitáveis (ALEXANDER; MATHIE; PETERS, 2007). A entrada de cálcio em músculo liso visceral é controlada pelo potencial de membrana, uma vez que este determina a abertura de Ca_V (SHMIGOL; EISNER; WRAY, 1998; WRAY et al., 2001). Os Ca_V1 (ativados por alta voltagem e sensíveis às di-hidropiridinas) são os principais e, muitas vezes, o único tipo de canal de Ca^{2+} expresso em muitos músculos lisos (THORNELOE; NELSON, 2005; WRAY; BURDYGA; NOBLE, 2005).

A família dos canais de Ca^{2+} possui 10 tipos de Ca_V , classificados segundo sua sequência primária de aminoácidos e suas funções fisiológicas subdivididos em três subfamílias: 1) Ca_V1 ou Ca_V-L ($Ca_V1.1$, $Ca_V1.2$, $Ca_V1.3$ e $Ca_V1.4$) sensíveis à di-hidropiridinas, ativados por alta voltagem e os principais envolvidos no acoplamento excitação-contração –2) Ca_V2 ou Ca_V-P/Q ($Ca_V2.1$); Ca_V-N ($Ca_V2.2$); Ca_V-R ($Ca_V2.3$) insensíveis à di-hidropiridinas, sensíveis à alta voltagem e à toxinas de aranha e caramujo marinho (ω -agatoxina, ω -conotoxin e SNX-482), são expressos principalmente em neurônios; 3) Ca_V3 ou Ca_V-T ($Ca_V3.1$, $Ca_V3.2$ e $Ca_V3.3$) ativados por baixa voltagem, insensíveis à di-hidropiridinas e às toxinas de aranha e caramujo marinho, são transitórios e expressos em vários tipos celulares, onde estão

envolvidos na formação do potencial de ação com padrões repetitivos (CATTERALL, 2011).

O aumento da $[Ca^{2+}]_c$ no músculo liso favorece a ligação do cálcio à calmodulina (CaM) e este complexo ativa a cinase da cadeia leve da miosina (MLCK) para fosforilar a cadeia leve da miosina (MLC) e promover a interação de miosina com actina, levando a contração. No músculo liso, a contração pode ser alcançada quer através da despolarização da membrana (acoplamento eletromecânico), levando a um aumento da $[Ca^{2+}]_c$ e contração muscular, ou induzida por um agonista (acoplamento fármaco-mecânico) que pode ser independente do potencial de membrana (SOMLYO; SOMLYO, 2003). Os agonistas, tais como, ocitocina, serotonina, carbacol e histamina se ligam a receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e ativam a cascata do 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP_2), geralmente através da proteína $G_{q/11}$, mediando a produção de 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3), que estimulam a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RS) (FUKATA; AMANO; KAIBUCHI, 2001). Os agonistas contráteis podem também elevar a $[Ca^{2+}]_c$ através de receptores de rianodina (RyR) e estimular a entrada de Ca^{2+} através dos múltiplos tipos de canais, incluindo canais de Ca^{2+} operados por estoque, por receptor ou por voltagem (SANDERS, 2001; McFADZEAN; GIBSON, 2002).

A diferença fundamental entre a contração do músculo liso inicial e a manutenção dessa contração é o equilíbrio entre MLCK e a atividade da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP), esse balanço age como um mecanismo regulador reversível de fosforilação/desfosforilação que integra a contração no músculo liso (WATTERSON; RATZ; SPIEGEL, 2005). A MLCP consiste em 3 subunidades: uma catalítica, PP1c; uma regulatória, MYPT1 e outra de 20 kDa de função ainda desconhecida (SOMLYO; SOMLYO, 2003). A ROCK, uma cinase de serina/treonina, fosforila a subunidade de ligação da miosina da MLCP, inibindo a sua atividade e, assim, promovendo o estado fosforilado da MLC. Inibidores farmacológicos da ROCK, como o Y-27632, bloqueiam a sua atividade por competir com o sítio de ligação do nucleotídeo trifosfato de guanosina (GTP) na enzima (CHITALEY; WEBER; WEBB, 2001; UEHATA et al., 1997).

Os mecanismos que levam a inibição da MLCP são iniciados pela ativação da pequena proteína G ligante de GTP (RhoA), dependente das proteínas G heterotriméricas $G_{12/13}$ e $G_{q/11}$, via uma pequena proteína G associada a um fator de

troca de nucleotídeos de guanina (RhoGEFs). A RhoGEFs faz com que a RhoA troque nucleotídeos difosfato de guanosina (GDP) por GTP, sendo translocada para a membrana, e uma vez RhoA-GTP ligado estimula a sua cinase associada (ROCK) (EXTON, 1997; MURTHY, 2006). Embora a ROCK fosforile diretamente a MLC (TOTSUKAWA et al., 2000), sua ação principal na sensibilização ao cálcio parece ser a inibição da MLCP, esta ação se dá pela fosforilação direta dos resíduos de Thr⁶⁹⁶ e Thr⁸⁵³ da MYPT1, causando a sua dissociação e inibição da PP1c da MLCP (MURTHY, 2006; SOMLYO; SOMLYO, 2003). A ROCK também pode ativar uma proteína cinase independente de Ca²⁺, mais conhecida como proteína cinase de interação zíper (ZIPK). A ZIPK pode fosforilar diretamente a MLC, no entanto seu alvo principal é o resíduo de Thr⁶⁹⁶ da MYPT1 o qual é fosforilado inibindo a ação da MLCP (MURTHY, 2006).

A RhoA-GTP também estimula a fosfolipase D (PLD), essa enzima está principalmente associada a membranas intracelulares, mas também é encontrada na membrana plasmática e é específica para fosfatidilcolina (PC), liberando ácido fosfatídico (PA) que através da ação da enzima fosfo-hidrolase é desfosforilado a DAG levando a ativação sustentada da PKC (BERRIDGE, 2009). A ativação da PKC também pode ser dependente de G_{q/11}, da PLC que forma DAG a partir da hidrólise do PIP₂. A PKC pode fosforilar o resíduo de Thr³⁸ da proteína inibitória endógena da MLCP (CPI-17), aumentando assim sua afinidade sobre a PP1c por mais de 1000 vezes, inibindo assim a ação da MLCP (MURTHY, 2006; SOMLYO; SOMLYO, 2003).

O relaxamento no músculo liso ocorre como resultado da remoção do estímulo contrátil ou pela ação direta de uma substância que estimula a inibição do mecanismo contrátil (MORGAN, 1990). Independentemente, o processo requer uma diminuição da [Ca²⁺]_c e aumento da atividade da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP) (SOMLYO et al., 1999).

Há ainda os agonistas que induzem relaxamento, onde a ligação aos seus receptores ativa diretamente uma ciclase de guanilil ou de adenilil, resultando na formação do monofosfato cíclico de guanosina (GMP_c) e monofosfato cíclico de adenosina (AMP_c), respectivamente (REMBOLD, 1996). O aumento na [GMP_c] ativa a proteína cinase G (PKG), enquanto que o aumento na [AMP_c] ativa tanto uma proteína cinase dependente de AMP_c (PKA) como a PKG. Os mecanismos que explicam a redução do Ca²⁺ pela PKG incluem: ativação da captação de Ca²⁺ pelos

estoques intracelulares; aumento do efluxo de Ca^{2+} ; inibição da liberação de Ca^{2+} do RS; hiperpolarização de membrana via ativação direta e/ou indireta de canais para K^+ ; inibição direta de Ca_v (ORALLO, 1996; VAANDRAGER; DE JONGE, 1996) ou indireta por ativação de canais para K^+ (KUME et al., 1989; WHITE et al., 1993). A PKA que tem ações semelhantes às das PKGs como por exemplo a ativação dos canais para K^+ (REMBOLD, 1992; MINAMI; FUKUZAWA; NAKAYA, 1993) e fosforilação da MLCK e assim diminuição de sua afinidade pelo complexo $[\text{4Ca}^{2+}\text{-CaM}]$ (REMBOLD, 1992).

Além disso, a hiperpolarização da membrana das células musculares lisas pode ser produzida por substâncias que abrem canais de K^+ , como por exemplo, cromacalina, levocromacalina e nicorandil, que conseqüentemente, aumentam o efluxo de K^+ da célula (EDWARDS; WESTON, 1990; GURNEY, 1994). Dessa maneira, a hiperpolarização reduz o influxo de Ca^{2+} através dos canais Ca_v1 , diminuindo, portanto, a $[\text{Ca}^{2+}]_c$, a fosforilação da miosina e a contração (REMBOLD, 1996).

Os mecanismos de relaxamento do músculo liso envolvidos no acoplamento fármaco-mecânico incluem: (1) aumento na atividade da Ca^{2+} -ATPase tanto do RS (SERCA) como da membrana plasmática (PMCA) através da PKG/PKA, levando a um aumento do sequestro e da saída de Ca^{2+} , respectivamente, diminuindo assim a $[\text{Ca}^{2+}]_c$; (2) diminuição da formação do IP_3 , levando a uma diminuição da liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares; (3) redução da $[\text{Ca}^{2+}]_c$ pelo AMP_c -PKA por diminuir o influxo de Ca^{2+} indiretamente por hiperpolarização ou por ação direta nos Ca_v1 , e, finalmente, (4) diminuição da $[\text{Ca}^{2+}]_c$ por estimulação do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (BLAUSTEIN, 1989).

Na busca por drogas de interesse terapêutico, o modelo experimental de músculo liso tem uma grande importância. Visto que este músculo é o regulador majoritário de grande parte das cavidades e órgãos ocos que compõem o corpo humano, como sistema circulatório, trato gastrointestinal, trato respiratório, entre outros. Sendo assim a atuação do músculo liso, direta ou indiretamente, determina a regulação das mais variadas funções fisiológicas indispensáveis à manutenção da vida. Portanto substâncias que atuem sobre esta musculatura são potencialmente promissoras.

3 Objetivos

3.1 Geral

- Contribuir para o estudo farmacológico da família Solanaceae, em particular da espécie *Solanum paniculatum* L., com a finalidade de descobrir drogas potencialmente terapêuticas ou que sirvam de ferramentas farmacológicas para o melhor entendimento dos processos fisiopatológicos envolvendo a musculatura lisa.

3.2 Específicos

- Investigar e comparar uma possível atividade espasmolítica dos extratos etanólicos brutos das partes aéreas (SP-EtOH_{PA}) e das raízes (SP-EtOH_R) de *S. paniculatum* L. em modelos experimentais de músculos lisos (aorta de rato, útero de rata, e traqueia de cobaia);
- Investigar uma possível atividade espasmolítica do extrato SP-EtOH_R e comparar com o efeito espasmolítico já apresentado pelo extrato SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia;
- Determinar e comparar a potência e a eficácia relativa dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R em cada órgão testado;
- Investigar o mecanismo de ação espasmolítica do extrato que apresentar maior potência e eficácia em um dos quatro órgãos testados, avaliando-se:
 - ✓ A participação do influxo de cálcio no efeito espasmolítico do extrato.
 - ✓ A participação dos canais de potássio no efeito espasmolítico do extrato.

4 Material e métodos

4.1 Material

4.1.1 Material Botânico

A espécie *Solanum paniculatum* L. foi coletada no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O material botânico foi identificado pela Profa. Dra. Maria de Fátima Agra do Setor de Botânica do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). A exsicata da espécie está depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da UFPB e as duplicatas estão depositadas na Coleção de Referência do Centro de Biotecnologia (CBiotec)/UFPB, sob o código de identificação Agra 6002.

4.1.2 Produtos-teste

Eram utilizados os extratos etanólicos brutos, que foram obtidos das partes aéreas (SP-EtOH_{PA}) e das raízes (SP-EtOH_R) de *S. paniculatum* L., gentilmente cedidos pela Profa. Dra. Tania Maria Sarmento da Silva do Departamento de Ciências Moleculares da UFRPE.

4.1.3 Animais

Eram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), pesando entre 250-300 g; ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) virgens, pesando entre 150-250 g e cobaias (*Cavia porcellus*) de ambos os sexos, pesando entre 300-500 g, todos provenientes do Biotério Prof. Thomas George do CBiotec/UFPB.

Antes dos experimentos os animais eram mantidos sob rigoroso controle alimentar com uma dieta balanceada a base de ração tipo *pellets* (Labina[®]) com livre acesso a água, com ventilação e temperatura (21 ± 1 °C) controladas e constantes, submetidos diariamente a um ciclo claro-escuro de 12 h, sendo o período claro das 06h00 às 18h00. Os experimentos eram realizados no período de 08h00 às 20h00. Todos os procedimentos experimentais foram realizados seguindo os princípios de cuidados com animais submetidos e aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal – CEUA (Certidão N^o 0905/13) do CBiotec. (Anexo A).

4.1.4 Drogas e Reagentes

O sulfato de magnésio hepta-hidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), o cloreto de magnésio hexa-hidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), o cloreto de cálcio di-hidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), o cloreto de sódio (NaCl) e a glicose foram obtidos da Vetec (Brasil). O bicarbonato de sódio (NaHCO_3), o cloreto de potássio (KCl) foram obtidos da Fmaia (Brasil). O fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), o fosfato de sódio monobásico anidro (NaH_2PO_4) e o ácido clorídrico (HCl) P.A. foram obtidos da Nuclear (Brasil).

O cloridrato de carbamilcolina (CCh), o cloridrato de acetilcolina (ACh) e o di-hidrocloridrato de histamina foram obtidos da Merck (Brasil). A ocitocina foi obtida da União Química (Brasil). O cloridrato de L(-)-fenilefrina (FEN) foi obtido da Pfizer (EUA). Estas substâncias eram dissolvidas e diluídas em água destilada para obtenção de cada solução-estoque, 10^{-2} M para as soluções de CCh, ACh, histamina e FEN e 1 UI/mL para a solução de ocitocina, que eram mantidas sob refrigeração (-20 °C), quando necessário, essas soluções-estoque eram diluídas em água destilada para obtenção de concentrações apropriadas a cada protocolo experimental. O AA era dissolvido em etanol absoluto.

O óleo de castor (Cremophor[®]) e o ácido araquidônico (AA) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Brasil). Estas substâncias eram mantidas em um refrigerador à temperatura de 0 °C.

O hidróxido de sódio (NaOH) e o álcool etílico absoluto foram obtidos da Fmaia (Brasil). A mistura carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2) foi adquirida da White Martins (Brasil).

4.1.5 Soluções nutritivas

De acordo com os experimentos realizados foram utilizadas várias soluções nutritivas (ajustadas ao pH 7,4 com HCl ou NaOH 1 N), todas aeradas com carbogênio (95% de O_2 e 5% de CO_2) e mantidas a 37 °C para aorta de rato, traqueia e íleo de cobaia e a 32 °C para útero de rata, cujas composições estão descritas abaixo:

Solução de Krebs Normal (mM): NaCl (118,0); KCl (4,6); MgSO_4 (5,7); KH_2PO_4 (1,1); CaCl_2 (2,5); glicose (11,0); NaHCO_3 (25,0).

Solução de Locke Ringer (mM): NaCl (154,0); KCl (5,6); CaCl₂ (2,2); MgCl₂ (2,1); Glicose (5,6); NaHCO₃ (6,0) (REVUELTA; CANTABRANA; HIDALGO, 2000).

Solução de Krebs modificado (mM): NaCl (117,0); KCl (4,7); MgSO₄ (1,3); NaH₂PO₄ (1,2); CaCl₂ (2,5); Glicose (11,0); NaHCO₃ (25,0) (SUN; BENISHIN, 1994).

Solução de Krebs modificado nominalmente sem Ca²⁺ (mM): NaCl (51,7); KCl (70,0); MgSO₄ (1,3); NaH₂PO₄ (1,2); Glicose (11,0); NaHCO₃ (25,0).

4.1.6 Preparação da solução dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R para os ensaios farmacológicos

Os extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R eram solubilizados em Cremophor[®] e diluídos em água destilada para obtenção da solução-estoque (10 mg/mL, 3% Cremophor[®] v/v) que eram estocadas a uma temperatura de 0 °C. A concentração final de Cremophor[®] na cuba nunca excedeu 0,01%, nesta concentração o Cremophor[®] é desprovido de efeito contrátil ou relaxante significativo nos órgãos a serem estudados, de acordo com dados obtidos em experimentos anteriores.

As concentrações dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R eram utilizadas em múltiplos de 3 a fim de obtermos as concentrações que produzissem de 0 a 100% do seu efeito.

4.1.7 Aparelhos

Para o registro das contrações isotônicas, os órgãos eram suspensos em cubas de banho para órgãos isolados de 5 mL e conectados a uma alavanca isotônica de inscrição frontal a cilindros esfumaçados de um quimógrafo DTF (São Paulo, SP, Brasil). As cubas estão acopladas a uma bomba termostática modelo Polystat 12002 Cole-Palmer (Vernon Hills, IL, EUA) para controle da temperatura.

As contrações isométricas eram registradas, com os órgãos suspensos em cubas de banho para órgãos isolados de 6 mL modelo BOI-04 e conectados a transdutores de força isométricos modelo TIM 05 acoplados a um amplificador modelo AECAD04F. Este por sua vez está conectado a um sistema de aquisição digital com os softwares AQCAD versão 2.3.7, para aquisição dos dados, e ANCAD para análise. O sistema contém uma bomba termostática modelo BT-60 que controla

a temperatura das cubas. Todos os aparelhos foram adquiridos da AVS Projetos (São Paulo, SP, Brasil).

Os valores de pH eram aferidos através de um pHmetro digital modelo PG2000 versão 4.3 (GEHAKA, São Paulo, SP, Brasil).

As substâncias eram pesadas em balança analítica modelo AG 200 e os animais em balanças semianalíticas modelos BG 4000 e BG 4001 (GEHAKA, São Paulo, SP, Brasil).

4.2 Métodos

4.2.1 Triagem farmacológica preliminar

4.2.1.1 Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por FEN em aorta isolada de rato

Os ratos eram eutanasiados por descolamento cervical seguido pela secção dos vasos cervicais. A aorta era retirada e limpa de todo o tecido conectivo e adiposo, em seguida dividida em anéis de 3-5 mm. Os anéis aórticos eram suspensos individualmente por hastes de aço inoxidável em cubas de vidro (6 mL) contendo solução nutritiva de Krebs normal e sob tensão de 1 g. Estes tecidos eram mantidos a uma temperatura de 37 °C, aerados com carbogênio, e mantidos em repouso durante no mínimo 60 minutos. Durante esse período, a solução nutritiva era renovada a cada 15 minutos para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970).

Após o período de estabilização, uma primeira contração era induzida pela adição de 3×10^{-7} M de FEN. A integridade do endotélio aórtico era verificada pela adição de ACh à cuba na concentração de 10^{-6} M (FURCHGOTT; ZAWDZKI, 1980) durante a fase tônica da primeira resposta induzida por FEN, onde anéis que apresentaram relaxamentos iguais ou superiores a 50% (em relação a força de contração inicial) eram considerados com endotélio funcional (AJAYA et al., 2003). Os anéis aórticos sem endotélio eram obtidos através da sua retirada, por uma leve fricção da camada endotelial que se encontra voltada para a luz do órgão utilizando-se uma haste de aço inoxidável e embebida com solução de Krebs normal. A retirada do endotélio era confirmada pela ausência de relaxamento em resposta à

adição de ACh (10^{-6} M) à cuba ou quando este relaxamento era igual ou inferior a 10%, sendo este anel considerado sem endotélio funcional. Após a verificação da funcionalidade do endotélio, a solução de banho era trocada, sendo as preparações lavadas a cada 15 minutos com solução de Krebs normal durante um período total de 30 minutos, e durante o componente tônico de uma segunda resposta induzida por FEN os extratos eram adicionados em preparações diferentes de maneira cumulativa à cuba.

O relaxamento produzido pelos extratos foi expresso como a percentagem reversa da contração inicial induzida por FEN. Os valores da concentração dos extratos que produzem 50% dos seus efeitos máximos (CE_{50}) foram obtidos por regressão não linear a partir das curvas concentração-resposta obtidas para os extratos em anéis com e sem endotélio funcional.

4.2.1.2 Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por CCh em traqueia isolada de cobaia

Os cobaias eram eutanasiados por descolamento cervical seguido pela secção dos vasos cervicais. A traqueia era retirada e limpa de todo o tecido conectivo e adiposo, em seguida dividido em segmentos, contendo 3-4 anéis de cartilagem cada. Esses segmentos eram suspensos individualmente por hastes de aço inoxidável em cubas de vidro (6 mL) contendo solução nutritiva de Krebs normal e sob tensão de 1 g. Estes tecidos eram mantidos a uma temperatura de 37 °C, aerados com carbogênio, e mantidos em repouso durante no mínimo 60 minutos, sendo a solução trocada a cada 15 minutos. Após o período de estabilização, uma primeira contração era induzida pela adição de 10^{-6} M de carbacol (CCh) à cuba.

A integridade do epitélio da traqueia era verificada pela adição de AA à cuba na concentração de 10^{-4} M durante a fase tônica da primeira resposta induzida por CCh, onde anéis que apresentaram relaxamentos iguais ou superiores a 50% (em relação a contração inicial) eram considerados com epitélio funcional (TSCHIRHART et al., 1987). Os anéis de traqueia sem epitélio eram obtidos através da retirada do mesmo, por uma leve fricção da camada epitelial que se encontra voltada para a luz do órgão, utilizando-se uma haste de aço inoxidável envolta em algodão e embebida com solução de Krebs normal. A retirada do epitélio era confirmada pela ausência de relaxamento em resposta à adição de AA à cuba ou quando este relaxamento era

igual ou inferior a 10%, sendo este anel considerado sem epitélio funcional. Após a verificação da funcionalidade do epitélio, a solução de banho era trocada, sendo as preparações lavadas a cada 15 minutos com solução de Krebs normal durante um período total de 30 minutos, e durante o componente tônico de uma segunda resposta induzida por CCh os extratos eram adicionados, de maneira cumulativa à cuba.

O relaxamento foi expresso como a percentagem reversa da contração inicial induzida por CCh e os valores de CE_{50} foram calculados como descrito no item 4.2.1.1.

4.2.1.3 Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por ocitocina ou por CCh em útero isolado de rata

O útero de rata era montado de acordo com Revuelta, Cantabrana e Hidalgo (2000). As ratas eram tratadas 24 horas antes com dietilestilbestrol (0,1 mg/kg) por via subcutânea para indução do estro. Decorrido este tempo, eram eutanasiadas por deslocamento cervical seguido da secção dos vasos cervicais. A cavidade abdominal era aberta, o útero era retirado e colocado em um Becker contendo solução nutritiva de Locke Ringer sob aeração com carbogênio.

Em papel absorvente embebido em solução fisiológica, o órgão era dissecado para retirada de todo o tecido conjuntivo e adiposo. Em seguida os dois cornos uterinos eram separados por meio de uma incisão, abertos longitudinalmente e suspensos verticalmente em cubas de banho para órgãos isolados, contendo solução nutritiva, aquecidas à 32 °C e aeradas com carbogênio. Estes tecidos eram mantidos sob tensão de 1 g e permaneceram em repouso por 40 minutos, tempo necessário para perfeita estabilização da preparação, durante este período a solução nutritiva era trocada a cada 10 minutos.

Após o período de estabilização, era obtida uma contração isotônica com 60 mM de KCl para verificar a funcionalidade do órgão e, após 15 minutos duas contrações isotônicas de magnitudes similares, com intervalo de 15 minutos entre ambas, eram obtidas com 10^{-5} M de CCh ou com 10^{-2} UI/mL de ocitocina (concentrações submáximas que produzem cerca de 80% da resposta máxima dos agonistas). Os extratos eram incubados por 15 minutos em preparações diferentes e a inibição da resposta submáxima de ocitocina e de CCh era avaliada por

comparação das respostas antes (controle) e após a adição dos extratos à cuba. Os valores da concentração dos extratos que inibem 50% do efeito máximo produzido por um agonista (CI_{50}) eram expressos como a média e o erro padrão da média (e.p.m.) dos valores individuais da CI_{50} obtidos em cada um dos experimentos e calculados por regressão não linear.

4.2.1.4 Efeito do extrato SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por CCh ou por histamina em íleo isolado de cobaia

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 deslocamento cervical 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 2-3 cm de comprimento, suspensos individualmente em cubas de vidro e deixados em repouso por 30 minutos, 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 CCh ou de histamina, concentração submáxima que produz cerca de 80% da resposta máxima. O extrato era incubado em várias concentrações por 15 minutos em preparações diferentes, e na presença deste, era induzida uma terceira contração utilizando um dos agonistas acima citados.

A inibição da resposta submáxima de CCh ou de histamina era avaliada por comparação das curvas-controle com a curva-resposta obtida após a adição dos produtos. Os valores da CI_{50} eram calculados por regressão não linear.

4.2.2 Investigação do mecanismo de ação do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo isolado de cobaia

4.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por CCh ou por histamina

O íleo era montado como descrito no item 4.2.1.4. Após o período de estabilização, uma contração submáxima, registrada através de transdutores isométricos acoplados a um sistema de aquisição digital era obtida com 40 mM de KCl, 10^{-5} M de CCh ou 10^{-6} M de histamina e durante a fase tônica sustentada o SP-EtOH_{PA} era adicionado de maneira cumulativa à cuba e em preparações diferentes. O relaxamento produzido pelo extrato foi expresso como a percentagem reversa da contração produzida pelos agentes contráteis. Os valores de CE₅₀ foram expressos como a média \pm e.p.m. dos valores individuais da CE₅₀, calculados por regressão não linear.

4.2.2.2 Avaliação do influxo de cálcio no efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA}

4.2.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} frente às contrações induzidas por CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺

O íleo era montado como descrito no item 4.2.1.4. Após o período de estabilização do órgão por 30 minutos a solução de Krebs modificado era substituída pela solução despolarizante nominalmente sem Ca²⁺, por um período de 45 minutos. Eram induzidas duas curvas similares de maneira concentração-resposta cumulativa ao CaCl₂, em seguida o SP-EtOH_{PA} era incubado na ausência de CaCl₂ por 15 minutos e após esse período uma terceira curva cumulativa ao CaCl₂ era obtida na presença do SP-EtOH_{PA}. O tipo de antagonismo exercido pelo SP-EtOH_{PA} foi avaliado com base na análise dos valores de CE₅₀ e do E_{max} do CaCl₂, calculado a partir das curvas concentração-resposta, na ausência (controle) e na presença do SP-EtOH_{PA}.

4.2.2.3 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio no efeito relaxante produzido pelo extrato SP-EtOH_{PA}

4.2.2.3.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por histamina, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)

O íleo era montado como descrito no item 4.2.1.4. Após o período de estabilização, era induzida uma contração com 40 mM de KCl para verificar a funcionalidade do órgão. A preparação era lavada e após 15 min, era induzida uma contração com 10^{-6} M de histamina, e sob o componente tônico dessa contração era adicionado o extrato SP-EtOH_{PA} de maneira cumulativa para obtenção da curva controle. Em outro experimento era adicionada à cuba 5 mM de CsCl, um bloqueador não seletivo dos canais de potássio (CECCHI et al., 1987), e após 20 min, na presença do bloqueador, era induzida uma contração com 10^{-6} M de histamina e sob o componente tônico dessa contração era adicionado extrato SP-EtOH_{PA} de forma cumulativa.

O relaxamento produzido pelo extrato foi expresso como a porcentagem reversa da contração inicial induzida pelo agonista. Os valores de CE₅₀ do extrato SP-EtOH_{PA} foram calculados a partir das curvas concentração-resposta, na ausência e na presença do bloqueador.

4.3 Análise Estatística

Todos os resultados obtidos foram expressos como média \pm e.p.m. e analisados estatisticamente empregando-se o teste “t” de Student (não pareado) ou análise de variância (ANOVA) “one-way” seguido do pós-teste de Bonferroni, sendo os valores de $p < 0,05$ considerados significantes. Os valores de CI₅₀ e CE₅₀ foram calculados por regressão não linear para todos os experimentos realizados (NEUBIG et al., 2003). Todos os resultados foram analisados pelo programa GraphPad Prism[®] versão 5.01 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, E.U.A.).

5 Resultados

5.1 Triagem farmacológica preliminar

5.1.1 Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por FEN em aorta isolada de rato

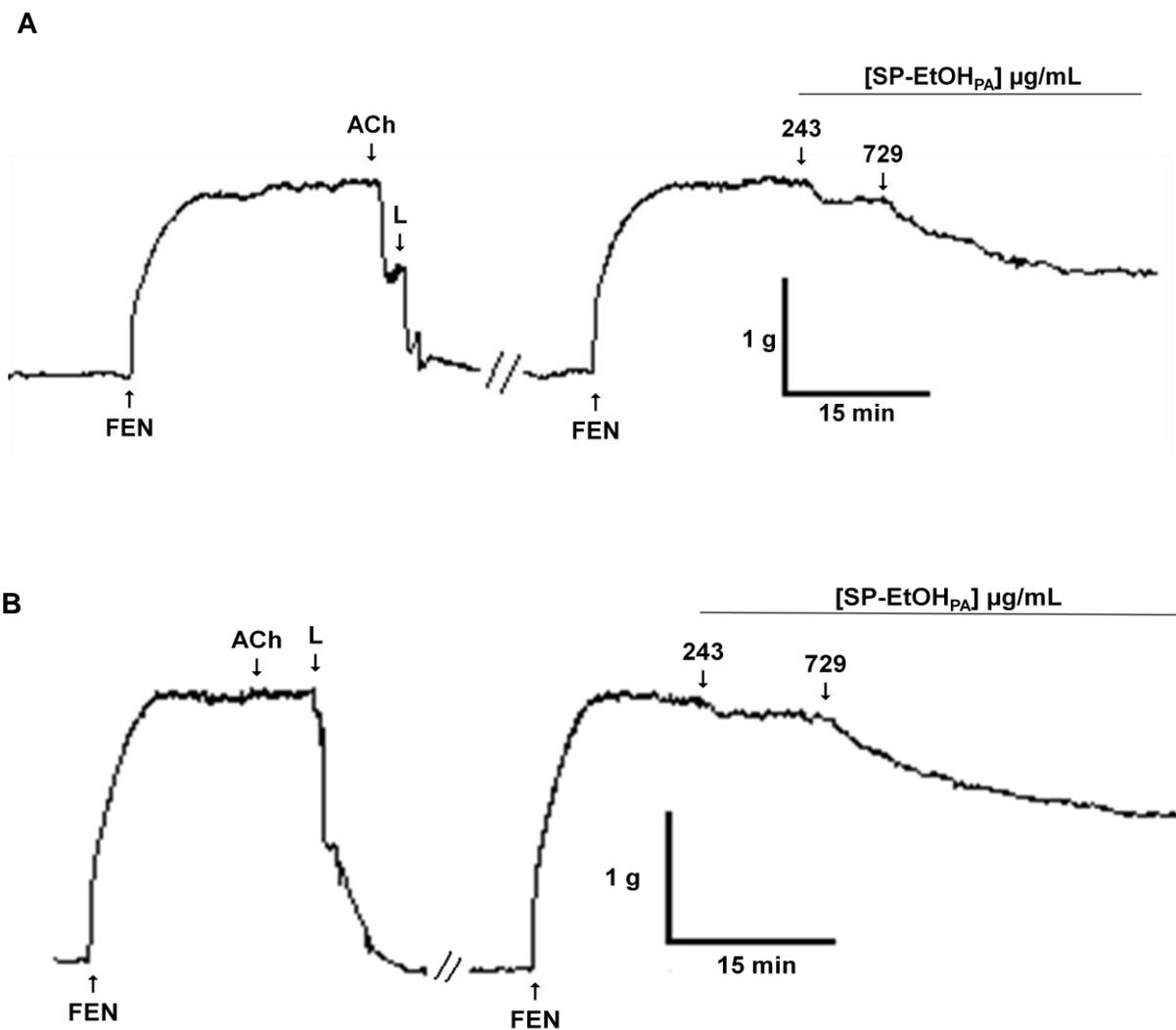
O extrato SP-EtOH_{PA} (243 e 729 µg/mL, n = 3) foi igualmente eficaz em relaxar os anéis de aorta pré-contraídos com 3×10^{-7} M de fenilefrina na presença ($12,8 \pm 1,8$ e $59,3 \pm 7,1\%$, respectivamente) e na ausência ($6,0 \pm 0,8$ e $58,3 \pm 6,7\%$, respectivamente) de endotélio funcional (Figura 2 e Tabela 1).

Semelhantemente, o extrato SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL, n = 3) relaxou de maneira significativa os anéis de aorta pré-contraídos com fenilefrina na presença ($17,1 \pm 3,1$ e $57,0 \pm 3,2\%$, respectivamente) e na ausência ($5,8 \pm 1,5$ e $66,3 \pm 4,1\%$, respectivamente) de endotélio funcional (Figura 3 e Tabela 1).

Quando comparados os valores de E_{max} dos extratos acima, observou-se que não houve diferença estatística entre eles (Tabela 1).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

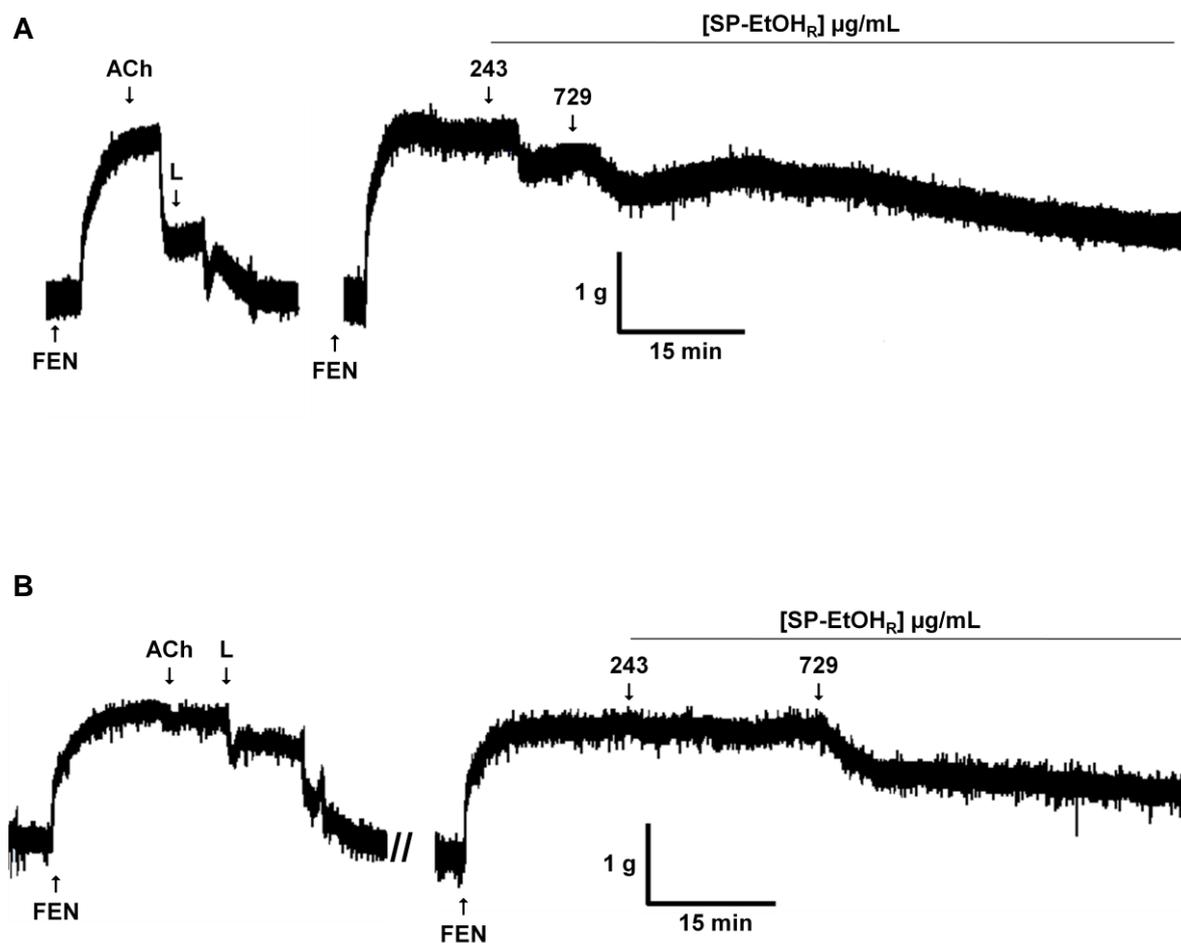
Figura 2 – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em anéis de aorta de rato pré-contráidos com 3×10^{-7} M de fenilefrina na presença (A) e na ausência (B) de endotélio funcional.



FEN = fenilefrina, ACh = acetilcolina, L = lavagem.

Fonte: Autor, 2013.

Figura 3 – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_R em anéis de aorta de rato pré-contráidos com 3×10^{-7} M de fenilefrina na presença (A) e na ausência (B) de endotélio funcional.



FEN = fenilefrina, ACh = acetilcolina, L = lavagem.

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 1 – Valores de E_{max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por 3×10^{-7} M de fenilefrina em anéis de aorta de rato.

Extrato	µg/mL	E_{max} (%)		
		E+ (n)	µg/mL	E- (n)
SP-EtOH _{PA}	729	59,3 ± 7,1 (3)	729	58,3 ± 6,7 (3)
SP-EtOH _R	729	57,0 ± 3,2 (3)	729	66,3 ± 4,1 (3)

E+ = presença de endotélio; E- = ausência de endotélio; n = nº de experimentos (animais).

Fonte: Autor, 2013.

5.1.2. Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas por CCh em traqueia isolada de cobaia

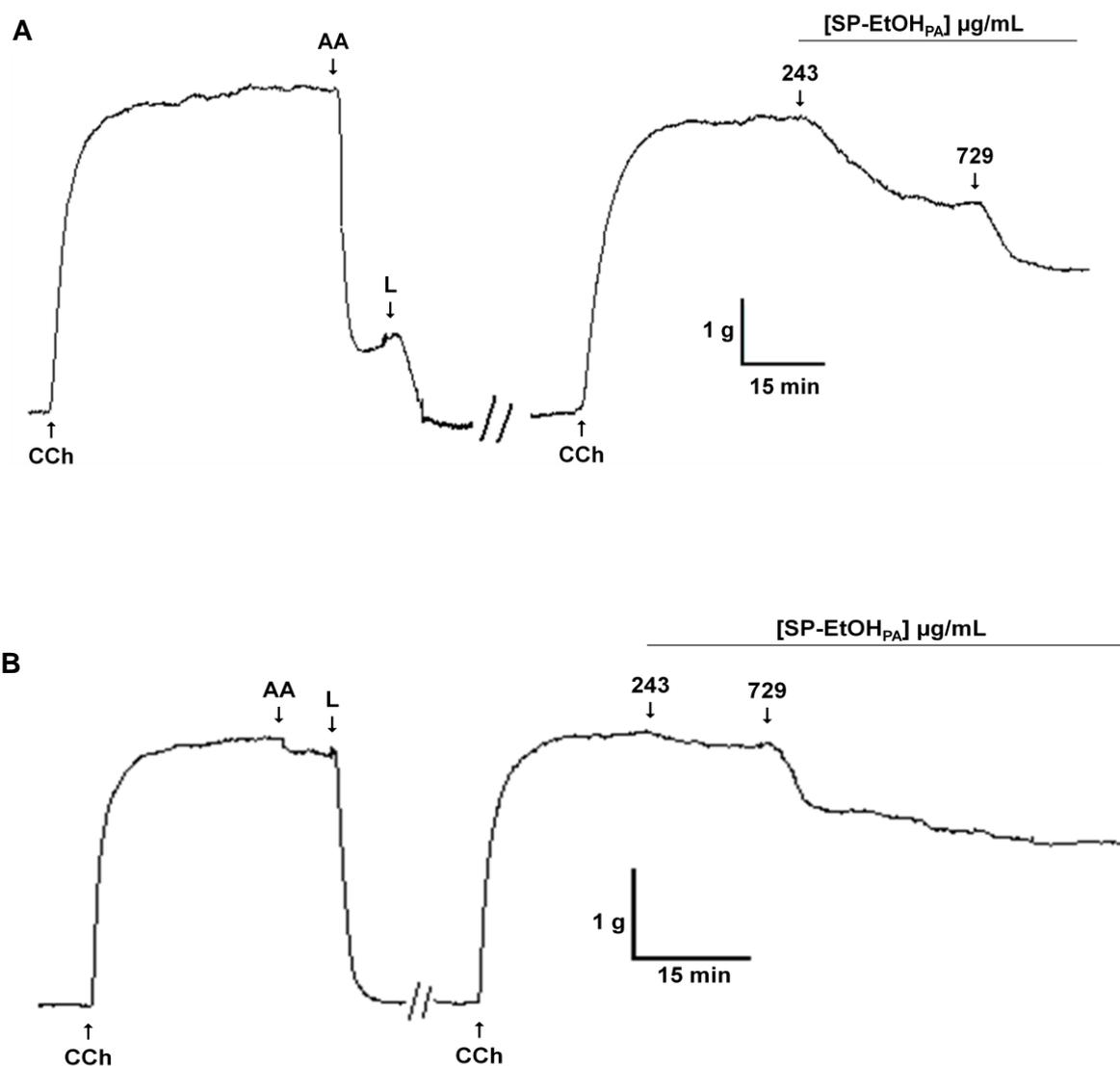
O extrato SP-EtOH_{PA} (243 e 729 µg/mL, n = 3) foi igualmente eficaz em relaxar os anéis de traqueia pré-contraídos com 10⁻⁶ M de CCh na presença (30,6 ± 1,6 e 56,8 ± 2,7%, respectivamente) e na ausência (7,3 ± 0,9 e 30,0 ± 1,5%, respectivamente) de epitélio funcional (Figura 4 e Tabela 2).

De forma semelhante, o extrato SP-EtOH_R (243 e 729 µg/mL, n = 3) foi igualmente eficaz em relaxar os anéis de traqueia pré-contraídos com CCh na presença (35,3 ± 0,6 e 52,7 ± 2,9%, respectivamente) e na ausência (20,6 ± 1,4 e 73,6 ± 9,2%, respectivamente) de epitélio funcional (Figura 5 e Tabela 2).

Quando comparados os valores de E_{max}, observou-se que na presença do epitélio funcional ambos extratos não apresentaram diferença significativa, enquanto que na ausência do epitélio funcional o SP-EtOH_R foi cerca de 2 vezes mais potente que o SP-EtOH_{PA} em relaxar os anéis de traqueia pré-contraídos com CCh (Tabela 2).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

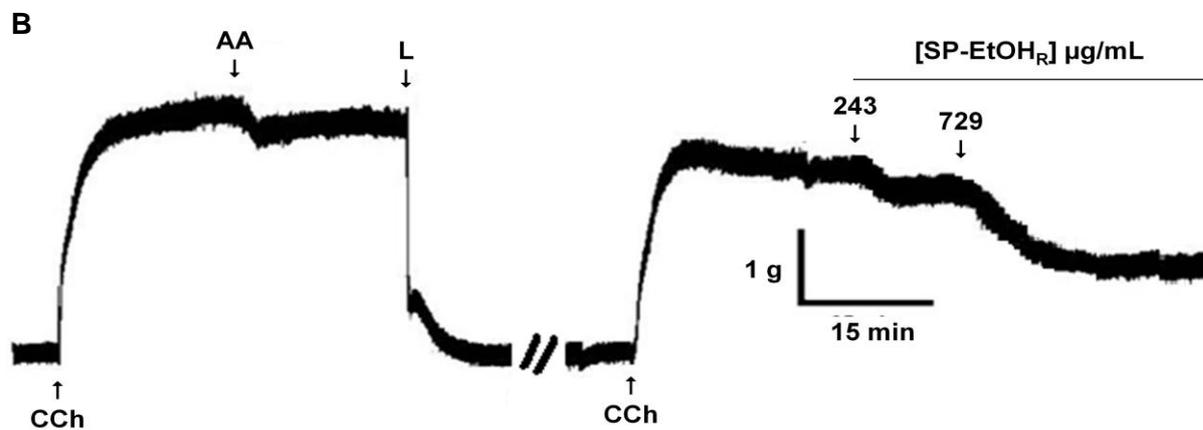
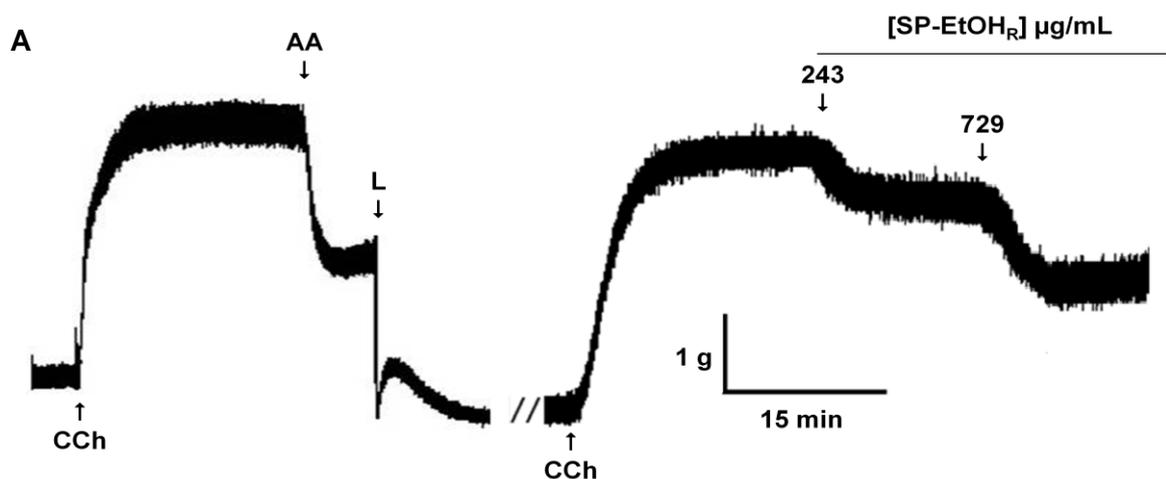
Figura 4 – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em anéis de traqueia de cobraia pré-contráidos com 10⁻⁶ M de carbacol na presença (A) e na ausência (B) de epitélio funcional.



CCh = carbacol, AA = ácido araquidônico, L = lavagem.

Fonte: Autor, 2013.

Figura 5 – Registros típicos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_R em anéis de traqueia de cobaia pré-contraídos com 10⁻⁶ M de carbacol na presença (A) e na ausência (B) de epitélio funcional.



CCh = carbacol, AA = ácido araquidônico, L = lavagem.

Fonte: Autor, 2013

Tabela 2 – Valores de E_{\max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre as contrações tônicas induzidas 10^{-6} M de carbacol em anéis de traqueia de cobaia.

Extrato	µg/mL	E_{\max} (%)	
		E+ (n)	E- (n)
SP-EtOH _{PA}	729	56.8 ± 2.7 (3)	30.0 ± 1.5 (3)
SP-EtOH _R	729	52,7 ± 2,9 (3)	73,6 ± 9,2 (3) ^a

^a $p < 0,01$ [SP-EtOH_{PA} (E-) vs. SP-EtOH_R (E-)]. E+ = presença de endotélio; E- = ausência de endotélio; n = nº de experimentos (animais).

Fonte: Autor, 2013.

5.1.3 Efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por ocitocina ou por CCh em útero isolado de rata

O extrato SP-EtOH_{PA} não apresentou efeito tocolítico significativo nas concentrações de 243 e 729 µg/mL, frente às contrações fásicas induzidas tanto por 10⁻² UI/mL de ocitocina ($E_{max} = 6,3 \pm 3,5\%$, $n = 3$) como por 10⁻⁵ M de CCh ($E_{max} = 0,3 \pm 0,3\%$, $n = 3$) (Gráfico 1 e Tabela 3) em útero de rata.

Diferentemente, o extrato SP-EtOH_R, nas concentrações de 243 e 729 µg/mL ($n = 3$) inibiu de maneira significativa, porém com baixa eficácia, as contrações fásicas induzidas por 10⁻⁵ M de CCh em útero isolado de rata ($E_{max} = 47,0 \pm 8,9\%$). Entretanto, quando as contrações foram induzidas por 10⁻² UI/mL de ocitocina, o extrato ($n = 3$) apresentou efeito inibitório apenas na concentração de 729 µg/mL ($E_{max} = 40,2 \pm 10,2\%$) (Gráfico 2 e Tabela 3).

Quando comparados os valores de E_{max} , observou-se que, dentre os extratos testados, o SP-EtOH_R mostrou-se cerca de 6 e 15 vezes mais eficaz em inibir as contrações fásicas induzidas por ocitocina e por CCh, respectivamente. (Tabela 3).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

Gráfico 1 – Efeito do SP-EtOH_{PA} frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina (A) e por 10^{-5} M de carbacol (B) em útero de rata.

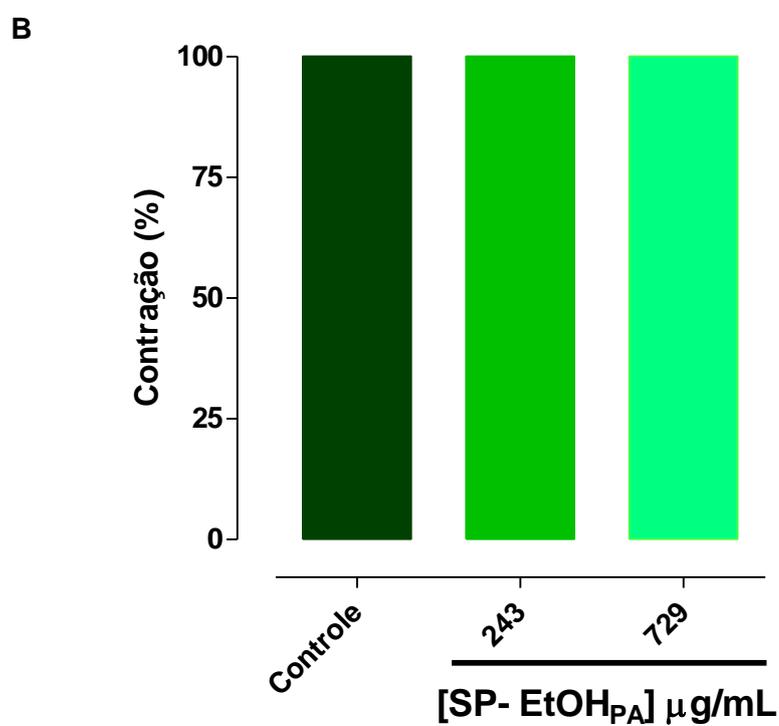
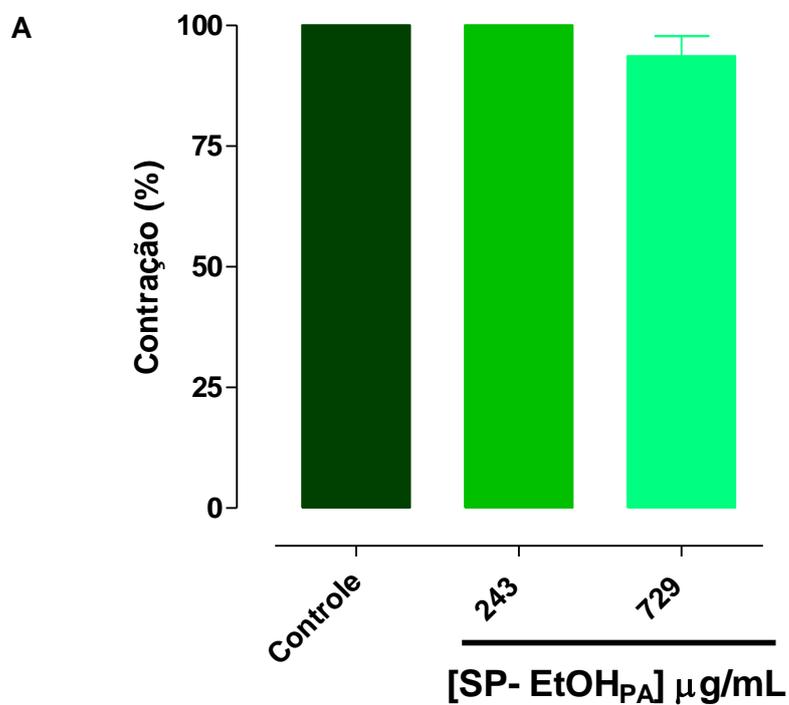
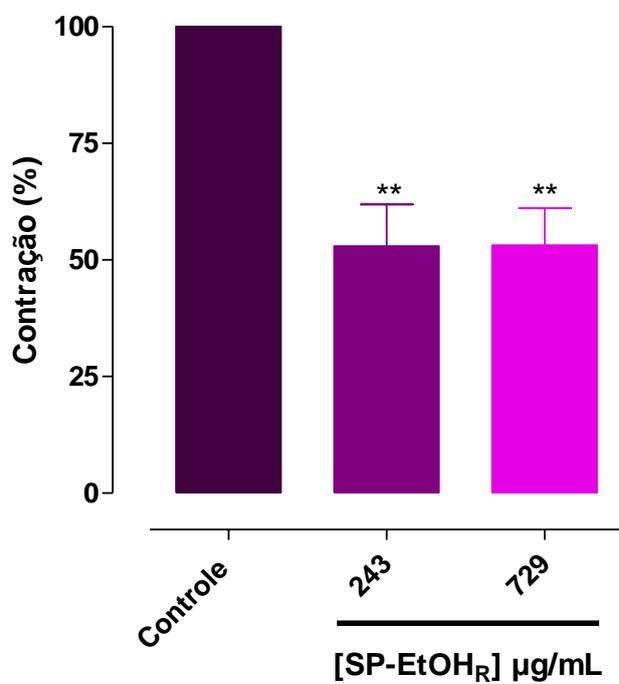


Gráfico 2 – Efeito do SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻² UI/mL de ocitocina (A) e por 10⁻⁵ M de carbacol (B) em útero de rata.

A



B

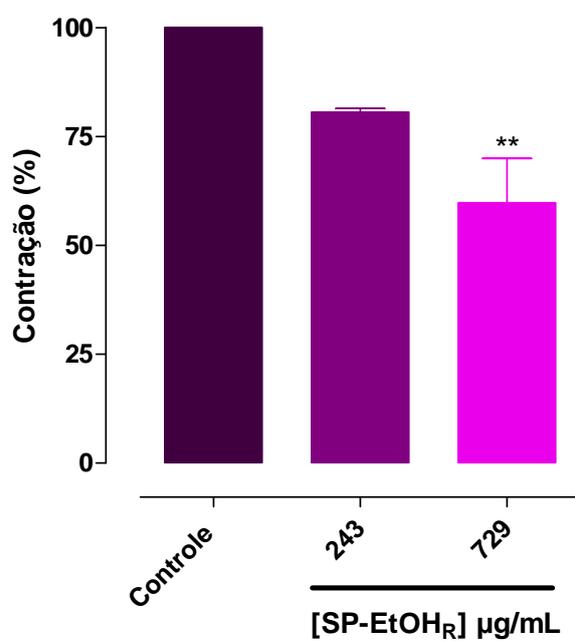


Tabela 3 – Valores de E_{\max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina e por 10^{-5} M de carbacol em útero de rata.

Extrato	$\mu\text{g/mL}$	E_{\max} (%)		CCh (n)
		Oci (n)	$\mu\text{g/mL}$	
SP-EtOH _{PA}	729	6,3 ± 3,5 (3)	729	0,3 ± 0,3 (3)
SP-EtOH _R	729	40,2 ± 10,2 (3) ^a	729	47,0 ± 8,9 (3) ^b

^a $p < 0,05$ [SP-EtOH_{PA} (Oci) vs. SP-EtOH_R (CCh)]; ^b $p < 0,01$ [SP-EtOH_{PA} (Oci) vs. SP-EtOH_R (CCh)]. n = nº de experimentos (animais).

Fonte: Autor, 2013.

5.1.4 Efeito do extrato SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por CCh ou por histamina em íleo isolado de cobaia

O extrato SP-EtOH_R, nas concentrações de 243 e 729 µg/mL (n = 3) inibiu de maneira significativa as contrações fásicas induzidas tanto por 10⁻⁶ M de CCh (E_{max} = 65,3 ± 8,5%) como por 10⁻⁶ M de histamina (E_{max} = 58,8 ± 3,9%) em íleo isolado de cobaia, porém com baixa eficácia farmacológica (Gráfico 3 e Tabela 4). O E_{max} foi atingido na concentração de 243 e 729 µg/mL frente ao CCh e à histamina, respectivamente.

Clementino-Neto (2012) e Vasconcelos et al. (2012) relataram que o extrato SP-EtOH_{PA} (n = 3) apresentou efeito espasmolítico significativo e dependente de concentração tanto frente às contrações fásicas induzidas por CCh (CI₅₀ = 129,3 ± 14,1 µg/mL, E_{max} = 81,2 ± 5,4%) como por histamina (CI₅₀ = 63,7 ± 3,5 µg/mL, E_{max} = 94,0 ± 1,2%).

Quando comparados os valores de E_{max}, observou-se que dentre os extratos, o SP-EtOH_{PA} mostrou-se cerca de 2 vezes mais eficaz em inibir as contrações fásicas induzidas por histamina. Enquanto que nas contrações fásicas induzidas por CCh não houve diferença significativa entre os extratos testados (Tabela 4).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

Gráfico 3 – Efeito do SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10⁻⁶ M de carbacol (A) e de histamina (B) em íleo de cobaia.

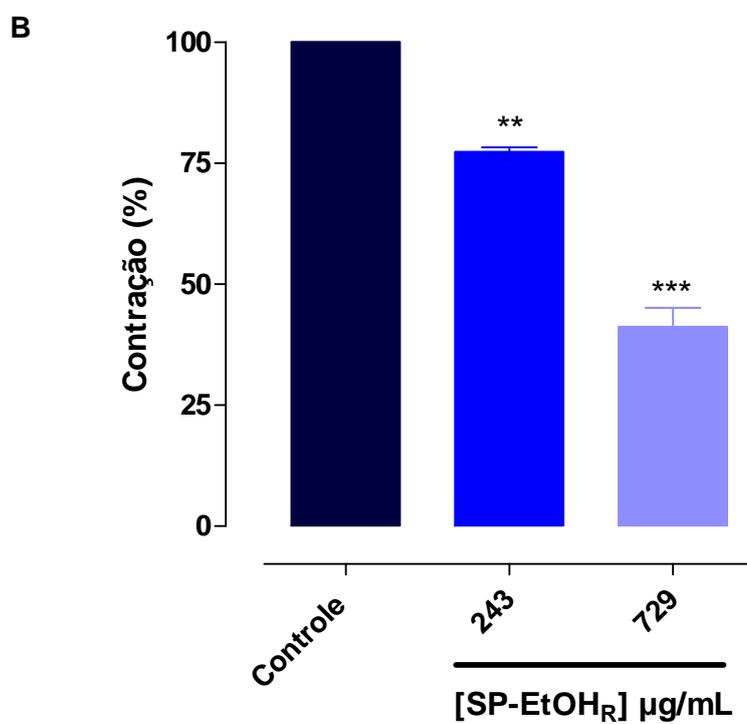
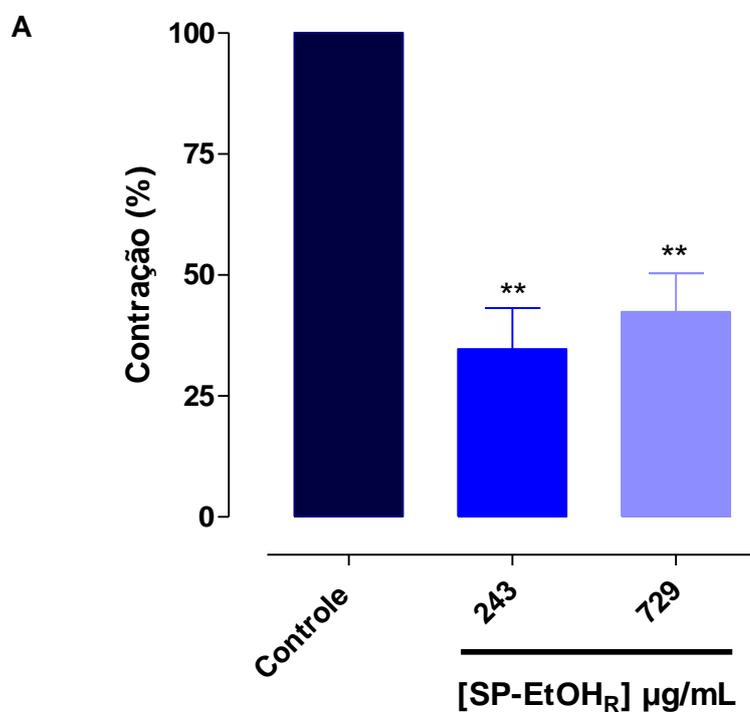


Tabela 4 – Valores de E_{\max} (%) dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R frente às contrações fásicas induzidas por 10^{-6} M de carbacol e de histamina em íleo de cobaia.

Extrato	µg/mL	E_{\max} (%)		CCh (n)
		Hist (n)	µg/mL	
SP-EtOH _{PA} *	729	94.0 ± 1.2 (3) ^a	729	81.2 ± 5.4 (3)
SP-EtOH _R	729	58,8 ± 3,9 (3)	729	65,3 ± 8,4 (3)

^a $p < 0,01$ [SP-EtOH_{PA} (Hist) vs. SP-EtOH_R (CCh)]. n = n^o de experimentos (animais).

*CLEMENTINO-NETO, 2012

Fonte: Autor, 2013.

5.2 Investigação do mecanismo de ação do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo isolado de cobaia

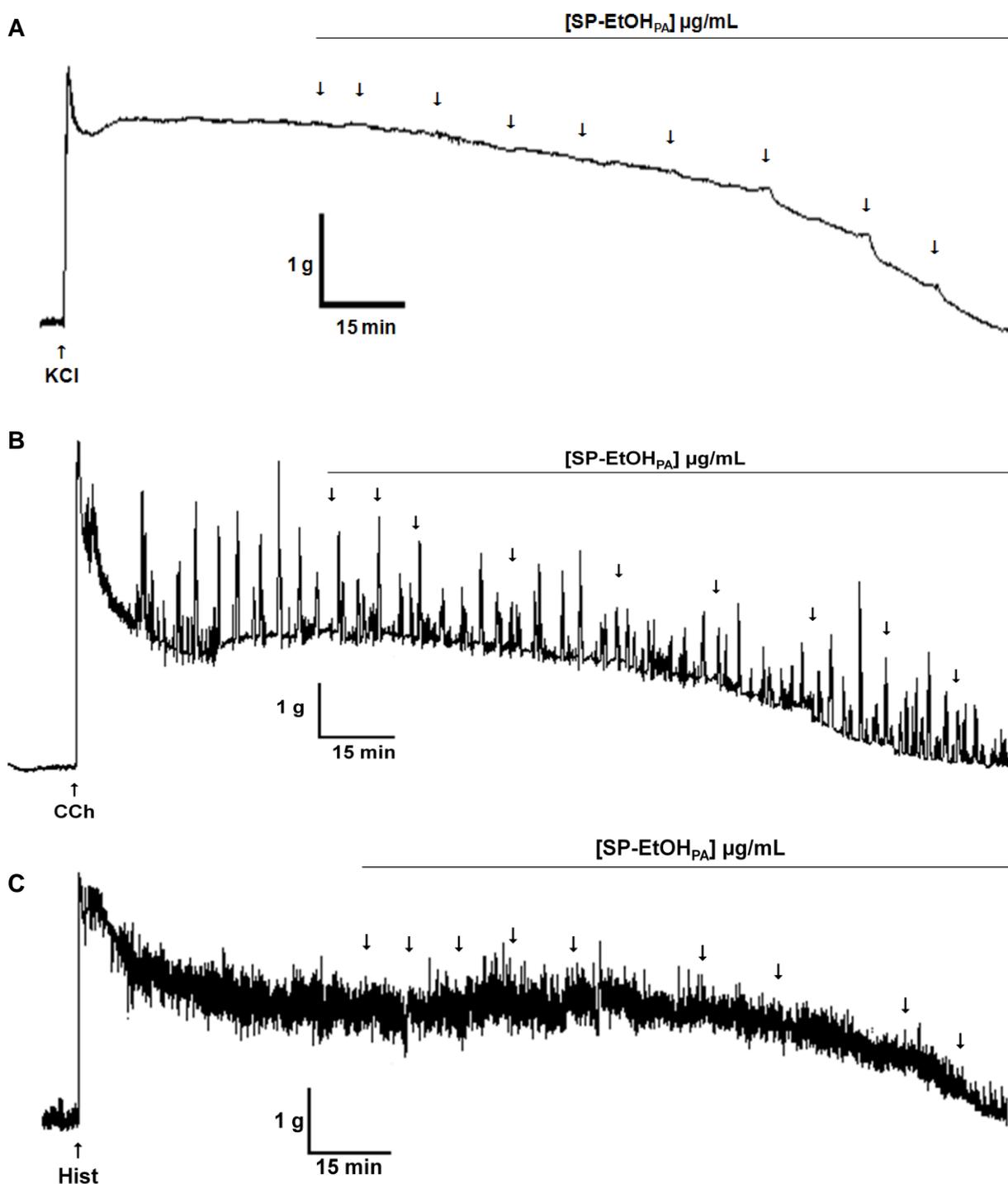
5.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por KCl, por CCh ou por histamina

O SP-EtOH_{PA} (0,1 – 729 µg/mL, n = 5) relaxou de maneira dependente de concentração e significativa o íleo de cobaia (Figura 6) pré-contraído com 40 mM de KCl ($CE_{50} = 47,5 \pm 4,4$ µg/mL), com 10^{-5} M de CCh ($CE_{50} = 49,9 \pm 7,3$ µg/mL) ou com 10^{-6} M histamina ($CE_{50} = 65,0 \pm 5,3$ µg/mL).

Analisando os valores de CE_{50} pode ser observado que SP-EtOH_{PA} foi equipotente em relaxar as contrações tônicas induzidas por KCl, CCh ou histamina (Tabela 5). Os valores de E_{max} (100%) do SP-EtOH_{PA} foram atingidos na concentração de 729 µg/mL para o órgão contraído com todos os agentes contráteis utilizados (Gráfico 4 e Tabela 5).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

Figura 6 – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (A), 10⁻⁵ M de carbacol (B) e de 10⁻⁶ M histamina (C) em íleo de cobraia.



CCh = carbacol, Hist = histamina. As setas para baixo representam as concentrações cumulativas de 0,1; 0,3; 1; 3; 9; 27, 81, 243 e 729 µg/mL do extrato SP-EtOH_{PA}.

Gráfico 4 – Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl (●), 10⁻⁵ M de CCh (▲) e 10⁻⁶ M de histamina (■) em íleo de cobaia.

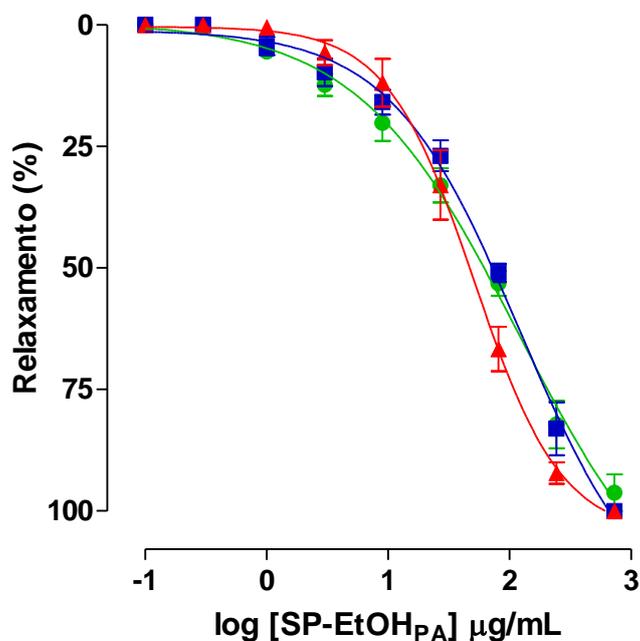


Tabela 5 – Valores de E_{max} (%) e de CE_{50} (µg/mL) do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 40 mM de KCl, por 10⁻⁵ M de CCh ou por 10⁻⁶ M histamina em íleo de cobaia (n = 5).

Agentes contráteis	E_{max} (%)	CE_{50} (µg/mL)
KCl	100	47,5 ± 4,4
CCh	100	49,9 ± 7,3
histamina	100	65,0 ± 5,3

Fonte: Autor, 2013.

5.2.2 Avaliação do influxo de cálcio no efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA}

5.2.2.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} frente às contrações induzidas por CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺

O extrato SP-EtOH_{PA} (27, 81, 243 e 729 µg/mL, n = 5) inibiu de maneira significativa as contrações cumulativas induzidas pelo aumento na concentração extracelular de CaCl₂ em meio despolarizante nominalmente sem Ca²⁺. As curvas cumulativas ao CaCl₂ foram desviadas para direita de forma não paralela e com redução do E_{max} de 100% (controle) para 78,8 ± 7,0; 70,4 ± 3,1; 63,9 ± 8,6 e 27,7 ± 3,0%, respectivamente (Gráfico 5). Os valores de CE₅₀ do CaCl₂ passaram de 1,4 ± 0,1 x 10⁻³ M (controle) para 3,3 ± 0,6; 0,9 ± 0,1; 6,3 ± 1,1 e 6,5 ± 0,7 x 10⁻³ M, respectivamente (Tabela 6).

O efeito inibitório promovido pelos extratos testados foi revertido em até duas horas após a lavagem da preparação (dados não mostrados).

Gráfico 5 – Curvas concentrações-resposta cumulativas ao CaCl_2 em meio despolarizante nominalmente sem Ca^{2+} na ausência (●) e na presença do extrato SP-EtOH_{PA} nas concentrações de 27 (■), 81 (▲), 243 (▼) e 729 (◆) $\mu\text{g/mL}$, em íleo de cobaia. (n = 5)

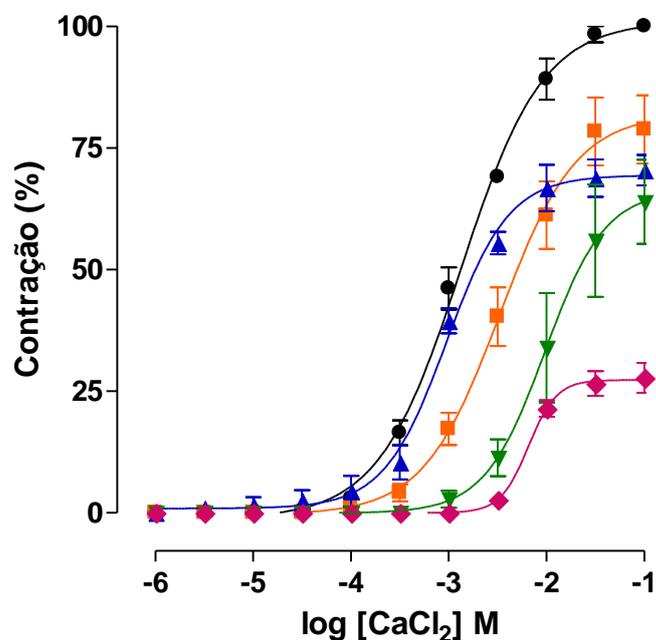


Tabela 6 – Valores de E_{\max} (%) e de CE_{50} (M) do CaCl_2 na ausência (controle) e na presença do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia.

SP-EtOH _{PA} ($\mu\text{g/mL}$)	E_{\max} (%)	CE_{50} (M)
Controle	100	$1,4 \pm 0,1 \times 10^{-3}$
27	$78,8 \pm 7,0$	$3,3 \pm 0,6 \times 10^{-3}$
81	$70,4 \pm 3,1^*$	$0,9 \pm 0,1 \times 10^{-3}$
243	$63,9 \pm 8,6^{**}$	$6,3 \pm 1,1 \times 10^{-3***}$
729	$27,7 \pm 3,0^{***}$	$6,5 \pm 0,7 \times 10^{-3***}$

Teste *t*, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ (controle vs. SP-EtOH_{PA})

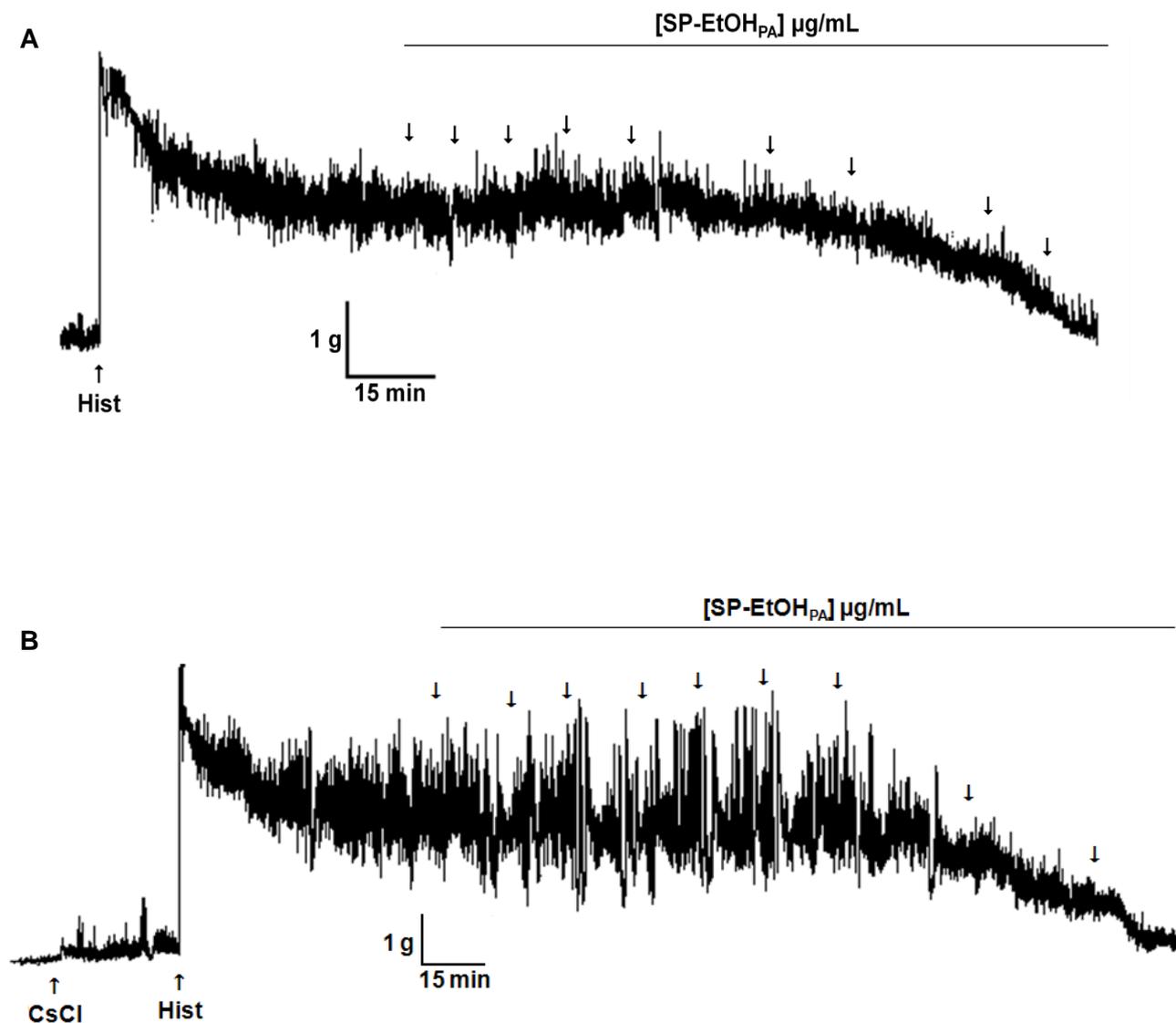
Fonte: Autor, 2013.

5.2.3 Avaliação do envolvimento dos canais de potássio no efeito relaxante produzido pelo extrato SP-EtOH_{PA}

5.2.3.1 Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por histamina, na ausência e na presença de cloreto de céσιο (CsCl)

O extrato SP-EtOH_{PA} relaxou o íleo de cobaia pré-contraído por 10^{-6} M de histamina na ausência (0,1 - 279 $\mu\text{g/mL}$, $n = 5$) e na presença (0,1 - 729 $\mu\text{g/mL}$, $n = 5$) de 5 mM de CsCl, um bloqueador não seletivo dos canais de potássio (Figura 7). A potência relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} ($CE_{50} = 65,0 \pm 5,3 \mu\text{g/mL}$) foi reduzida em 1,3 vezes quando comparada ao relaxamento produzido pelo extrato SP-EtOH_{PA} na presença de CsCl ($CE_{50} = 89,0 \pm 3,0 \mu\text{g/mL}$) (Gráfico 6 e Tabela 7).

Figura 7 – Registros representativos do efeito relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 10⁻⁶ M de histamina na ausência (A) e na presença (B) de 5 mM de CsCl em íleo de cobaia.



CCh = carbacol, Hist = histamina e as setas para baixo representam as concentrações cumulativas de 0,1; 0,3; 1; 3; 9; 27, 81, 243 e 729 $\mu\text{g/mL}$ do extrato SP-EtOH_{PA}.

Fonte: Autor, 2013.

Gráfico 6 – Efeito do extrato SP-EtOH_{PA} sobre as contrações tônicas induzidas por 10⁻⁶ M de histamina na ausência (■) e na presença (▲) de 5 mM de CsCl, em íleo de cobaia.

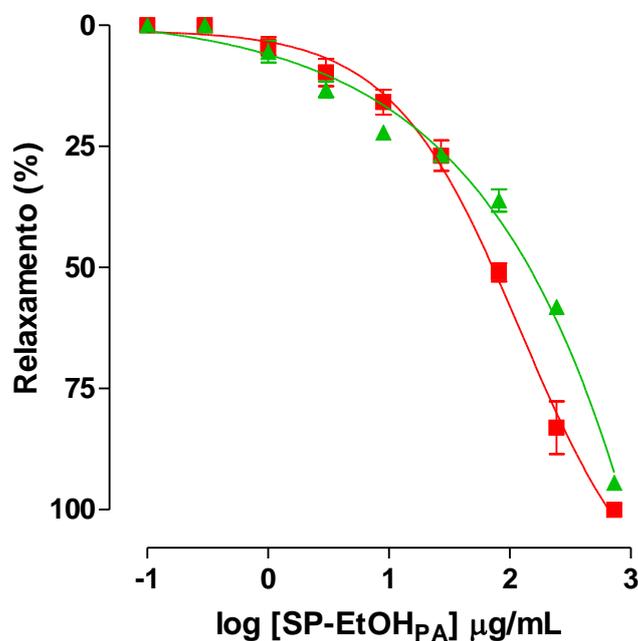


Tabela 7 – Valores de E_{max} (%) e de CE₅₀ (μg/mL) do extrato SP-EtOH_{PA} na ausência (controle) e na presença de CsCl.

SP-EtOH _{PA} (μg/mL)	E _{max} (%)	CE ₅₀ (μg/mL)
Controle	100**	65,0 ± 5,3
CsCl	94,4 ± 1,3	89,0 ± 3,0**

***p* < 0,01 (controle vs. CsCl);

Fonte: Autor, 2013.

6 Discussão

Na investigação da possível ação espasmolítica dos extratos etanólicos brutos obtidos das partes aéreas (SP-EtOH_{PA}) e das raízes (SP-EtOH_R) de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) evidenciou-se que, nas condições e nos modelos testados, os extratos apresentaram baixa eficácia farmacológica. Quando se comparou os resultados obtidos com SP-EtOH_R com aqueles obtidos por Clementino-Neto (2012) com o extrato SP-EtOH_{PA}, observou-se que a maior eficácia foi do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia. Dessa forma, no presente estudo investigou-se um possível mecanismo de ação do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo de cobaia, onde observou-se que este extrato bloqueia indiretamente os Ca_v via ativação/modulação positiva dos canais de potássio.

A utilização do modelo experimental de músculo liso é conhecidamente uma ferramenta útil na investigação e descoberta de drogas potencialmente promissoras a serem utilizadas na terapêutica, uma vez que o músculo liso é amplamente distribuído por todo o corpo, incluindo os vasos sanguíneos, vias respiratórias, trato gastrointestinal, urinário e reprodutivo, apresentando uma variedade de funções essenciais à vida, tais como controle da pressão arterial, respiração e peristaltismo gastrointestinal, dentre outros. Anormalidades no processo de contratilidade do músculo liso acarretam várias desordens e doenças como hipertensão, asma, disfunção erétil, dispepsia, cólicas uterinas e intestinais (KIM et al., 2008).

Nesse intuito, a utilização do conhecimento encontrado na medicina tradicional, principalmente por meio das plantas medicinais, que vem fornecendo um vasto arsenal terapêutico contra inúmeras enfermidades, compreende uma fonte de inestimável valor às necessidades medicinais da humanidade e dentre as inúmeras plantas medicinais destacam-se as do gênero *Solanum* por serem conhecidamente dotadas de ações farmacológicas sobre o músculo liso.

A espécie *S. paniculatum* é citada na medicina popular, apresentando algumas ações que envolvem ações relacionadas à musculatura lisa como carminativo, digestivo, emenagogo e estomáquico (COSTA, 1940; CRUZ, 1995, MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000). Somado a isso, Clementino-Neto (2012) evidenciou que o SP-EtOH_{PA} apresenta atividade antiespasmódica em íleo de cobaia e antidiarreica em camundongos. Assim, com a finalidade de expandir os estudos referentes à espécie *S. paniculatum* realizou-se uma triagem farmacológicas utilizando vários modelos experimentais de músculo liso.

A pressão arterial é definida como o produto do débito cardíaco pela resistência vascular periférica total. A resistência ao fluxo sanguíneo na circulação é regulado principalmente pelo tônus vascular (SANTOS et al., 2007), que portanto irá regular a pressão arterial e distribuição do fluxo sanguíneo entre os tecidos e órgãos do corpo. O tônus vascular, por sua vez, é regulado por hormônios circulantes, neurotransmissores, fatores derivados do endotélio, sinais elétricos e/ou mecânicos, como a própria pressão sanguínea, além dos canais iônicos (JACKSON, 2000). Tendo-se em vista que o aumento do tônus vascular pode ter repercussões graves no organismo, como o surgimento de hipertensão arterial, substâncias que venham a regular o tônus basal ou que relaxem a musculatura lisa dos vasos seriam drogas com potencial utilização terapêutica.

Nessa perspectiva avaliou-se o efeito dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R sobre a musculatura lisa vascular no modelo de aorta de rato. Conforme a Figura 3 e Tabela 1, ambos extratos apresentaram um efeito significativo máximo em torno de 60% na concentração de 729 µg/mL, concluindo que tanto o extrato SP-EtOH_{PA} como SP-EtOH_R exercem atividade vasorelaxante com baixa eficácia farmacológica na musculatura lisa vascular da aorta.

Outra desordem envolvendo o músculo liso é a asma, que é definida como um distúrbio inflamatório crônico das vias aéreas inferiores, associada à hiper-reatividade das vias aéreas, limitação variável do fluxo aéreo e hipersensibilidade das vias aéreas (CORRÊA et al., 2008). A hiper-reatividade é o constituinte mais grave da asma e um fator de risco para o desenvolvimento dos sintomas da asma em crianças e adultos, sendo associado com a severidade dos sintomas respiratórios, declínio da função pulmonar e determinando a necessidade do tratamento (MEURS et al., 2008). Dessa maneira, substâncias que venham a relaxar a musculatura lisa das vias aéreas seriam potencialmente importantes no combate da asma. Nesse intuito, os extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R foram testados em traqueia de cobaia e evidenciou-se que ambos apresentaram uma baixa eficácia (Figura 4 e 5 e Tabela 2), o que nos desencorajou a prosseguir com o estudo do mecanismo de ação dos mesmos em traqueia de cobaia.

O útero é um órgão oco, revestido de musculatura lisa bem diferenciada, possuindo três camadas: endométrio, miométrio (camada muscular espessa) e serosa (camada externa). A função do miométrio é de vital importância em processos fisiológicos como implantação do embrião e na manifestação de

distúrbios como dismenorreia e interrupção da gravidez por aborto espontâneo (AGUILLAR; MITCHELL, 2010). Na busca de produtos naturais com efeito sobre a musculatura lisa uterina, avaliou-se uma possível ação tocolítica dos extratos SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R em útero isolado de rata. De acordo com os Gráficos 1 e 2 e com a Tabela 3, constatou-se que o extrato proveniente das partes aéreas não apresentou ação sobre a musculatura lisa uterina, diferentemente do extrato SP-EtOH_R que mostrou um efeito significativo, no entanto com baixa eficácia farmacológica. Dessa forma, os extratos testados não se mostraram promissores em útero de rata (Gráfico 1 e 2 e Tabela 3).

O modelo do músculo liso intestinal é um meio importante para se investigar novas drogas que sirvam como ferramenta farmacológica para o entendimento de processos fisiopatológicos no trato gastrointestinal, a exemplo da diarreia, cólica intestinal e constipação. A cólica intestinal é comumente causada por fortes contrações dessa musculatura lisa, por meio da ação do sistema nervoso entérico. Clinicamente, a dor causada pelos espasmos gastrintestinais é geralmente tratada com drogas que induzem relaxamento dessa musculatura lisa (SATO et al., 2007). Utilizando como premissa os resultados obtidos por Clementino-Neto (2012), onde se evidenciou que o extrato obtido das partes aéreas, SP-EtOH_{PA}, apresenta efeitos antidiarreico em camundongos e espasmolítico em íleo de cobaia, decidiu-se avaliar uma possível atividade espasmolítica do extrato obtido das raízes, SP-EtOH_R, e comparar esses resultados com os obtidos anteriormente.

Como pode ser observado nos Gráficos 3 e 4 e na Tabela 4, o extrato SP-EtOH_R apresentou efeito espasmolítico significativo, apresentando uma baixa eficácia farmacológica em íleo de cobaia quando comparado aos resultados obtidos por Clementino-Neto (2012), nos quais o SP-EtOH_{PA} apresentou um efeito espasmolítico significativo e dependente de concentração.

Dessa forma, nos modelos de músculos lisos avaliados (vascular, respiratório, uterino e intestinal), dos extratos estudados o proveniente das partes aéreas mostrou-se o mais promissor, principalmente em íleo de cobaia, onde se obtiveram os resultados mais relevantes. Portanto, decidiu-se dar continuidade a este trabalho investigando-se o mecanismo de ação do extrato SP-EtOH_{PA} no músculo liso intestinal.

Em íleo de cobaia, vários agentes contráteis, como os agonistas muscarínicos (TRIGGLE et al., 1989) e o KCl (TRIGGLE; TRIGGLE, 1976), 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). 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 (ABDELLATIF, 1989; KOBAYASHI et al., 1989), enquanto que a contração tônica é atribuída ao influxo de Ca^{2+} através dos Ca_V , uma vez que a contração tônica é suprimida pelo bloqueador de Ca_V , verapamil (JIM et al., 1981).

No entanto, particularmente, em músculo liso de íleo de cobaia, tanto a contração fásica como a tônica 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).

Como os mecanismos envolvidos na manutenção da fase tônica da contração diferem daqueles da fase fásica em íleo isolado (ABDELLATIF, 1989; KOBAYASHI et al., 1989; HONDA; TAKANO; KAMIYA, 1996), resolveu-se verificar se o SP-EtOH_{PA}, além de inibir as contrações fásicas, o extrato também promoveria o relaxamento do íleo de cobaia pré-contraído por diferentes agentes contráteis (KCl, carbacol ou histamina).

Observou-se que o extrato SP-EtOH_{PA} relaxou o íleo de cobaia pré-contraído tanto por KCl, um agente despolarizante, como por carbacol ou por histamina, agonistas de acoplamento misto (fármaco-mecânico e eletromecânico). O extrato foi 1,3 vezes mais potente em relaxar as contrações tônicas induzidas por KCl quando comparado apenas com histamina (Gráfico 4, Figura 6 e Tabela 5). Como o íleo é um órgão totalmente dependente de variação do potencial de membrana (NOUAILHETAS et al., 1985) e uma vez que o componente tônico da contração induzida por estes agentes contráteis 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 poderia estar agindo por bloqueio do influxo de Ca^{2+} através dos Ca_V .

Para testar a hipótese da participação dos Ca_V na atividade espasmolítica do extrato SP-EtOH_{PA}, foram realizadas curvas concentração-resposta cumulativas ao CaCl_2 em meio despolarizante nominalmente sem cálcio na ausência e na presença de diferentes concentrações do extrato. Este protocolo baseia-se no fato de que a contração se dará, quase que exclusivamente, pelo influxo do Ca^{2+} proveniente do meio extracelular, já que a despolarização promovida pela elevada $[\text{K}^+]_e$ induz a abertura dos Ca_V (REMBOLD, 1996).

Observou-se, nesse experimento, que a curva foi deslocada para direita de maneira não paralela em relação a curva controle, havendo redução da potência espasmogênica e do E_{max} do CaCl_2 (Gráfico 5 e Tabela 7). Porém não houve uma dependência de concentração nesse efeito, sugerindo assim que o extrato estaria agindo de maneira indireta sobre os Ca_V para exercer sua ação espasmolítica.

É relatado na literatura que 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 et al., 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, por Ca^{2+} ou por neurotransmissores e, conseqüentemente, as vias de sinalização que eles estimulam (ALEXANDER; MATHIE; PETERS, 2008), e é o fluxo dos íons K^+ por canais presentes na membrana plasmática que regula o influxo de Ca^{2+} através dos Ca_V (THORNELOE; NELSON, 2005).

No músculo liso, o tônus basal pode ser regulado por vários subtipos de canais de K^+ , entre eles: canais de K^+ sensíveis à voltagem (K_V); canais de potássio ativados por cálcio e voltagem de grande condutância (BK_{Ca}); canais de K^+ ativados por Ca^{2+} de pequena condutância (SK_{Ca}); canais de K^+ retificadores de entrada (K_{ir}); canais de K^+ sensíveis ao ATP (K_{ATP}), entre outros (THORNELOE; NELSON, 2005). Sendo que, a repolarização ou hiperpolarização de membrana ocorre devido, principalmente, à ativação dos BK_{Ca} , que são ativados quando a $[\text{Ca}^{2+}]_c$ se eleva na ordem de μM , e à ativação dos K_V , em decorrência à despolarização de membrana (LEDOUX et al., 2006). Tal ativação leva a uma redução no influxo de Ca^{2+} através

dos Ca_v por sua inibição e, conseqüentemente, a uma redução da $[Ca^{2+}]_c$ (LEDOUX et al., 2006; LIN et al., 2006).

Diante do exposto, compostos como os ativadores de canais de K^+ podem hiperpolarizar a membrana e, indiretamente, bloquear os Ca_v1 , inibir o influxo de Ca^{2+} , e conseqüentemente, diminuir a $[Ca^{2+}]_c$ (WESTON; EDWARDS, 1992; LEDOUX et al., 2006; LIN et al., 2006).

Uma vez que os canais de potássio podem regular o influxo de cálcio através dos Ca_v , a hipótese sugerida é que o extrato SP-EtOH_{PA} estaria ativando os canais de potássio e assim bloqueando o influxo de cálcio através da membrana.

Para testar esta hipótese, avaliou-se o efeito relaxante do SP-EtOH_{PA} sobre a fase tônica da contração induzida pela histamina na ausência e na presença de 5 mM de CsCl, um bloqueador não seletivo dos canais de potássio (CECCHI et al., 1987). E observou-se que na presença do CsCl houve uma redução tanto na potência como na eficácia espasmolítica apresentada pelo extrato SP-EtOH_{PA}, (Figura 7, Gráfico 6 e Tabela 7), confirmando a participação dos canais de potássio no mecanismo de ação espasmolítica do SP-EtOH_{PA} através da modulação positiva desses canais, o que levaria a uma hiperpolarização de membrana com, conseqüente, bloqueio dos Ca_v e relaxamento da musculatura lisa intestinal.

Resultados semelhantes já foram relatados em estudos utilizando outras espécies de *Solanum*, como *S. jabrense* Agra & Nee, *S. agrarium* Sendtner, e *S. paludosum* Moric., onde produtos-testes destas espécies também ativaram/modularam positivamente os canais de potássio para exercer seus efeitos espasmolíticos em íleo de cobaia (CAVALCANTE, 2001; CORREIA, 2009; MONTEIRO, 2013).

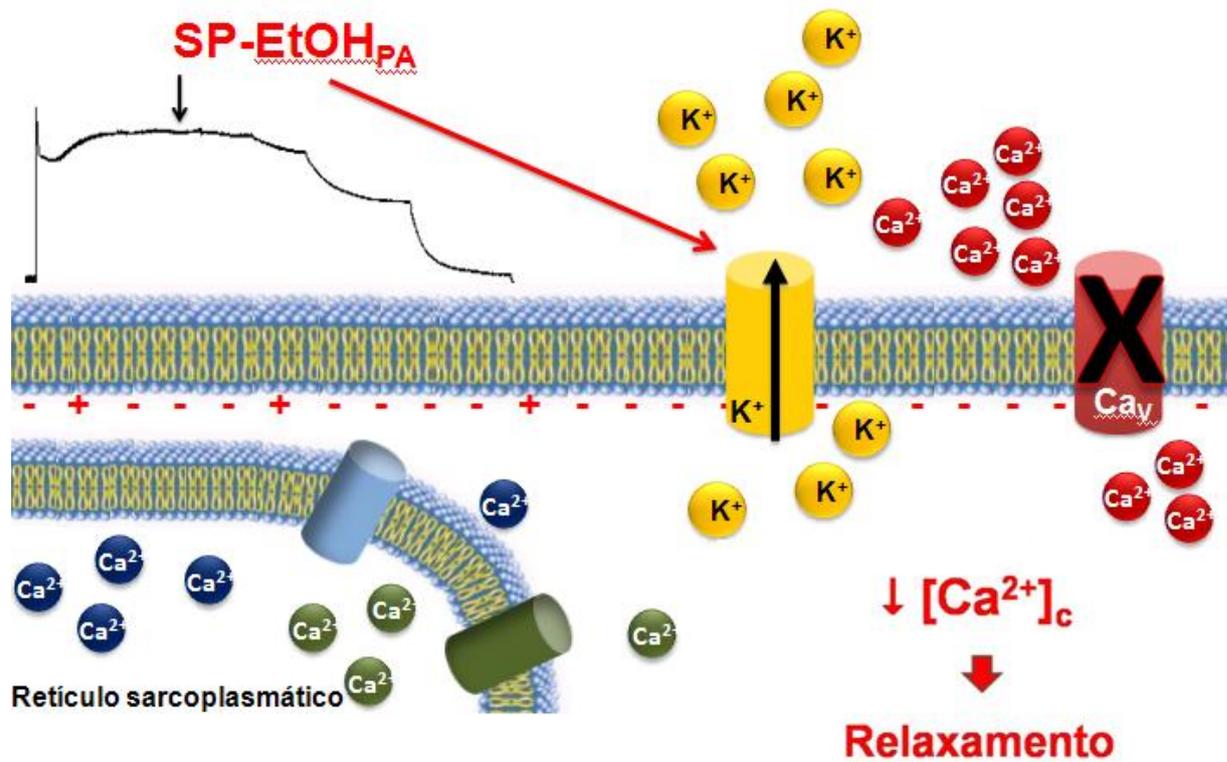
Tomados em conjunto, os resultados obtidos nessa etapa do estudo demonstram que na avaliação do mecanismo de ação do extrato SP-EtOH_{PA}, este teria como alvo a ativação/modulação positiva dos canais de potássio o que indiretamente bloquearia os Ca_v resultando no efeito espasmolítico observado. Porém, mais estudos são necessários para confirmar essa hipótese e determinar qual(is) subtipo(s) de canais de K^+ estariam envolvidos nesse mecanismo.

7 Conclusões

Na investigação do possível efeito espasmolítico dos extratos etanólicos brutos obtidos das partes aéreas e das raízes de *S. paniculatum* L. em modelos de musculatura lisa pode-se concluir que:

- SP-EtOH_{PA} e SP-EtOH_R apresentou um efeito espasmolítico não seletivo em todos os órgãos testados.
- O SP-EtOH_{PA} apresentou maior eficácia espasmolítica na musculatura lisa intestinal;
- O mecanismo de ação espasmolítica do extrato SP-EtOH_{PA} envolve a ativação/modulação positiva dos canais de potássio, bloqueando indiretamente os Ca_v resultando no efeito espasmolítico em íleo de cobaia.

Figura 8 – Esquema representativo do mecanismo de ação relaxante do extrato SP-EtOH_{PA} em íleo isolado de cobaia



Fonte: Autor, 2013.

Referências

- ABDELLATIF, 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. 757-786, 1989.
- 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. Revisão taxonômica de *Solanum* sect. *Erythrotrichum* Child (Solanaceae). **Tese (Doutorado)**. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, 2000.
- AGRA, M. F. Sinopse taxonômica de *Solanum* Sect. *Erythrotrichum* (Solanaceae). In: VIII Congresso Latinoamericano y II Colombiano de Botánica, 2004, Bogotá. **Anais**. p. 192-211, 2004.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, p. 114-140, 2007.
- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 472–508, 2008.
- AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23 (3), São Paulo, 2009.
- AGUILAR, H. N.; MICTHELL, B. F. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. **Human Reproduction Update**, v. 16, p. 725-744, 2010.
- AJAYA, M.; GILANIB, A. H.; MUSTAFAA, M. R. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. **Life Sciences**, v. 74, p. 603–612, 2003.
- 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. S1 – S168, 2007.
- ALEXANDER, S. P.; MATHIE, A.; PETERS, J. A. Guide to Receptors and Channels (GRAC); pp. S1–S209. **British Journal of Pharmacology**, v. 3. Suppl 2. p 153. 2008.
- 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 de Pernambuco**, Recife, 1985.
- ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on drug induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**, v. 219, p. 1698-1705, 1970.

ALVES, R. R. N.; ROSA, I. L. Why study the use of animal products in traditional medicines? **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, p.1-5, 2005.

ATAÍDE, J. R. **Atividade farmacológica dos extratos da jurubeba roxa, *Solanum paludosum* Moric.** João Pessoa. **Dissertação** (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1982.

BALICK, M. J.; COX, P. A. Plants, People and Culture: the Science of Ethnobotany. Scientific American Library, New York, **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 428–429, 1997.

BERRIDGE, M. J. Cell Signalling Pathways. In: **Cell Signalling Biology**. Portland Press Limited , p. 1-118, 2009.

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 of Biology**, v. 7, p. 250 - 262, 1969.

BLAUSTEIN, M. P. Sodium/Calcium exchange in cardiac, smooth and skeletal muscles: key to the control of contractility. **Current Topics in Membranes and Transport**, v. 34, p. 289-330, 1989.

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

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

BOHS, L. Major clades in *Solanum* based on ndhF sequence data. In: A Festschrift for William G. D'Arcy. **Missouri Botanical Garden**. Saint Louis, p. 27-49, 2007.

BOTION, L.M.; FERREIRA, A. V. M.; CÔRTEZ, S. F.; LEMOSA, V. S.; BRAGA, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product ierobina[®] on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 137–142. 2005.

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

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; STANISLAU, A. M.; FERNANDES, G. W. Influence of Brazilian herbal regulations on the use and conservation of native medicinal plants. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 164, p. 369-377, 2010.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. Espécies vegetais. Fev, 2009.

BRASIL. Portal Saúde. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30780. 20/12/2012.

BRASIL. Portal Saúde. **Fitoterápicos são alternativa de tratamento no SUS**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/8061/162/sus-oferece-fitoterapicos-como-alternativa-de-tratamento.html>> Acesso em: 21/07/2013 (2013).

BURGER, M. C. M.; MOURA, B. H. F.; MENEZES, A. C. S.; MENDES, M. M. Avaliação da atividade coagulante das frações obtidas dos frutos de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL e **Congresso Internacional De Etnofarmacologia**, São Paulo. Anais, 2008.

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

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

CARAFOLI, E. Calcium signaling: a tale for all seasons. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A**, v. 99, p. 1115 - 1122. 2002.

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, p. 95-110, 1996.

CATTERALL, W. A.; PEREZ-REYES, E.; SNUTCH, T. P.; STRIESSNIG, J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Calcium Channels. **Pharmacological Reviews**, v. 57, n. 4, p. 411-425, 2005.

CATTERALL, W. A. Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. **Annual Review of Cell & Developmental Biology**, v. 16, p. 521-555, 2011.

CAVALCANTE, F. A. Mecanismo de ação espasmolítica de solavetivona, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* Agra & Nee (SOLANACEAE). 2001. **Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

CAVALCANTE, F. A.; SILVA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. D.; CLAUDINO, F. S.; Agra, M. F.; Silva, T. M. S.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; Silva, B. A. *Solanum jabrense* Agra & M. Nee (Solanaceae) exhibits spasmolytic activity on guinea-pig ileum. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 13, p. 772-776, 2013.

- CECCHI, X.; WOLFF, D.; ALVAREZ, O; LATORRE, R. Mechanisms of Cs⁺ blockade in a Ca²⁺-activated K⁺ channel from smooth muscle. **Biophysical Journal**, v. 52, p. 707-716, 1987.
- CHAH, K. F.; MUKO, K. N.; OBOEGBULEM, S. I. Antimicrobial activity of methanolic extract of *Solanum torvum* fruit. **Fitoterapia**, v. 71, p. 187-189, 2000.
- CHAM, B.E. Solasodine glycosides as anti-cancer agents: preclinical and clinical studies. **Asia Pacific Journal of Pharmacology**, v. 9, p. 113-118, 1994.
- CHITALEY, K.; WEBER, D.; WEBB, R. C. RhoA/Rho-kinase, vascular changes, and hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 3, n. 2, p. 139-144, 2001.
- 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.
- CLEMENTINO-NETO, J. Investigação das atividades tóxica, antidiarreica e espasmolítica de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae). **Trabalho de Conclusão de Curso** – Farmácia. Universidade Federal de Alagoas, 2012.
- CORRÊA, M. P. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Rio de Janeiro: Di Giorgio, 1974.
- CORRÊA, M. F. P., MELO, G. O. DE & COSTA, S. S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p.785-797, 2008.
- CORREIA, A. C. C. Efeito comparativo entre os extratos obtidos das partes aéreas e dos frutos de *Solanum asperum* rich. (solanaceae) em músculo liso. **Trabalho de Conclusão de Curso**. (Graduação em Farmacia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.
- CORREIA, A. C. C. Participação dos canais de potássio na ação espasmolítica de *solanum agrarium* sendtner em íleo de cobaia e útero de rata. **Dissertação (Mestrado)** – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- CORREIA, A. C. C.; MONTEIRO, F. S.; MACEDO, C. L.; BASILIO, I. J. L. D.; Pessoa, H. L. F.; AGRA, M. F.; CAVALCANTE, F. A.; SILVA, B. A. Investigation of hemolytic and spasmolytic activities of total alkaloids fraction from root bark of *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae). In: F. Riet-Correa, J. Pfister, A.L. Schild, and T.L. Wierenga (eds.). **Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins**. © CAB International, 2011.
- CORREIA, A. C. C.; MACÊDO, C. L.; MONTEIRO, F. S.; OLIVEIRA, G.; A.; NASCIMENTO, R. J. B.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A. Aerial parts of *Solanum agrarium* Sendth. (Solanaceae) present the flavonoid myricetin 3,7,3' trimethyl ether and antispasmodic effect on guinea-pig ileum by blockade of voltage-gated calcium channels. **Journal of Medicinal Plants Research**. IN PRESS

- COSTA, O. A. Jurubeba. **Revista Brasileira de Farmácia**, 21 (12): 404 – 416, 1940.
- COSTA, A. F.; **Farmacognosia**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste-Gulbenkian, v. 2. p. 712-713, 1975.
- COSTA, V. C. O. Investigação da Atividade Espasmolítica de *Solanum asperum* Rich. e *Solanum paludosum* Moric.: um estudo comparativo. **Trabalho de Conclusão de Curso**. (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.
- CRAGG, G. M.; GROTHAUS, P. G.; NEWMAN, D. J. Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. **Chemical Reviews**, v. 7, p. 3012 – 3043, 2009.
- CRUZ, G. L. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. 5a ed. São Paulo: Editora Bertrand Ltda, P. 432, 1995.
- DUARTE, M. C.; SILVA, J. L. V.; CAVALCANTE, F. A.; RIBEIRO, L. A. A.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A. Papel dos canais de Ca^{2+} e K^+ na ação relaxante da fase acetato de etila de *Solanum paludosum* Moric. (SOLANACEAE). In: Encontro de Iniciação Científica da UFPB, 9., 2003, João Pessoa. **CD-ROM** (Resumos). João Pessoa: UFPB, 2003.
- EDWARDS, G.; WESTON, A. H. Potassium channel openers and vascular smooth muscle relaxation. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 48, p. 237 - 258, 1990.
- EXTON, J. H. New developments in phospholipase D. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 25, p. 15579-15582, 1997.
- FARMACOPEIA Brasileira. 2.ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.
- FEHER, M.; SCHMIDT, J. M. Property distributions: differences between drugs, natural products, and molecules from combinatorial chemistry. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 43, p. 218-227, 2003.
- FLISCHER, F.; MONTARI, C. A. Química medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia. **Química Nova**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 56-64, 1995.
- 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.
- FOWLER, M. W. Review Plants, medicines and man. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1797-1804, 2006.
- 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.

- FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelium cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, n. 5789, p. 373-376, 1980.
- 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.
- GURNEY A. M. Mechanisms of drug-induced vasodilation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 46, p. 242 - 251, 1994.
- HENKEL, T.; BRUNNE, R. M.; MULLER, H.; REICHEL, F. Statistical investigation into the structural complementarity of natural products and synthetic compounds. **Angewandte Chemie International**, v. 38, p. 643-647, 1999.
- HENRIQUE, A. T.; SIMÕES-PIRES, C.; APEL, M. A. Óleos essenciais: Importância e perspectiva terapêuticas. In: YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**: 2. Ed. – Itajaí: Universidade do vale do Itajaí, Cap. IX, p. 221-256, 2009.
- 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.
- 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.
- 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.
- JACKSON, W. F. Ion channel and vascular tone. **Hypertension**, v. 35, p. 173-178, 2000.
- JIM, K.; HARRIS, A., ROSENBERGER L. B.; TRIGGLE, D. J. Stereoselective and non-stereoselective effects of D 600 (Methoxyverapamil) in smooth muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 76, p. 67-72, 1981.
- KIM, H. R.; APPEL, S.; VETTERKIND, S.; GANGOPADHYAY, S. S.; MORGAN, K. G. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 12, n. 6a, p. 2165-2180, 2008.
- KINGSTON, D. G. I. Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 3, p. 496-511, 2011.
- 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.

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 Biological Chemistry**, v. 264, p. 17997 - 18004, 1989.

KUME, H.; TAKAI, A.; TOKUNO, H.; TOMITA, T. Regulation of Ca^{2+} -dependent K channel activity in tracheal myocytes by phosphorylation. **Nature**, v. 341, p. 152-154, 1989.

KUPCHAN, S.M.; BARBOUTIS, S.J.; KNOX, J.R.; LAU, C.A.. β -solamarine: tumor inhibitor isolated from *Solanum dulcamara*. **Science**, v. 150, p. 1827-1828, 1965.

LEDOUX, J.; WERNER, M.E.; BRAYDEN, J.E.; NELSON, M.T. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone. **Physiology**, v. 21, p. 69-78, 2006.

LEEKNING, M. E.; ROCCA, M.A. Contribuição para o estudo Químico dos frutos do *Solanum paniculatum* L. **Revista da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara**, v.2, p. 299-300, 1968.

LIMA, L. O.; SILVA, P. C. B.; SILVA, A. D. S.; LIMA, K. M.; SILVA, T. M. S.; CAVALCANTE, F. A. . Roots from *Solanum paludosum* Moric. shows antidiarrhoeal and toxic activities in mice. In: **XXI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**, 2010, João Pessoa-PB. Resumos, 2010.

LIN, M. T.; HESSINGER, D. A.; PEARCE, W. J.; LONGO, L. D. Modulation of BK channel calcium affinity by differential phosphorylation in developing ovine basilar artery myocytes. **American Journal of Physiol - Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, n. 2, p. H732-740, 2006.

MATOS, A. F. J. O Formulário Fitoterápico do prof. Dias da Rocha. **Coleção ESAM**. Ano 20, v. 250, p. 131-132, 1987.

MATTOS-FILHO, T. R.; ARAUJO, C. E. P.; PEREIRA, J. A.; ARAUJO, L. C. L.; OLIVEIRA, F. Efeito do pós-tratamento com o extrato bruto hidroalcoólico desidratado de *Solanum paniculatum* L. em lesões hepáticas induzidas por tetracloreto de carbono. **Lecta-USF**, 15 (1/2): 143 – 175, 1997.

McCHESNEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T. Plant natural products: Back to the future or into extinction? **Phytochemistry**, v. 68 p. 2015–2022, 2007.

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

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

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**, 9(6): 508 - 14, 2002.

MEURS, H., GOSENS, R. & ZAAGSMA, J. AIRWAY. Hyperresponsiveness in asthma: lessons from in vitro model systems and animal models. **European Respiratory Journal**, v. 32, p.487-502, 2008.

MINAMI,K.; FUKUZAWA, K.; NAKAYA, Y. Protein kinase C inhibits the Ca^{2+} -activated K^+ channel of cultured porcine coronary artery smooth muscle cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 190, n. 1, p. 293-299, 1993.

MONTEIRO, F. S.; SILVA, A. C. L; MARTINS, I. R .R.; CORREIA, A. C. C.; BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. F.; BHATTACHARYYA, J.; SILVA, B. A. Vasorelaxant action of the total alkaloid fraction obtained from *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) involves NO/cGMP/PKG pathway and potassium channels. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 895-900, 2012.

MONTEIRO, F. S. Ação relaxante da fração de alcaloides totais obtida de *Solanum paludosum* Moric. envolve modulação positiva da via do óxido nítrico e dos canais de k^+ em íleo de cobaia e aorta de rato. **Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2013.

MORGAN, K. The role of calcium in the control of vascular tone as assessed by the Ca^{2+} indicator Aequorin. **Cardiovascular Drugs**, v. 4: p. 1355–1362, 1990.

MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. Medicinal Plants of Brazil. Ed. Robert A. DeFilippis, reference Publications Inc., 2000.

MURTHY, K. S. Signaling for contraction and relaxation in smooth muscle of the gut. **Annual Review of Physiology**, v. 68, n. 1, p. 345-374, 2006.

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, G. A. A ação espasmolítica do óleo essencial de *Lippia microphylla* Cham. e de seus constituintes majoritários envolve o bloqueio do influxo de cálcio em íleo de cobaia. **Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2013.

OLIVEIRA, J. P.; SILVA, B. A.; LIMA, J. T.; RIBEIRO, L. A. A.; SILVA, T. M. S.; CHAVES, M. C. O. Investigação da atividade espasmolítica de *Solanum paraibanum* Agra (SOLANACEAE) e de *Piper caldense* C. DC. (PIPERACEAE). In: Encontro de Iniciação Científica da UFPB, 9., 2001, João Pessoa. **CD-ROM (Resumos)**. João Pessoa: UFPB, V.13.03, 2001.

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. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 146-151, 2006a.

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, Alemanha, v. 61c, p. 799-805, 2006b.

OLMSTEAD, R. G.; LYNN BOHS, L.; MIGID, H. A.; SANTIAGO-VALENTIN, E.; GARCIA, V. F.; SARAH M. COLLIER, S. M. A molecular phylogeny of the Solanaceae. **Molecular Phylogenetics**, v. 57, p. 1159–1181, 2008.

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

ORALLO, F. Regulation of cytosolic calcium levels in vascular smooth muscle. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 69, p. 153–171; 1996.

PAN, Z.; MA, J. Retrograde activation of store-operated calcium channel. **Cell Calcium**, v. 33, p. 375 - 384, 2003.

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.

REMBOLD, C. M. Regulation of contraction and relaxation in arterial smooth muscle. **Hypertension**, v. 20, p. 129–137; 1992.

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

REVUELTA, M. P.; CANTABRANA, B.; HIDALGO, A. Mechanisms involved in kaempferol-induced relaxation in rat uterine smooth muscle. **Life Sciences**, v. 67, p. 251 – 259, 2000.

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.

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, p. 34-35, 2002.

RIBEIRO, S. R.; FORTES, C. C.; OLIVEIRA, S. C. C.; CASTRO, C. F. S. Avaliação da atividade antioxidante de *Solanum paniculatum* (Solanaceae). **Arquivos de Ciência e Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 179-183, 2007.

RIBEIRO, V.; VIEIRA, I. L. B. F.; SILVA, E. M.; ROSA, T. M.; CIESLAK, J. F.; FERREIRA, H. D.; CARVALHO, S. Avaliação do potencial citotóxico da *Solanum paniculatum* L. em células somáticas de *Drosophila melanogaster*: SMART/asa. In: **Congresso De Genética Do Centro-Oeste**, 1, Brasília. Anais. 2008.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p.102-123, 2001.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311-318, 2011.

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

SANTOS, M. T. Atividades gastrointestinais e hepáticas da jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1996.

SANTOS, R. F.; CAVALCANTE, F. A.; CLAUDINO, F. S.; SOUSA, J. P.; MEDEIROS, A. F. D.; ALARCON, K. M.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A. Estudo Comparativo do Efeito Espasmolítico Entre *Solanum agrarium* e *Solanum stipulaceum* Roem & Schult.. In: Maria de Fátima Vanderlei de Souza. (Org.). Inciados. 9 ed. João Pessoa-PB: **Editora da Universidade Federal da Paraíba**, v. único, p. 98-114, 2003.

SANTOS R. F. Ação espasmolítica de retusin, flavonóide isolado de *Solanum paludosum* Moric. e de seu derivado metilado em óleo isolado de cobaia. **Dissertação (Mestrado)** - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa Universidade Federal da Paraíba, 2006.

SANTOS, M. R. V.; CARVALHO, A. A.; MEDEIROS, I. A.; ALVES, P. B.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A. R. Cardiovascular effects of *Hyptis fruticosa* essential oil in rats. **Fitoterapia**, v. 78, p. 186-191, 2007.

SATO, Y.; HE, J. X.; NAGAI, H.; TANI, T.; AKAO, T. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of *Glycyrrhiza uralensis* roots, acts in the lower part of intestine. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 1, p. 145-49, 2007.

SCHREIBER, K.; RIPPERGER, H.; BUDZIKIEWICZ, H. (22R:25S)-3 b-amino-5a-spirostan, ein Steroidalkaloid neuartigen Strukturtyps aus *Solanum paniculatum* L. **Tetrahedron Letters**, v. 45, p. 3999–4002, 1965.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia Racional**. 1 ed. Editora: Manole, São Paulo, 2002.

SHMIGOL, A.; EISNER, D. A.; WRAY, S. Properties of voltage-activated $[Ca^{2+}]$ transients in single smooth muscle cells isolated from pregnant rat uterus. **The Journal of Physiology**, v. 511, p. 803–811, 1998.

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. ; SILVA, B. A. ; CAVALCANTE, F. A. ; MACÊDO, L. S. ; DUARTE, J. C.; SILVA, T. M. S. . Investigação da atividade espasmolítica de *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae): estudo comparativo entre os extratos etanólico e metanólico. In: Maria de Fátima Vanderlei de Souza. (Org.). Iniciados. 8 ed. João Pessoa-PB: **Editora da Universidade Federal da Paraíba**, v. 8, p. 223-237, 2002.

SILVA, J. L. V. Monitoração da atividade vasorelaxante de produtos obtidos das partes aéreas de *Solanum paludosum* Moric. (SOLANACEAE), **Dissertação (Mestrado)** - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa Universidade Federal da Paraíba, 2005.

SILVA, P. C. B. Investigação da atividade espasmolítica de *Solanum paraibanum* Agra: um estudo comparativo. 2007. **Monografia** (Universidade Federal de Alagoas, Maceió) 2007.

SILVA, P. C. B. ; CLEMENTINO-NETO, J.; SILVA, A. D. S. ; SILVA, K. M.; SILVA, T. M. S. ; AGRA, M. F. ; CAVALCANTE, F. A. . Antidiarrhoeal activity of *Solanum asterophorum* Mart. (Solanaceae) in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 131-136, 2012.

SIQUEIRA, N. S., MACAN, A. Cromatografia dos alcalóides da *Solanum paniculatum* L. **Trib. Farm.** V.44, p. 101-105, 1976.

SIQUEIRA-JACCOUD, R. J.; PEREIRA, N. A.; LAINETTI, R. Jurubeba .**Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, p. 121–131, 1982.

SIXEL, P. J.; PECINALLI, N. R. Características Farmacológicas Gerais Das Plantas Medicinais. **Infarma**, v.16, n. 13/14, p. 74-77, 2005.

SOMLYO, A. P.; WU, X.; LALKER, L. A.; SOMLYO, A. V. Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, v. 134, p. 201– 234, 1999.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. **Physiology Reviews**, v. 83, p. 1325-1358, 2003

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.

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.

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, n. 4, p. 797-806, 2000.

TRIGGLE, C. R.; SWAMY, V. C.; TRIGGLE, D. J. Calcium antagonists and contractile responses in rat vas deferens and guinea pig ileal smooth muscle. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology**, v. 57, p. 804-818, 1979.

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 Science**, v. 560, p. 215-229, 1989.

TSCHIRHART, E.; FROSSARD, N.; BERTRAND, C.; LANDRY, Y. Arachidonic acid metabolites and airway epithelium-dependent relaxant factor. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 243, n. 1, p. 310-316, 1987.

UEHATA, M.; ISHIZAKI, T.; SATOH, H.; ONO, T.; KAWAHARA, T.; MORISHITA, T.; TAMAKAWA, H.; YAMAGAMI, K.; INUI, J.; MAEKAWA, M.; NARUMIYA, S. Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. **Nature**, v. 389, n. 6654, p. 990-994, 1997.

VAANDRAGER, A. B.; DE JONGE, H. R. Signalling by cGMPdependent protein kinases. **Molecular Cell Biochemistry**, v. 157, p. 23–30; 1996.

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

VAN BREEMEN, C.; SAIDA, K. Cellular mechanisms regulating $[Ca^{2+}]_c$ smooth muscle. **Annual Review of Physiology**, v. 51, p. 315 - 329, 1989.

VALEZE, F. H.; BRENZAN, M. A. Perfil de utilização de medicamentos fitoterápicos pela população do município de Boa Esperança – PR. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 6, n. 1, p. 17-24, 2011.

VASCONCELOS, L. H. C.; CLEMENTINO-NETO, J.; SILVA, P.C.B.; SOUZA, I. L. L.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A.; CAVALCANTE, F. A. Efeito antidiarreico de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) envolve alterações na motilidade e na secreção intestinal. In: **III Congresso Iberoamericano de Fitoterapia (III CIAF)**, 2012, Foz do Iguaçu-PR. III CIAF 2012.

- VIEGAS-JÚNIOR, 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.
- VIEIRA, P. M. Estudo do potencial mutagênico e antimutagênico de *Solanum paniculatum* L. pelo teste do micronúcleo em camundongos. **Revista de Biologia Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 173-174, 2007.
- WALSH, C. T.; FISCHBACH, M. A. Natural products version 2.0: connecting genes to molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v.132, n.8, p. 2469-2493, 2010.
- 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.
- WESTON, A. H.; EDWARDS, G. Recent progress in potassium channel opener pharmacology. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, n. 1, p. 47-54, 1992.
- WHITE, R. E.; LEE, A. B.; SHCHERBATKO, A. D.; LINCOLN, T. M.; SCHONBRUNN, A.; ARMSTRONG, D. L. Potassium channel stimulation by natriuretic peptides through cGMP-dependent dephosphorylation. **Nature**. v. 361, p. 263-266, 1993.
- WRAY, S.; KUPITTAYANANT, S.; SHMIGOL, A.; SMITH, R. D.; BURDYGA, T. V. The physiological basis of uterine contractility: a short review. **Experimental Physiology**, v. 86, p. 239-246, 2001.
- WRAY, S.; BURDYGA, T.; NOBLE, K. Calcium signalling in smooth muscle. **Cell Calcium**, v. 38, p. 397-407, 2005.
- ZURLO, C.; BRANDÃO, M. As ervas comestíveis: descrição, ilustração e receitas. **Editora Globo**, São Paulo, 1990.

Anexo

Anexo A: Certidão de aprovação da Comissão Ética no Uso Animal (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIDÃO

João Pessoa, 28 de maio de 2013.

CEUA Nº 0905/13

Ilmo(a). **Bagnólia Araújo da Silva**
Departamento Ciências Farmacêuticas - CCS - UFPB

Orientando(a) : **Joedna Cavalcante Pereira, (Outros (Justificar))**

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba em sua reunião ordinária de **27/05/13** analisou e **APROVOU** a execução do projeto **Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes de Solanum paniculatum L.: um estudo comparativo.**

Com previsão de empregar **30 Cobaia - Cavia porcellus - Machos; 20 Ratos WISTAR; 20 Ratas WISTAR;** - ANIMAIS PROVÊM DO **BIOTÉRIO Prof. Thomas George.**

Para serem utilizados no período de **01/06/2013 a 30/08/2013**

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animal do CBIotec/UFPB