

OCORRÊNCIA DA ACETILCOLINA NO FRUTO DA *Solanum ovigerum* Dun

ANTONIO CESÁRIO DE MELLO* & EDVALDO RODRIGUES DE ALMEIDA*

* Departamento de Antibióticos da U.F.PE - Cidade Universitária, Recife, PE - Brasil
50.000

A *Solanum ovigerum* Dun é uma planta da família das solanáceas, conhecida no Brasil como berinjela branca. Foi identificada no extrato aquoso dessa planta uma substância com atividade colinérgica. Sua identificação foi baseada nas seguintes observações: a) efeito inotrópico e cronotrópico negativo no coração isolado do sapo; b) contração do músculo reto anterior do sapo. Esses efeitos foram seletivamente bloqueados pela atropina e galamina, respectivamente. Além disso, o extrato em presença da prostigmina teve seu efeito potenciado e quando incubado com soro humano, a 37 °C por 40 minutos, seu efeito foi inibido. Finalmente, o estudo em cromatografia em papel revelou a presença de uma mancha com o mesmo R_f da acetilcolina. Esses achados sugerem que o fruto da berinjela branca contém uma substância semelhante ou a própria acetilcolina.

UNITERMOS: *Solanum ovigerum* Dun. Efeitos colinomiméticos. Acetilcolina.

1 INTRODUÇÃO

A *Solanum ovigerum* Dun é uma planta da família das solanaceas, conhecida no Brasil pelo nome de berinjela branca. Em Pernambuco é geralmente cognominada de ovo. É uma planta ornamental, e seu fruto é servido cozido, frito ou assado na alimentação porém, seu uso não é tão popularizado como o da berinjela roxa.

A presença de substâncias com atividade colinomimética vem ocorrendo com grande frequência no extrato aquoso das plantas da família das solanaceas. Os primeiros ensaios farmacológicos realizados no coração isolado de sapo evidenciaram que o extrato aquoso do fruto da berinjela branca promove efeito colinomimético.

O objetivo do presente trabalho foi verificar se a substância responsável pela atividade do extrato era a acetilcolina, desde que esse neurotransmissor tem sido encontrado em várias plantas ^{1,3,5,6,7,8,9,10,12}.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação do Extrato

Os frutos foram colhidos nos arredores da cidade do Recife, Pernambuco - Brasil. Imediatamente após a colheita, os frutos foram lavados em água de torneira e mantidos a temperatura de -20 °C Posteriormente, os frutos foram homogeneizados em acetona. O homogeneizado (100% p/v) assim obtido foi centrifugado e o sobrenadante mantido na temperatura de 0 - 4 °C Somente no momento do uso a acetona foi evaporada e igual volume de cloreto de sódio a 0,9% adicionado e testado biologicamente.

2.2 Coração isolado de Sapo

Os animais pesando em média 250g foram imobilizados por destruição do eixo cérebro-espinhal e fixados em placas de cortiça. Em seguida, o coração foi exposto e isolado. O órgão foi perfundido segundo a técnica descrita por Velásquez¹³.

2.3 Reto Anterior de Sapo

Os animais foram imobilizados como na preparação anterior e o músculo reto anterior dissecado e isolado de suas aponeuroses. O órgão foi colocado na cuba de 10ml

contendo Ringer-batrâquiu e aerado na temperatura ambiente⁴. Após 30 minutos de repouso, as contrações isotônicas do músculo produzidas pelas drogas foram registradas através de uma alavanca inscritora frontal com uma ampliação de 6 vezes e tensão de 2g num quimógrafo com seu tambor esfumado.

2.4 Incubação do Extrato com Plasma Humano

Após verificação da sensibilidade do músculo reto anterior do sapo pelo extrato, uma dose produzindo resposta entre 20 e 80% do efeito máximo foi repetida até estabilização da mesma. A seguir o dobro da dose escolhida foi incubada com duas vezes o volume do plasma humano durante 40 minutos, e a metade do volume incubado foi testado na preparação.

2.5 Cromatografia em Papel

O extrato usado para realizar a cromatografia foi preparado a partir de 100ml do homogeneizado do fruto da planta em acetona (100% p/v), que foi evaporado a baixa pressão para um volume de 10ml. A cromatografia foi baseada nas técnicas descritas por Augustinsson² e Whittaker¹⁴. Num papel Whatman nº 1, medindo 4 x 30 cm, foi traçado com um lápis uma linha de 3 cm de sua extremidade inferior na qual foram colocadas uma gota do extrato concentrado e outra de uma solução de acetilcolina a 0,2%, separadas por uma distância de 1,3 cm. Depois que as gotas secaram, o papel foi fixado em posição vertical dentro de uma cuba contendo: n-butanol, etanol, ácido acético e água (8:2:1:3), tendo o cuidado de mergulhar só 2 cm da extremidade inferior dentro da solução e a cuba foi fechada. Após 5 horas, o papel foi retirado e deixado secar na temperatura ambiente, sendo em seguida, vaporizado com o reativo de Dragendorff.

3 RESULTADOS

3.1 Coração Isolado de Sapo

A adição de 4 µg de Ach e de 40 mg do extrato na cuba de perfusão produziram efeitos inotrópico e cronotrópico negativos seguidos de parada do órgão. Esses efeitos foram bloqueados na presença de atropina na dose de 2 µg (figura 1).

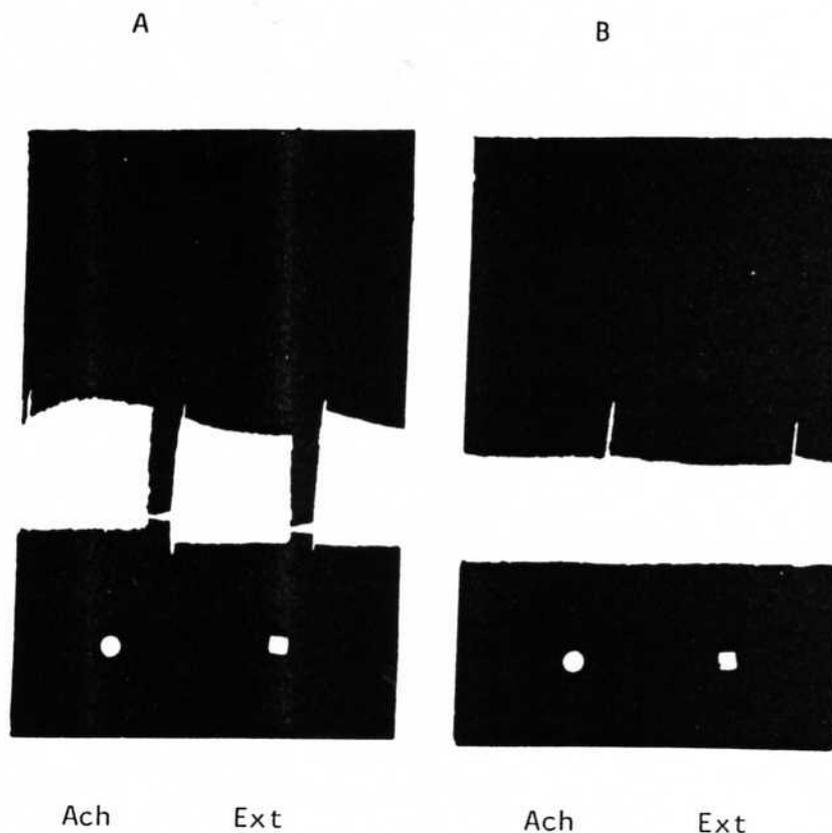


Figura 1. Coração isolado de sapo. A) Ach: efeito de 4 μg de acetilcolina. Ext: efeito de 40 mg do extrato. B) adição ao banho de 2 μg de atropina.

3.2 Reto Anterior de Sapo

A dose de 4 μg de Ach como também a dose de 40 mg do extrato produziram contrações do músculo, as quais foram bloqueadas em presença de galamina na dose de 20 μg . Após lavagens sucessivas o músculo voltou a responder tanto à Ach quanto ao extrato na mesma intensidade inicial e potenciadas pela prostigmina na dose de 40 μg (figura 2).

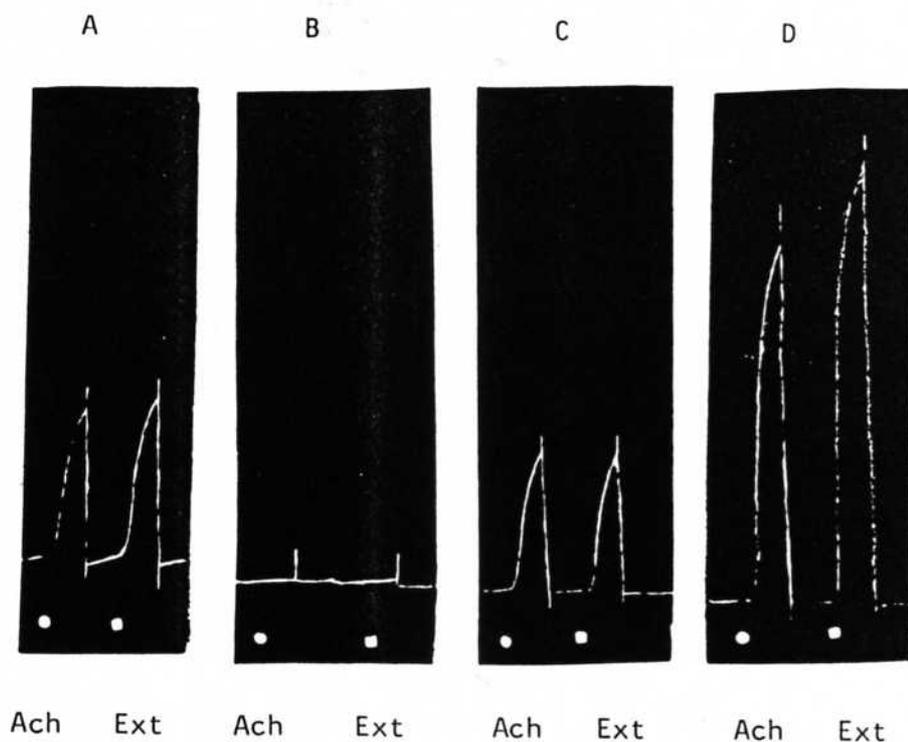


Figura 2. Reto anterior de sapo. A) Ach: 4 μ g de acetilcolina. Ext: 40 mg do extrato. B) Apõs adiçõo de 20 μ g de galamina. C) Apõs lavagens sucessivas. D) Apõs adiçõo de 40 μ g de prostigmina.

3.3 Incubaçõo do Extrato com Plasma Humano

Tanto o incubado da Ach como o do extrato não produziram resposta muscular (figura 2).

3.4 Cromatografia em Papel

No cromatograma do extrato foi identificada a presença de uma mancha cujo R_f foi igual ao da acetilcolina (figura 3).

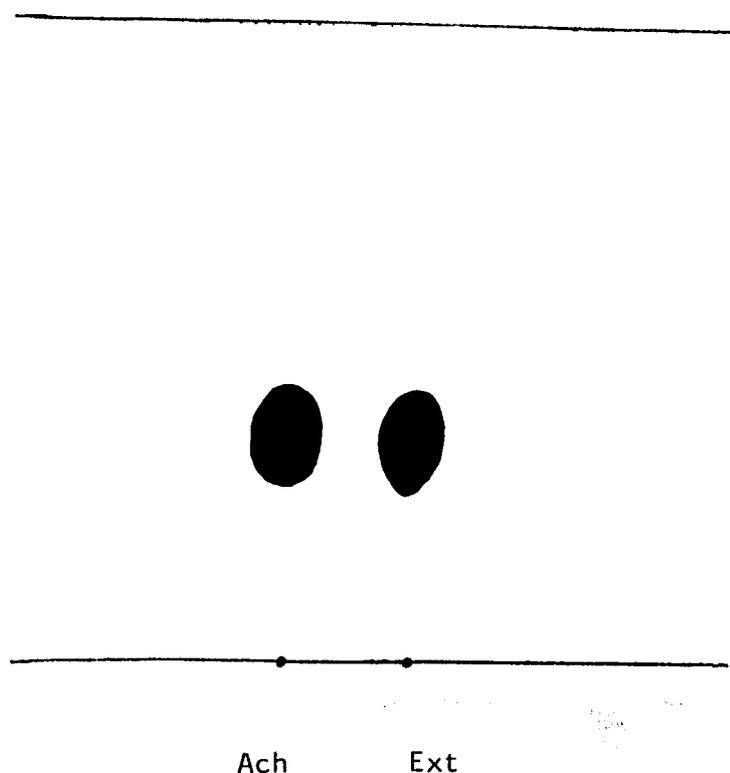


Figura 3. Cromatograma em papel da acetilcolina e do extrato. Ach: mancha da acetilcolina. Ext: mancha do extrato.

4 DISCUSSÃO É CONCLUSÃO

Os resultados observados no coração isolado do sapo evidenciam a ação muscarínica do extrato, pois esta é bloqueada pela atropina. A ação nicotínica foi verificada no reto anterior do sapo a qual foi inibida pela galamina e potenciada pela prostigmina. Quando o extrato foi incubado com a colinesterase plasmática, sua atividade foi também inibida. Por outro lado, a cromatografia em papel identificou no extrato a presença de uma mancha com R_f igual ao da acetilcolina. Todas essas evidências mostram claramente que o princípio ativo do extrato do fruto da berinjela branca deve ser a acetilcolina.

SUMMARY

OCCURRENCE OF ACETYLCHOLINE-LIKE ACTIVITY IN THE FRUIT SOLANUM OVIGERUM DUN.

The plant *Solanum ovigerum* Dun belongs to the Solanaceae family and it is known in North-eastern Brazil as "berinjela branca" (White egg-plant). The plant has been used as a garnish and its fruits as food are served baked, grilled or fried. Since the findings of cholinergic agents are becoming common in Solanaceae family we have investigated that cholinergic activity in White egg-plant. It was found cholinergic activity in the aqueous extract of the plant through the following tests: negative chronotropic and inotropic effects on isolated toad heart; isotonic contraction of isolated rectus abdominis. These effects were selectively inhibited by atropine or galamine, sensitized in presence of prostigmine and disappeared after incubation of the extract with plasma. Further evidence showing that the fruit of White egg-plant contains acetylcholine was obtained by paper chromatographic separation of the ketonic extract.

UNITERMS: *Solanum ovigerum* Dun. Cholinergic effects. Acetylcholine.

AGRADECIMENTO

Agradecemos ao Sr. José Francisco dos Santos Filho pela valiosa assistência técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APPEL, W. & WERLE, E. - Nachweis von Histamine, N-Dimethyl Histamine, N-Acetylhistamine und Acetylcholine in *Spinaceae oleraceae*. Arzneim.Forsch., Aulendorf, 9: 22-6, 1950.
2. AUGUSTINSSON, K. B. & GRAHN, M. - The separation of choline esters by paper chromatography. Acta Chem. Scand., Copenhagen, 7:906-12, 1953.
3. BACO, M. - Distribution of acetylcholine in potatoes. Bull. Acad. R. Belg., Bruxelles, 24:545-7, 1939.
4. BURN, J. H. - Practical pharmacology. Oxford, Blackwell, 1953. p.1-4.

5. CHUN YU LIN, R. - Presence of acetylcholine in Malayan jack-fruit. - *Artocarpus in tegræ*. Brit. J. Pharmacol., London, 10:247-53, 1955.
6. EMMELIN, N. & FELDBERG, W. - The mechanism of the sting of the common nettle *Urtica urens*. J. Physiol., London, 106:440-55, 1937.
7. HOLTZ, P & JANISH, H. - Presence of acetylcholine, histamine and adnosine in plants. Arch. Exp. Path. Pharmacol., Berlin, 187:336-43, 1937.
8. MARQUADT, P. - Die chemische Konstitution des blutdrucksenkenden Faktors in der Kartoffel. Arzneim. Forsch., Aulendorf, 9:301-4, 1952.
9. MELLO, A. C.; PEREC, C. J.; RUBIO, M.C. - Acetylcholine-like activity in the fruit of the nightshade (*Solanaceae*). Acta Physiol. Latinoam., Buenos Aires, 26:171-8, 1978.
10. MELLO, A. C. & AFIATPOUR, P. - Presence of acetylcholine in the fruit of *Physalis angulata* (*Solanaceae*). Ciência e Cultura, São Paulo, (no prelo).
11. POTTER, L. T. & MURPHY, L. - Eletrophoresis of acetylcholine, choline and related compounds. Biochem Pharmacol., London, 16:1386-8, 1967.
12. SEXANA, B.T; TANGRI, K.K.; BHARGAVA, K. P. - Identification of acetylcholine, histamine and 5-hydroxytryptamine in *Giradine heterophylla*. Canad. J. Physiol. Pharmacol., Ottawa, 44: 621-27, 1966.
13. VELÁZQUEZ, B. L. - Terapèutica con sus fundamentos de farmacologia experimental. Barcelona, Científica Médica, 1953. v.2, p.433.
14. WHITTAKER, V. P. & WIJESUNDERA, S. - The separation of esters choline by filter - paper chromatography. Biochem. J., London, 51: 346-51, 1952.

Recebido para publicação em: 13/03/86.