

PEDRO PAULO BARROS

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE AGENTES  
OSMÓTICOS SOBRE A ATIVIDADE DEPRESSORA DA ISOAMINILA  
(PEROCAN<sup>®</sup>) NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba da UNICAMP para obtenção do  
título de mestre em Ciências (Farmacologia).

PIRACICABA

— 1976 —

**UNICAMP**  
**BIBLIOTECA CENTRAL**

A meus pais,

em reconhecimento pelo muito que  
me fizeram.

A êles, exemplos de carinho,  
dedicação e trabalho.

A meus irmãos, que viram o menor  
deles mais crescido.

A Raquel, pelo incentivo e com-  
panhia.

Ofereço êste trabalho.

A meus irmãos, que viram o menor  
deles mais crescido.

A Raquel, pelo incentivo e com-  
panhia.

Ofereço êste trabalho.

Ao amigo,  
mestre e orientador deste tra-  
balho, Dr. Minoru Sakate, a  
quem devo seus ensinamentos.  
Pela sua valiosa assistência,  
estímulo e dedicação, deixo  
aqui o meu reconhecimento.

## A C R A D E C I M E N T O S

Deixamos aqui o melhor de nossos agradecimentos a todos quantos, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado e, de maneira especial:

- aos Professores Armando Octávio Ramos e Wilma Pereira Bag dos Barros pelo interesse com que acompanharam o presente trabalho;

- ao Professor Antonio Carlos Neder pelas oportunidades proporcionadas;

- aos professores do Curso de Pós-Graduação pela dedicada colaboração;

- aos professores da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu (FCMBB), pela amizade com que nos distinguiram;

- aos professores da Disciplina de Matemática e Estatística, assim como aos funcionários do Centro de Processamento de dados da FCMBB, pela valiosa colaboração nas análises estatísticas;

- aos colegas do Curso de Pós-Graduação pela solidariedade;

- ao Laboratório Eyt do Brasil, na pessoa de seu Diretor Científico, Dr. Hans Jursen Walter, pelo fornecimento do Percan e bibliografia sobre o mesmo;

- ao Sr. Rivaldo de Assis Laceruta e Sra. Cléo Zenoto Salvador Lopes de Souza, pelo auxílio na parte experimental;

- à Sra. Ivonete Aparecida Dorini de Aguiar e Silva, pelos serviços datilográficos;

- às Bibliotecas e Serviços de Biotérios da FCMBB e da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP), ao Serviço de documentação fotográfica e gráfica da FCMBB;

- à Universidade Estadual de Campinas e em especial à Faculdade de Odontologia de Piracicaba pelo Curso de Pós-Graduação e à Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu pela nossa formação profissional.

C O N T E U D O

PAGINA

INTRODUÇÃO .....	01
MATERIAL E METODOS .....	04
1 - Animais utilizados.....	04
2 - Drogas e soluções utilizadas .....	04
3 - Preparação do íleo isolado de cobaio e registro das contrações .....	06
4 - Determinação da osmolaridade das soluções nutrien- tes .....	07
5 - Sistematização da pesquisa .....	09
6 - Avaliação estatística dos resultados .....	12
RESULTADOS .....	13
1 - Tipo de antagonismo entre a Acetilcolina e Perocan	13
2 - Influência do aumento da osmolaridade da solução nutriente sobre a contratilidade do íleo isolado.	13
3 - Influência do aumento da osmolaridade da solução nutriente sobre a atividade depressora do Perocan	15
DISCUSSÃO .....	38
CONCLUSÕES .....	43
PREFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

## I N T R O D U Ç Ã O

A Isoaminila é a alfa-(isopropil)- alfa-(beta-dimetilaminopropil)-1-fenil acetonitrila, conhecida também como Perocan e Peraçon, tendo a ciclohexilamino sulfonato de Perocan (Perocan<sup>R</sup>) sido comercializado pelo Laboratório BYK do BRASIL como medicamento antitussígeno (MILLER, 1964).

Os estudos farmacológicos iniciais da Isoaminila foram realizados por KRAUSE (1958), que a descreveu como uma substância de baixa toxicidade, sem marcada influência para o lado do sistema nervoso autônomo, apresentando atividade antitussígena igual a da codeína e atividade analgésica inferior à da codeína e demais morfínicos. O efeito béquico da Isoaminila não foi evidenciado por RAMOS & col. (1964), tendo sido observado a atividade espasmolítica desta substância.

A ação bloqueadora ganglionar do Perocan foi demonstrada nos receptores nicotínicos e muscarínicos dos gânglios autonômicos (BASTOS & RAMOS, 1970), tendo sido também demonstrada a atividade parassimpaticolítica da substância (RAMOS & col., 1965-a).

A atividade antiarritmica do Perocan foi descrita (RAMOS & col., 1965-b) através de estudos realizados em cães com arritmias experimentais provocadas pelo cloreto de bário, aconitina ou pela associação adrenalina e clorofórmio. GIULIANO & col. (1964) verificaram que o Perocan aumentava o



período refratário funcional do músculo atrial de coelho, utilizando o método de DAWES (1946), além de constatar a atividade cronotrópica e inotrópica negativa da substância naquela preparação. SAKATE (1972) confirmou em átrio isolado de cobaia a atividade inotrópica e cronotrópica negativa do Perocan, assim como demonstrou a capacidade da solução nutriente hipertônica em prevenir ou antagonizar o efeito depressor do Perocan sobre a amplitude das contrações do músculo atrial do cobaio, espontâneas ou induzidas por estímulos elétricos, tendo formulado a hipótese da participação da hiperhidratação celular como o mecanismo de ação depressora do Perocan, uma vez que a Uréia hiperosmótica não atuou eficazmente no antagonismo considerado e não houve participação de catecolaminas (SAKATE, 1972-b). Estudos realizados em átrio isolado de cobaio mostraram também que a atividade depressora da Metoclopramida (SAKATE & RAMOS, 1972), Kanamicina (MENDES & col., 1973), Pentobarbital sódico (SAKATE, 1974-a) e Verapamil (1974-b) eram antagonizados pela solução nutriente hipertônica, evidenciando que o antagonismo "osmótico" não é específico para a atividade depressora do Perocan no átrio isolado de cobaio.

No íleo isolado de cobaio, verificou-se através do método da dose-resposta cumulativa que o antagonismo entre o Cloreto de bário e Perocan era do tipo não competitivo, tendo a atividade depressora do Perocan sido antagonizado pela solução nutriente hiperosmótica (SAKATE, 1971). Estudos sere-

lhantes realizados com a Acetilcolina e Cloreto de bário mostraram que a hipertonicidade da solução nutriente antagonizava o efeito depressor da Papaverina (SAKATE & col., 1972-a). Entretanto, ~~Entretanto~~, quando a Nicotina foi utilizada como agonista, houve antagonismo pela solução nutriente hipertônica, quando o antagonista utilizado foi o Perocan (SAKATE & col., 1973-c), não se observando contudo alterações significativas da resposta quando a Papaverina foi utilizada como antagonista (SAKATE & col., 1973-b). Quando do uso da Histamina como agonista observou-se reversão do efeito depressor do Perocan e da Papaverina pela Uréia hiperosmótica (SAKATE & col., 1973-a).

Estudos preliminares (SAKATE & col., 1972-b) mostraram, que a hipertonicidade da solução nutriente a nível de 1,5 vezes a concentração de Cloreto de sódio na solução nutriente, não antagonizar significativamente a atividade depressora do Perocan no íleo isolado de cobaio, quando o agonista utilizado foi a Acetilcolina.

Assim, propôs-se o reestudo do antagonismo Acetilcolina e Perocan no íleo isolado de cobaio, através do método da dose resposta cumulativa, em três níveis de hiperosmolaridade obtidas com o Cloreto de sódio, Sacarose e Uréia, cujos resultados são apresentados no presente trabalho.

## M A T E R I A L E M E T O D O S

### 1 - ANIMAIS UTILIZADOS

Foram utilizados 61 cobaias (Cavia porcellus, Pallas, 1766) de ambos os sexos, pesando de 400 a 600 gramas, fornecidos pelos biotérios centrais das Faculdades de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP e da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu da UNESP.

### 2 - DROGAS E SOLUÇÕES UTILIZADAS

#### 2.1 - Drogas utilizadas

- 2.1.1 - Bicarbonato de sódio, p.a., Lab. Carlo Erba.
- 2.1.2 - Cloreto de Acetilcolina, ampolas de 200 mg, Lab. Roche, utilizada em solução de 10 mcg/ml, equivalente a 3,044 mcg/ml de Acetilcolina base.
- 2.1.3 - Cloreto de cálcio, p.a., Lab. Merck.
- 2.1.4 - Cloreto de magnésio, p.a., Lab. Riedel.
- 2.1.5 - Cloreto de potássio, p.a., Lab. Backer.
- 2.1.6 - Cloreto de sódio, p.a., Lab. Reagem.
- 2.1.7 - Dextrose, p.a., Lab. Reagem.
- 2.1.8 - Fosfato monossódico, p.a., Lab. Reagem.
- 2.1.9 - Isoaminila (Perocva<sup>R</sup>) - ciclo hexilavinosulfonato de alfa-(isopropil)-alfa - (beta-dimetilaminopropil)-1- fenil acetoneitrila, p-

utilizada em solução aquosa contendo 1,0 mg/ml.

2.1.10- Sacarose, p.a., Lab. Reagem.

2.1.11- Uréia, p.a., Lab. Carlo Erba.

## 2.2 - Soluções utilizadas

### 2.2.1 - Solução nutriente de Tyrode

A solução de Tyrode apresentava a seguinte composição: Cloreto de sódio 8,0 g; Cloreto de potássio 0,2 g; Cloreto de cálcio 0,2 g; Cloreto de magnésio 0,1 g; bicarbonato de sódio 1,0 g; fosfato monossódico 0,05 g; dextrose 1,0 g e água destilada e desionizada q.s.p. 1 litro de solução.

### 2.2.2.- Soluções hipertônicas

Para o aumento da osmolaridade da solução nutriente foram utilizados:

2.2.2.1 - Cloreto de sódio - Em solução aquosa a 30 por cento. Foram utilizados; 0,2; 0,4 e 0,8 ml para 15 ml de solução nutriente, respectivamente para elevar a concentração de Cloreto de sódio em 0,5; 1,0 e 2,0 vezes a sua concentração normal na solução de Tyrode. Nos grupos experimentais em que se utilizou o volume inicial da solução nutriente de 21 ml, as volumes da solução de cloreto de sódio foram aumentadas proporcional

mente.

2.2.2.2 - Sacarose - Em solução aquosa a 50 por cento. Foram utilizados 1,4; 2,8 e 5,6 ml para elevar respectivamente a atividade osmótica da solução nutriente equivalente ao tratamento realizado com Cloreto de sódio. Em alguns casos foram utilizados Sacarose 0,7; 1,4 e 2,8 g para a mesma finalidade. Nos grupos experimentais em que se utilizou o volume inicial da solução nutriente igual a 21 ml, a quantidade da Sacarose foi acrescida proporcionalmente.

2.2.2.3 - Uréia - Em solução a 31,2 por cento. Foram utilizados 0,4; 0,8 e 1,6 ml para elevar equivalentemente a atividade osmótica da solução nutriente. Nos grupos experimentais em que se utilizou o volume inicial de 21 ml da solução nutriente a quantidade da Uréia foi acrescida proporcionalmente.

### 3 - PREPARAÇÃO DO ÍNDO ISOLADO DE CORALIO E ENTILERO DAS CON- TRACÕES

Os animais eram sacrificados com pancada na nuca e, a seguir, escorçados. A cavidade abdominal era então aberta, e um segmento de cerca de 6 cm de íleo termi-

nal era retirado e colocado numa cápsula de porcelana contendo solução oxigenada de Tyrode. Imediatamente após isolada de suas conexões e retirado o conteúdo intestinal, foi tomado um segmento de cerca de 3 cm e este era fixado numa extremidade a uma alavanca de vidro, colocado em banho tino Magnus contendo solução de Tyrode oxigenado pelo borbulhamento de ar, e a outra extremidade do segmento do íleo era ligado a extremidade de uma alavanca inter-fixa, isotônica e de inscrição frontal que inscrevia as contrações do músculo liso no papel esfumado situado no tambor do quimógrafo. Em algumas experiências foram utilizados pena inscritora para a inscrição das contrações do íleo. A temperatura do banho era de 37°C e o volume inicial do banho de 15 ml e em alguns grupos experimentais de 21 ml. No mesmo grupo experimental os volumes iniciais da solução de Tyrode foram constantes.

#### 4 - DETERMINAÇÃO DA OSMOLARIDADE DAS SOLUÇÕES NUTRIENTES

A determinação da osmolaridade da solução nutriente de Tyrode, antes e após os diversos tratamentos por agentes osmóticos ou por Perocan, foram realizados em amostras de 0,2 ml em osmómetro Osmette, modelo 2007, calibrado com solução de Cloreto de sódio 100 e 500 mOsm/Kg de água para amostra de 0,2 ml.

Como os tratamentos hiperosmóticos realizados foram os mesmos dentro de cada grupo experimental, a determinação da variação da osmolaridade da solução nutriente foi re

alizado em uma amostra padrão em que se utilizou os mesmos volumes de solução nutriente utilizados nas experiências, sendo adicionado à esta solução, volumes da solução de agentes osmóticos na ausência e presença de Perocan. Os resultados encontrados são apresentados nos quadros abaixo.

VARIAÇÃO DA OSMOLARIDADE (mOsm/Kg de H<sub>2</sub>O) DA SOLUÇÃO DE TYRO-  
DE PRODUZIDO PELO ACRÉSCIMO DAS SOLUÇÕES DE AGENTES OSMÓTICOS

Cloreto de sódio em mg/ml			
<u>0,0</u>	<u>4,0</u>	<u>8,0</u>	<u>16,0</u>
289,0	397,0	527,5	741,0

Sacarose em mg/ml			
<u>0,0</u>	<u>46,7</u>	<u>93,4</u>	<u>186,8</u>
289,5	413,5	538,0	730,5

Uréia em mg/ml			
<u>0,0</u>	<u>8,3</u>	<u>16,6</u>	<u>33,2</u>
285,5	409,0	541,5	756,0

VARIAÇÃO DA OSMOLARIDADE ( $mO_{SZ}/KG$  de  $H_2O$ ) DA SOLUÇÃO DE TYRO-  
DE PRODUZIDO PELO ACRÉSCIMO DA SOLUÇÃO DE PEROCAN E DE AGENTES  
OSMÓTICOS

Perocan em mcg/ml + Cloreto de sódio em mg/ml				
<u>0,0+0,0</u>	<u>32,0+0,0</u>	<u>32,0+4,0</u>	<u>32,0+8,0</u>	<u>32,0+16,0</u>
293,5	273,0	390,0	516,0	725,0

Perocan em mcg/ml + Sacarose em mg/ml				
<u>0,0+0,0</u>	<u>32,0+0,0</u>	<u>32,0+46,7</u>	<u>32,0+93,4</u>	<u>32,0+196,8</u>
293,5	273,0	414,0	538,0	735,0

Perocan em mcg/ml + Uréia em mg/ml				
<u>0,0+0,0</u>	<u>32,0+0,0</u>	<u>32,0+8,3</u>	<u>32,0+16,6</u>	<u>32,0+33,2</u>
293,5	273,0	416,0	529,5	748,0

5 - SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

O método utilizado para obtenção da relação do se-efeito da Acetilcolina no ileo isolado de cobaia foi a da dose resposta cumulativa, em que eram adicionados ao banho: 0,02;0,02;0,04;0,08;0,16;0,32;0,64;1,28 e 2,56 ml de solução de Cloreto de Acetilcolina, sem lavagens intermediárias, à semelhança do método utilizado por VAN ROSSUM (1963) e TAKAYANAGI (1969), e as contrações correspondentes foram transformados em porcentagem da resposta máxima. As respostas obtidas após vários tratamentos, por Perocan ou agentes osmóticos, foram sempre calculados em porcentagem da resposta máxima da



curva controle obtido com solução de Tyrode normal.

Na apresentação dos resultados, as várias concentrações de Acetilcolina foram expressas em concentração Molar da Acetilcolina base (Tabelas) e na forma de Log Molar (Gráficos). Para cálculo destas concentrações, foram considerados o volume inicial do banho e os volumes da solução de Acetilcolina adicionados. Os volumes da solução de Perocan ou de agentes osmóticos adicionados não foram considerados uma vez que nas experiências piloto em que se adicionou os agentes osmóticos na forma de sal não apresentou variação significativa a nível de efeito máximo.

#### 5.1 - Estudo do tipo de antagonismo entre a Acetilcolina e Perocan

Foram realizados 10 experiências para verificar o tipo de antagonismo entre a Acetilcolina e o Perocan no íleo isolado de cobaieo. Cada experiência consistiu de curva dose resposta cumulativa controle e na presença de 0,12; 0,24 e 0,48 ml da solução de Perocan 1 mg/ml para 15 ml de solução nutriente ou seja na concentração final de Perocan de 8,0; 16,0 e 32,0 mg/ml no banho. Em alguns casos, foram realizados mais de uma sequência de experimentos, pois após a lavagem de preparação o íleo readquiria a capacidade de responder à ação da Acetilcolina.

5.2 - Influência do aumento da osmolaridade da solução nutriente sobre a contratilidade do íleo isolado de cobaio

Neste grupo procurou-se observar a capacidade do íleo em responder à atividade agonista da Acetilcolina na presença de vários agentes osmóticos calculados para elevar em 0,5;1,0 e 2,0 vezes à concentração do Cloreto de sódio.

Este grupo foi sub-dividido em 3 sub-grupos conforme o agente osmótico utilizado.

5.2.1 - Experiências com cloreto de sódio.

5.2.2 - Experiências com Sacarose

5.2.3 - Experiências com Uréia.

5.3 - Influência do aumento da osmolaridade da solução nutriente sobre a atividade depressora do Perocan

Neste grupo procurou-se estudar a influência do aumento da osmolaridade da solução nutriente, equivalentes ao aumento de 0,5;1,0 e 2,0 vezes à concentração de Cloreto de sódio, sobre a atividade depressora do Perocan na concentração de 32,0 mcg/ml. As experiências deste grupo consistiram de relação dose efeito cumulativo controle e respectivamente na presença de Perocan 32,0 mcg/ml e após Perocan na mesma concentração e agentes osmóticos em 3 níveis considerados anteriormente.

Conforme o agente osmótico utilizado o grupo foi sub-dividido em 3 sub-grupos:

- 5.3.1 - Experiências com Cloreto de sódio
- 5.3.2 - Experiências com Sacarose
- 5.3.3 - Experiências com Uréia

## 6 - AVALIACÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os vários pontos da curva foram estudados através da análise de variância, onde os tratamentos foram representados pelo Porocan em várias concentrações ou vários agentes osmóticos em várias concentrações.

Esta análise foi efetuada com os dados transformados através da relação  $y = \log(x+1)$ , o que visou homogeneizar a variância. Os resultados foram testados ao nível de significância de 5 por cento, após o que efetuou-se pelo teste de TUCKER o contraste entre as médias, possibilitando assim a classificação dos tratamentos.

Por outro lado, visando unicamente evidenciar melhor os resultados dos vários tratamentos, foi elaborado gráfico onde os resultados foram apresentados como a média das porcentagens em relação ao efeito máximo da curva controle em cada um dos pontos testados, acrescentada de seu respectivo desvio padrão. Como os dados iniciais foram tomados em porcentagem do efeito máximo, usou-se aqui a transformação  $Y = \arcsen$  da raiz quadrada de  $y/100$ , com vistas à determinação do desvio padrão.

## R E S U L T A D O S

### 1 - TIPO DE ANTAGONISMO ENTRE A ACETILCOLINA E O PEROCAN

O Perocan na concentração de 8,0; 16,0 e 32,0 mcg/ml reduziu significativamente a resposta do íleo isolado de cobaia à Acetilcolina, as reduções porcentuais médias em relação à resposta máxima das curvas controles de 10 experiências e à nível da concentração máxima do agonista foram respectivamente de 23,7; 42,7 e 76,1 por cento. Após lavagem da preparação o íleo readquiriu a capacidade de resposta à Acetilcolina. O tipo de experiência, assim como os resultados obtidos são ilustrados na figura 1 e o resultado geral da experiência deste sub-grupo é apresentado com significância estatística na tabela 1 e no gráfico 1. Os resultados mostram que o antagonismo Acetilcolina e Perocan é do tipo não competitivo.

### 2 - INFLUENCIA DO AUMENTO DA OSMOLARIDADE DA SOLUÇÃO NUTRIENTE SOBRE A CONTRATILIDADE DO ÍLEO ISOLADO DE COBAIA.

#### 2.1 - Experiências com cloreto de sódio

O aumento da concentração de Cloreto de sódio na solução nutriente em 4,0; 8,0 e 16,0 mg/ml reduziu significativamente a capacidade do íleo em responder à ação agonista da Acetilcolina. As reduções porcentuais médias, a nível de concentração máxima do agonista, foram respectivamente de 7,3;

52,5 e 97,8 por cento. Os resultados mostram um antagonismo do tipo não competitivo entre a Acetilcolina e o Cloreto de sódio e são evidenciados na figura 2, tabela 2 e no gráfico 2.

### 2.2 - Experiências com Sacarose

O aumento da concentração de Sacarose em 46,7; 93,4 e 186,8 mg/ml na solução nutriente reduziu significativamente a capacidade de resposta do íleo à Acetilcolina. As reduções porcentuais médias de 9 experiências a nível de concentração máxima do agonista foram respectivamente de 38,7; 81,6 e 96,4 por cento. O antagonismo observado foi do tipo não competitivo e são evidenciados na figura 2, tabela 2 e gráfico 2.

### 2.3 - Experiências com Uréia

O aumento da concentração de Uréia na solução nutriente em 8,3; 16,6 e 33,2 mg/ml não resultou em redução significativa da resposta do íleo à Acetilcolina, a nível de concentração máxima do agonista, ao contrário dos resultados observados com o Cloreto de sódio e Sacarose. Em dois pontos referidos na tabela 4 houve potenciação significativa da ação do agonista. As médias porcentuais em relação à resposta máxima da curva controle de 9 experiências estão expressas na tabela 4 e no gráfico 4. A figura 4 ilustra o tipo de experiências realizadas.

### 3 - INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA OSMOLARIDADE DA SOLUÇÃO NUTRIENTE SOBRE A ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN

#### 3.1 - Experiências com Cloreto de sódio

O Perocan na concentração de 32,0 mcg/ml reduziu em 91,3 por cento a resposta do íleo isolado de cobaia à Acetilcolina, à nível de concentração máxima do agonista, entretanto o Cloreto de sódio nas concentrações de 4,0 e 8,0 mg/ml reverteu significativamente, respectivamente em 51,6 e 43,2 por cento, a depressão produzida pelo Perocan. Os resultados deste sub-grupo estão evidenciados na figura 5, e as médias porcentuais em relação à resposta máxima da curva controle de 9 experiências são apresentados na tabela 5 e gráfico 5.

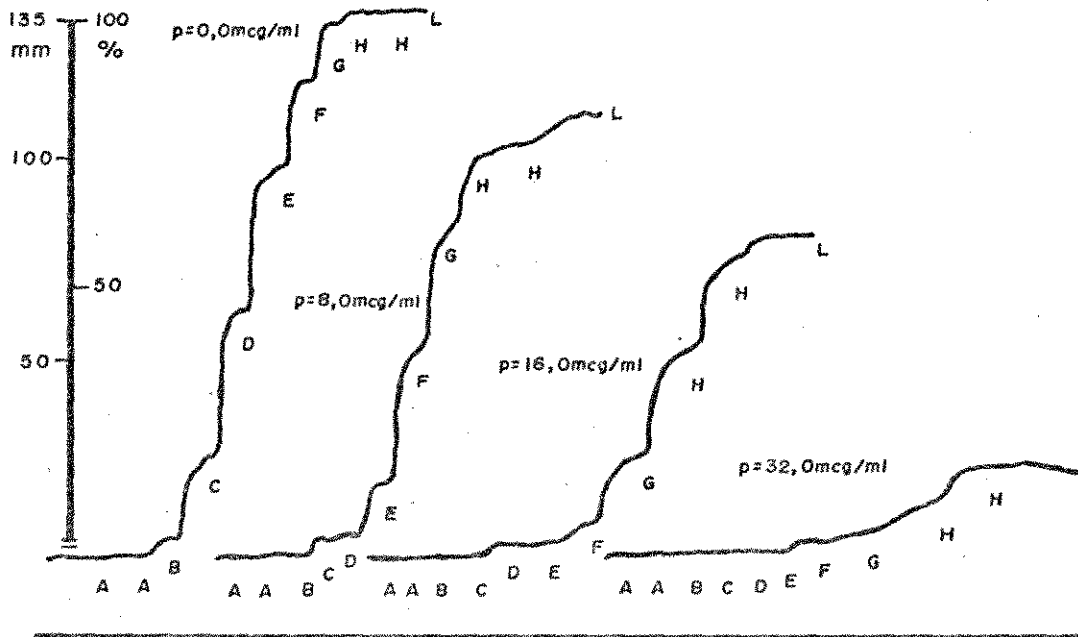
#### 3.2 - Experiências com Sacarose

O Perocan na concentração de 32,0 mcg/ml reduziu em 91 por cento a capacidade de contração máxima à Acetilcolina. A Sacarose nas concentrações de 46,7 e 93,4 mg/ml antagonizou significativamente a atividade depressora do Perocan, respectivamente de 37,3 e 22,7 por cento. O resultado deste sub-grupo é evidenciado na figura 6 e as médias porcentuais em relação à resposta máxima da curva controle de 9 experiências são apresentados na tabela 6 e gráfico 6.

### 3.3 - Experiências com Uréia

O Perocan na concentração de 32,0 mcg/ml reduziu em 81,2 por cento a capacidade máxima de contração do íleo isolado de cobaia à Acetilcolina. A Uréia nas concentrações de 3,3; 16,6 e 33,2 mg/ml não alterou significativamente a atividade depressora do Perocan. A experiência deste grupo encontra-se ilustrado na figura 7 e as médias percentuais em relação à resposta máxima da curva controle de 7 experiências na tabela 7 e gráfico 7.

FIGURA 1 - ATIVIDADE DEPRESSORA DE DOSES CRESCENTES DE PEROCAN SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO DA ACETILCOLINA (ACH) NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Banho com 15 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;....;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;....;1,28;2,56 ml da solução de cloreto de acetilcolina 10 mcg/ml. L = lavagem da preparação. P= concentração do Perocan no banho.

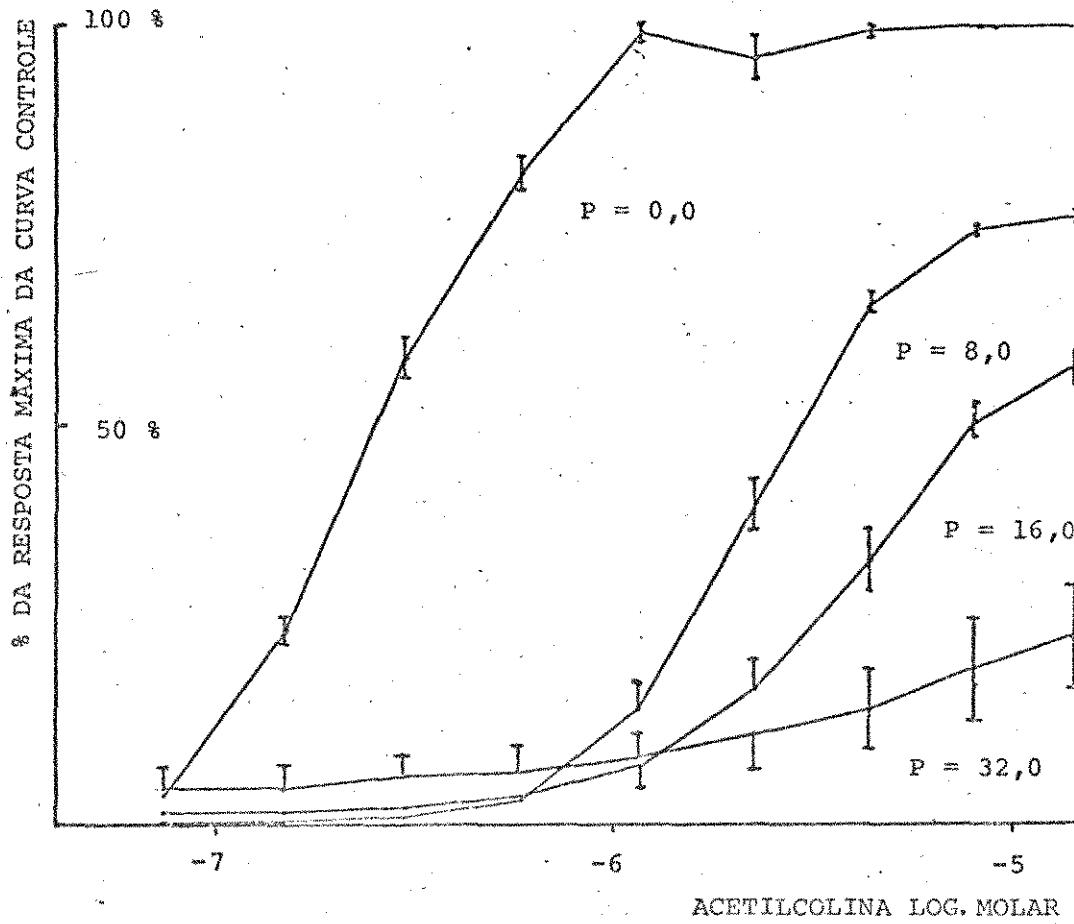


TABELA 1 - Atividade depressora do Perocan sobre a curva dose efeito cumulativa produzida pela Acetilcolina (ACH) no fíleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 10 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

Acetilcolina Molar	Concentração de Perocan em mcg/ml			
	0,0	8,0	16,0	32,0
$7,34 \cdot 10^{-8}$	3,5 $\pm$ 0,4	0,0 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,6	4,1 $\pm$ 2,3
$1,47 \cdot 10^{-7}$	24,2 $\pm$ 1,8	0,0 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,9	4,9 $\pm$ 2,7
$2,92 \cdot 10^{-7}$	58,1 $\pm$ 2,5	0,8 $\pm$ 0,6	1,8 $\pm$ 0,8	6,0 $\pm$ 2,9
$5,81 \cdot 10^{-7}$	81,5 $\pm$ 2,3	2,8 $\pm$ 0,5	3,1 $\pm$ 1,0	6,6 $\pm$ 3,2
$1,15 \cdot 10^{-6}$	99,3 $\pm$ 1,3	14,6 $\pm$ 3,2	7,2 $\pm$ 1,8	8,1 $\pm$ 3,2
$2,26 \cdot 10^{-6}$	96,6 $\pm$ 2,9	40,0 $\pm$ 3,1	16,9 $\pm$ 3,6	11,2 $\pm$ 3,9
$4,33 \cdot 10^{-6}$	99,7 $\pm$ 0,3	65,5 $\pm$ 0,9	33,3 $\pm$ 3,8	14,5 $\pm$ 5,0
$8,03 \cdot 10^{-6}$	100,0 $\pm$ 0,0	74,7 $\pm$ 0,5	50,1 $\pm$ 2,3	19,7 $\pm$ 6,3
$1,40 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	76,3 $\pm$ 0,5	57,3 $\pm$ 2,2	23,9 $\pm$ 6,5

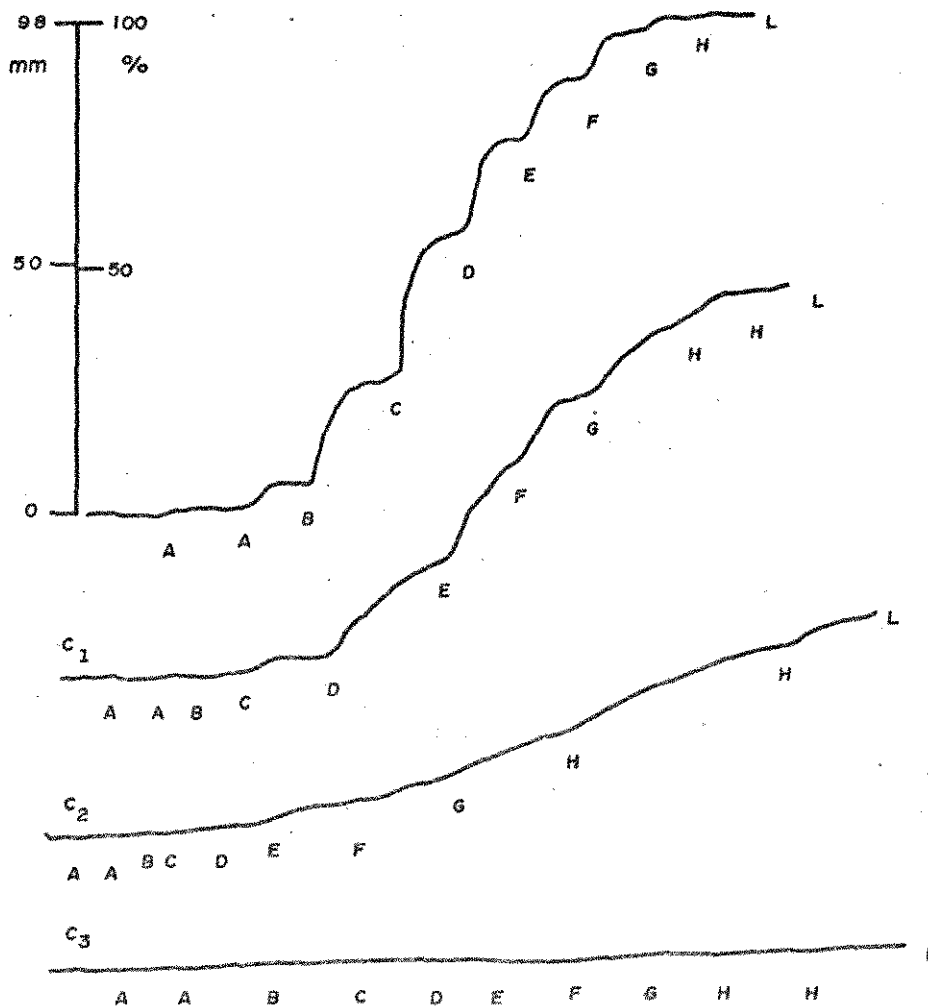
\* Significante ao nível de 0,05 em relação às colunas assinaladas.

GRÁFICO 1 - ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 10 experiências. P=Perocan em mcg/ml.

FIGURA 2 - INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE CLORETO DE SÓDIO SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA (ACH) NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Banho contendo 21 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28;2,56 ml de cloreto de ACH 10 mcg/ml. C<sub>1</sub>;C<sub>2</sub>;C<sub>3</sub>, respectivamente 4,0;8,0;16,0 mg/ml de Cloreto de sódio.

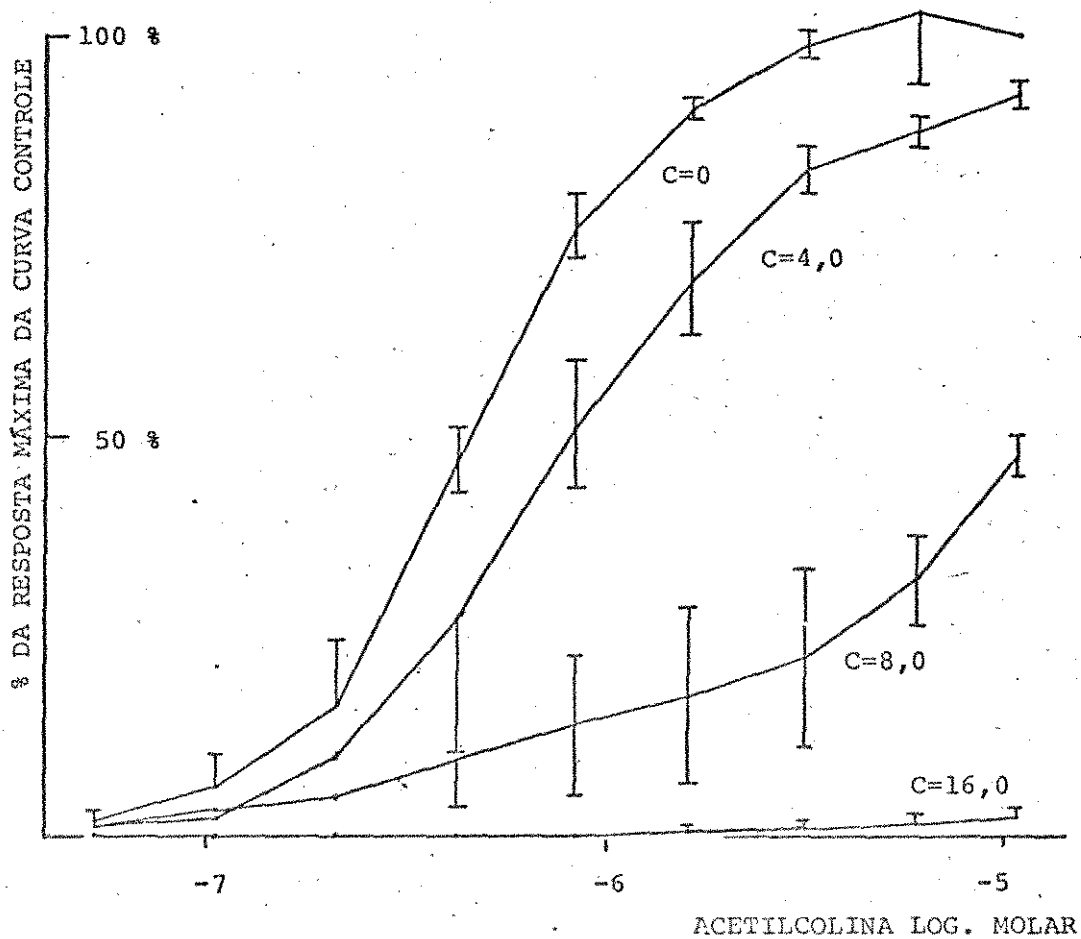
L = Lavagem da preparação.

TABELA 2 - Influência do Cloreto de sódio hipertônico sobre a curva dose efeito cumulativo obtido com Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 9 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

Acetilcolina Molar	Acréscimo de NaCl em mg/ml			
	0,0	4,0	8,0	16,0
$5,25 \cdot 10^{-8}$	1,6 $\pm$ 1,1	1,2 $\pm$ 1,0	1,2 $\pm$ 1,1	0,0 $\pm$ 0,0
$1,05 \cdot 10^{-7}$	6,1 $\pm$ 3,8	2,2 $\pm$ 1,7	3,3 $\pm$ 3,2	0,0 $\pm$ 0,0
$2,09 \cdot 10^{-7}$	16,7 $\pm$ 7,8	9,9 $\pm$ 5,4	4,8 $\pm$ 4,5	0,0 $\pm$ 0,0
$4,17 \cdot 10^{-7}$	47,0 $\pm$ 4,1	27,4 $\pm$ 17,0	9,4 $\pm$ 6,2	0,0 $\pm$ 0,0
$8,27 \cdot 10^{-7}$	76,5 $\pm$ 3,7	50,7 $\pm$ 8,7	14,0 $\pm$ 8,5	0,0 $\pm$ 0,0
$1,63 \cdot 10^{-6}$	91,2 $\pm$ 1,0 *3,4	69,8 $\pm$ 6,7 *3,4	17,5 $\pm$ 10,7 *4	0,3 $\pm$ 0,3
$3,17 \cdot 10^{-6}$	99,9 $\pm$ 1,4 *3,4	83,5 $\pm$ 2,7 *3,4	22,3 $\pm$ 11,7 *4	0,8 $\pm$ 0,6
$5,99 \cdot 10^{-6}$	103,8 $\pm$ 8,7 *3,4	88,5 $\pm$ 1,9 *3,4	31,7 $\pm$ 5,3 *4	1,2 $\pm$ 1,0
$1,08 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	92,7 $\pm$ 1,5	47,5 $\pm$ 2,4	2,2 $\pm$ 1,2

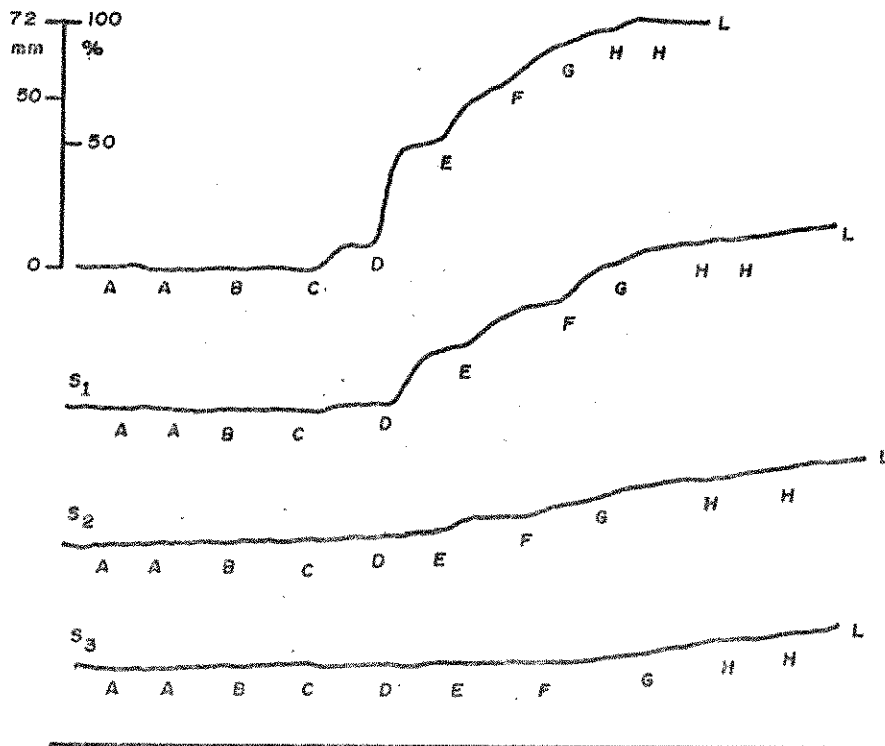
\* Significante ao nível de 0,05 em relação às colunas assinaladas.

GRÁFICO 2 - INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO HIPERTÔNICO SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 9 experiências. C = Cloreto de sódio em mg/ml.

FIGURA 3 - INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE SACAROSE SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDA COM A ACETILCOLINA NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



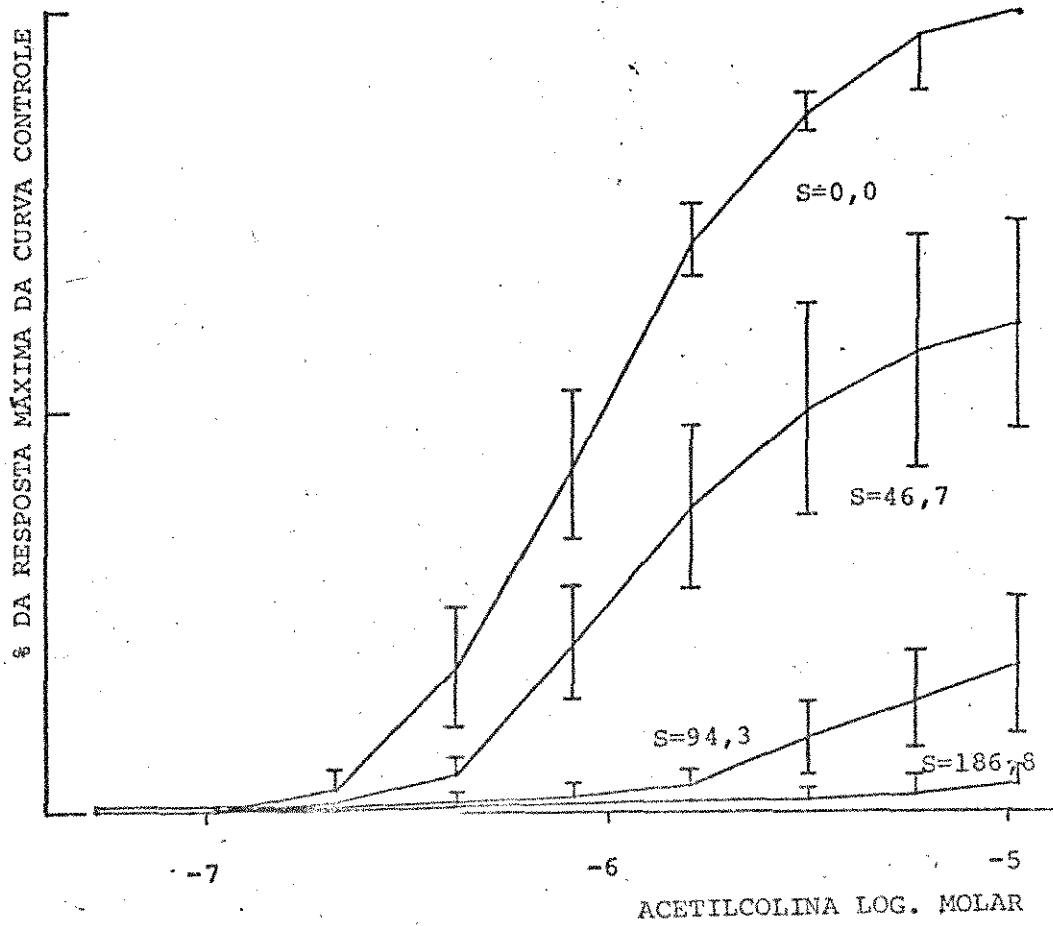
Banho com 21 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado por borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28;2,56 ml da solução de cloreto de Acetilcolina 10 mcg/ml. S<sub>1</sub>;S<sub>2</sub>;S<sub>3</sub>, respectivamente 46,7;93,4; 186,8 mg/ml de Sacarose. L= lavagem da preparação.

TABELA 3 - Influência da Sacarose hipertônica sobre a curva dose efeito cumulativo produzida pela Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 9 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

Acetilcolina Molar	Acréscimo de Sacarose em mg/ml			
	0,0	46,7	93,4	186,8
$5,24 \cdot 10^{-8}$	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2
$1,05 \cdot 10^{-7}$	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,2
$2,09 \cdot 10^{-7}$	2,9 $\pm$ 2,3	1,0 $\pm$ 0,9	0,7 $\pm$ 0,7	0,5 $\pm$ 0,5
$4,17 \cdot 10^{-7}$	17,8 $\pm$ 7,4	4,5 $\pm$ 2,3	1,1 $\pm$ 1,0	0,7 $\pm$ 0,5
$8,27 \cdot 10^{-7}$	43,2 $\pm$ 9,2	21,0 $\pm$ 7,1	1,6 $\pm$ 1,1	1,0 $\pm$ 0,8
$1,63 \cdot 10^{-6}$	71,6 $\pm$ 4,3	38,1 $\pm$ 9,5	3,2 $\pm$ 2,1	1,4 $\pm$ 1,0
$3,17 \cdot 10^{-6}$	87,4 $\pm$ 1,8	50,1 $\pm$ 13,3	8,9 $\pm$ 4,6	1,4 $\pm$ 1,0
$5,99 \cdot 10^{-6}$	97,1 $\pm$ 7,0	57,5 $\pm$ 14,5	14,0 $\pm$ 6,2	2,1 $\pm$ 1,6
$1,08 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	61,3 $\pm$ 13,3	19,4 $\pm$ 8,5	3,6 $\pm$ 2,8

\* Significante ao nível de 0,05 em relação às colunas assinaladas.

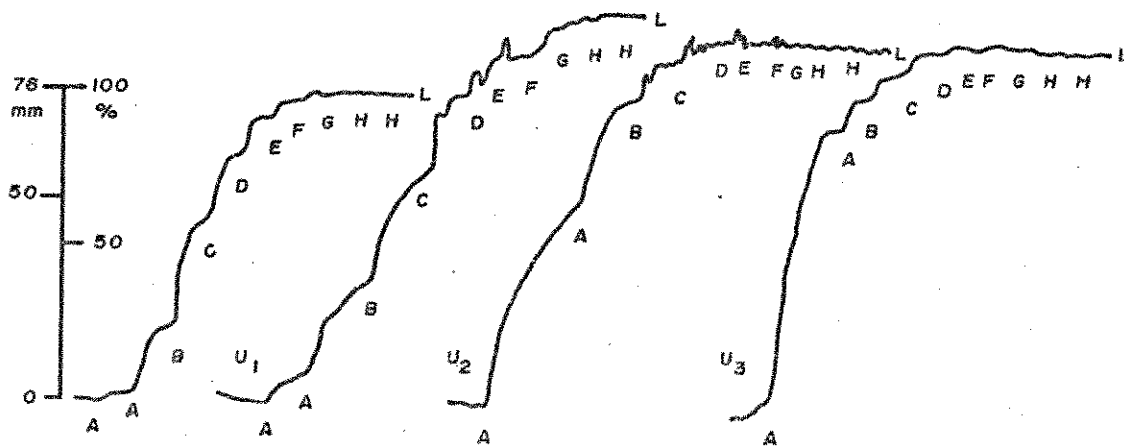
GRÁFICO 3 - INFLUÊNCIA DA SACAROSE HIPERTÔNICA SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 9 experiências. S = Sacarose em mg/ml.



FIGURA 4 - INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE URÉIA SO  
BRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCO  
LINA NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Banho contendo 15 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28; 2,56 ml de cloreto de acetilcolina 10mcg/ml. U1;U2;U3, respectivamente 8,3;16,6;33,2 mg/ml de Uréia.  
L= lavagem da preparação.

TABELA 4 - Influência da Uréia hiperosmótica sobre a curva do seu efeito cumulativo obtido com Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva com controle. Média de 8 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

Acetilcolina Molar	Acréscimo de Uréia em mg/ml			
	0,0	8,3	16,6	33,2
				**
$7,34 \cdot 10^{-8}$	17,0 $\pm$ 4,9	18,0 $\pm$ 9,8	44,3 $\pm$ 2,2	33,0 $\pm$ 14,5
		*3		
$1,47 \cdot 10^{-7}$	32,5 $\pm$ 6,1	30,4 $\pm$ 15,3	67,9 $\pm$ 3,6	49,1 $\pm$ 14,4
				**
$2,92 \cdot 10^{-7}$	57,6 $\pm$ 2,7	51,2 $\pm$ 13,8	84,8 $\pm$ 1,8	65,1 $\pm$ 11,7
				**
$5,81 \cdot 10^{-7}$	76,8 $\pm$ 1,2	76,5 $\pm$ 6,9	95,8 $\pm$ 1,4	84,5 $\pm$ 4,0
	*3			
$1,15 \cdot 10^{-6}$	88,5 $\pm$ 1,6	96,4 $\pm$ 1,4	101,4 $\pm$ 1,2	94,3 $\pm$ 3,7
				**
$2,26 \cdot 10^{-6}$	94,4 $\pm$ 1,6	103,4 $\pm$ 1,0	104,0 $\pm$ 0,9	97,2 $\pm$ 1,3
				**
$4,33 \cdot 10^{-6}$	97,5 $\pm$ 0,3	107,4 $\pm$ 0,7	104,5 $\pm$ 0,9	101,1 $\pm$ 1,6
				**
$8,03 \cdot 10^{-6}$	99,0 $\pm$ 0,8	105,2 $\pm$ 0,8	104,5 $\pm$ 0,9	97,3 $\pm$ 1,6
				**
$1,40 \cdot 10^{-5}$	99,9 $\pm$ 0,1	108,3 $\pm$ 0,8	104,5 $\pm$ 0,9	97,6 $\pm$ 1,5
				**
$1,95 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	108,3 $\pm$ 0,8	104,5 $\pm$ 0,9	97,6 $\pm$ 1,5

\* Significante ao nível de 0,05 em relação ao número da coluna assinalada. \*\* Os números da mesma linha não variaram significativamente entre si ao nível de 0,05.

FIGURA 4 - INFLUÊNCIA DA URÉIA HIPEROSMÓTICA SOBRE A CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM A CETILCOLINA NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.

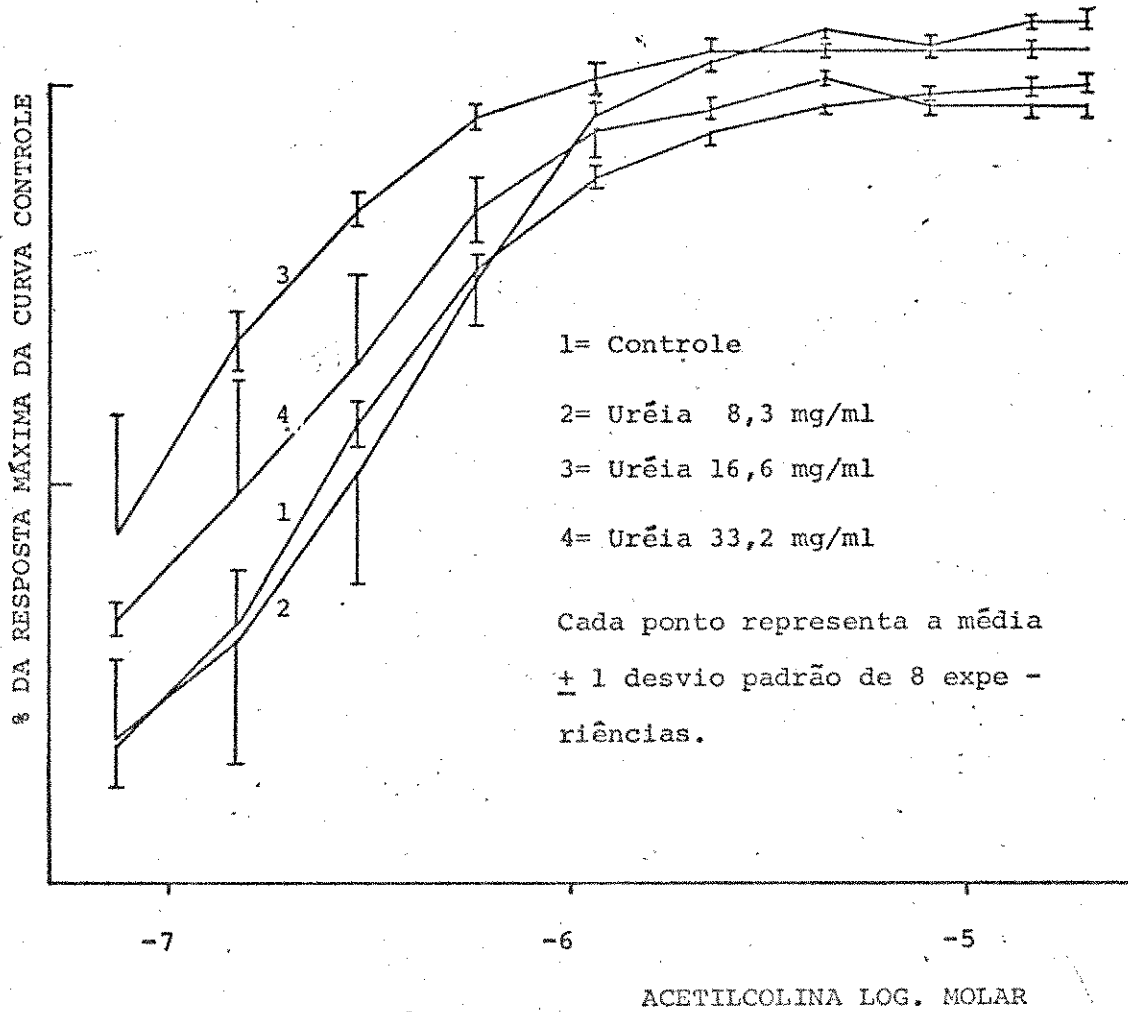
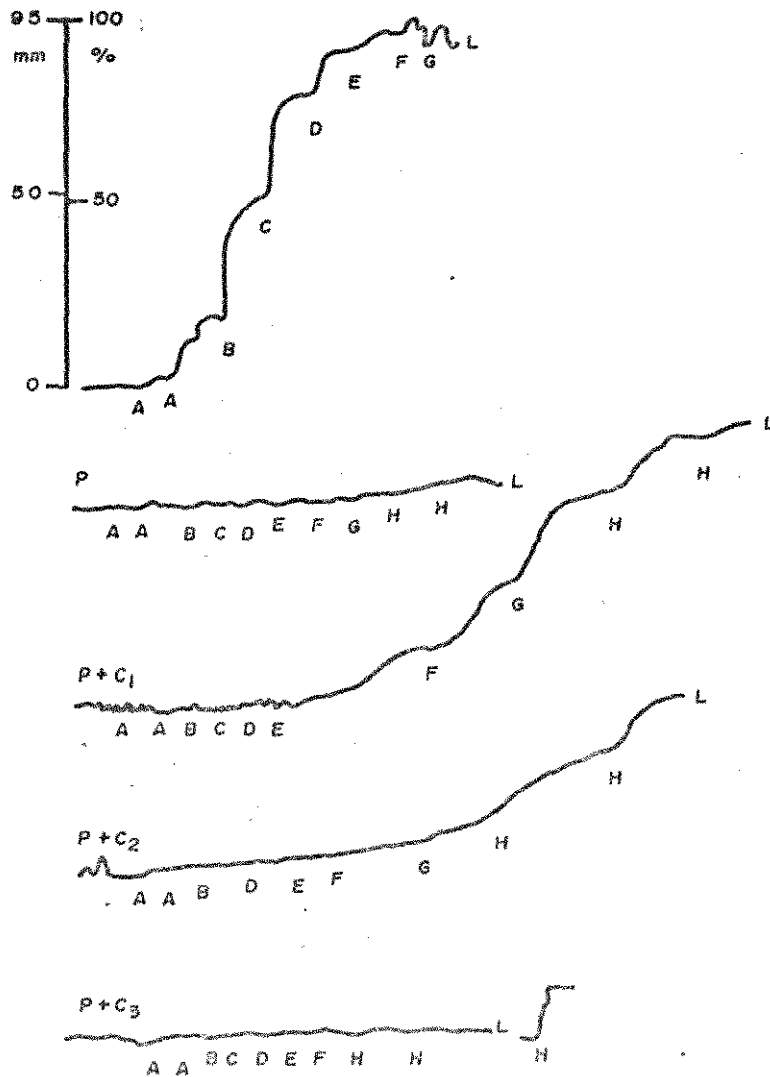


FIGURA 5 - ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN E INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE CLORETO DE SÓDIO NA CURVA DOSE RESPOSTA CUMULATIVA OBTIDO COM ACETILCOLINA NA MESMA PREPARAÇÃO DE ILEO ISOLADO DE COBAIO.



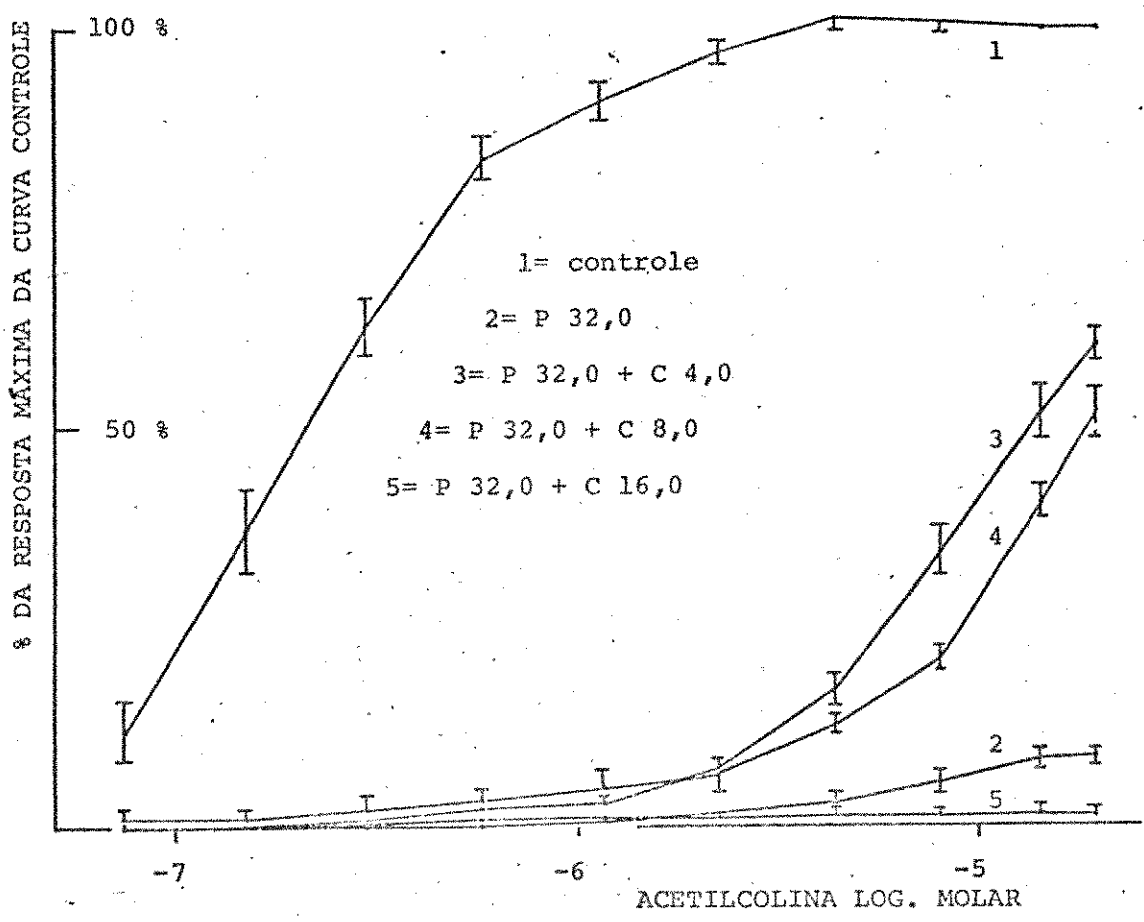
Banho contendo 15 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28;2,56 ml de cloreto de acetilcolina 10mcg/ml. P=Perocan 32,0mcg/ml. C1;C2;C3, respectivamente 4,0;8,0;16,0 mg/ml de Cloreto de sódio. L= lavagem da preparação.

TABELA 5 - Influência do NaCl hipertônico sobre a atividade depressora do Perocan na curva dose efeito cumulativo obtido com Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 9 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

ACH Molar	Acréscimo de Perocan em mcg/ml e NaCl em mg/ml				
	0,0-0,0	32,0-0,0	32,0-4,0	32,0-8,0	32,0-16,0
$7,34 \cdot 10^{-8}$	11,9 $\pm$ 3,7	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 1,0	0,0 $\pm$ 0,0
$1,47 \cdot 10^{-7}$	37,0 $\pm$ 5,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 1,2	0,0 $\pm$ 0,0
$2,92 \cdot 10^{-7}$	62,8 $\pm$ 3,8	0,0 $\pm$ 0,0	0,7 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 1,6	0,4 $\pm$ 0,3
$5,81 \cdot 10^{-7}$	83,9 $\pm$ 2,5	0,0 $\pm$ 0,0	1,9 $\pm$ 0,9	2,7 $\pm$ 1,7	0,5 $\pm$ 0,4
	*2,3,4,5	*3,4	*5	*5	
$1,15 \cdot 10^{-6}$	91,0 $\pm$ 2,4	0,4 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,4	4,5 $\pm$ 2,0	0,7 $\pm$ 0,6
	*2,3,4,5	*3,4	*5	*5	
$2,26 \cdot 10^{-6}$	97,4 $\pm$ 1,4	1,1 $\pm$ 0,7	7,1 $\pm$ 0,7	6,5 $\pm$ 2,1	0,9 $\pm$ 0,6
	*2,3,4,5	*3,4	*5	*5	
$4,33 \cdot 10^{-6}$	100,9 $\pm$ 0,6	2,4 $\pm$ 0,6	17,2 $\pm$ 1,6	12,7 $\pm$ 0,8	1,1 $\pm$ 0,8
	*2,3,4,5	*3,4,5	*5	*5	
$8,03 \cdot 10^{-6}$	100,3 $\pm$ 0,4	5,1 $\pm$ 1,1	34,4 $\pm$ 3,1	21,0 $\pm$ 1,0	1,1 $\pm$ 0,8
	*2,3,4,5	*3,4,5	*5	*5	
$1,40 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	8,3 $\pm$ 0,8	51,6 $\pm$ 3,2	40,1 $\pm$ 2,1	1,2 $\pm$ 0,9
	*2,4,5	*3,4,5	*5	*5	
$1,95 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	8,7 $\pm$ 0,9	60,3 $\pm$ 1,9	51,9 $\pm$ 3,0	1,2 $\pm$ 0,9

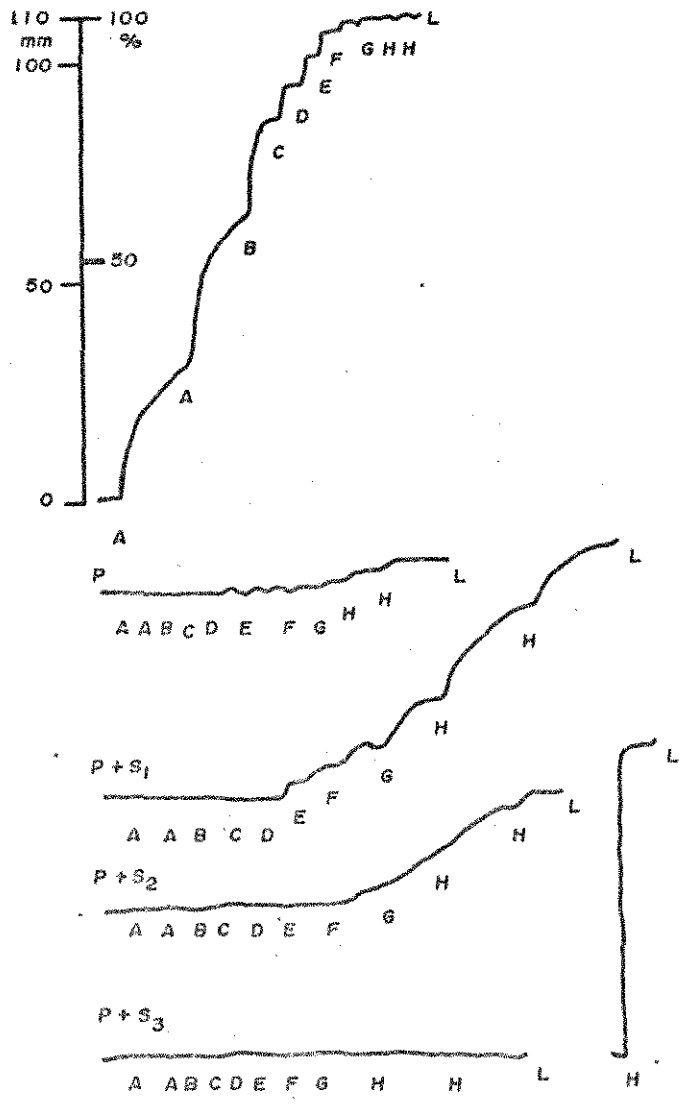
\* Significante ao nível de 0,05 em relação às volutas assinaladas.

GRÁFICO 5 - INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO HIPERTÔNICO SOBRE A ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN NA CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA (ACH) NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 9 experiências. P= Perocan em mcg/ml. C= cloreto de sódio em mg/ml.

FIGURA 6 - ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN E INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE SACAROSE NA CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM A ACETILCOLINA NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Banho contendo 15 ml da solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28;2,56 ml da solução de cloreto de acetilcolina 10mcg/ml. P= Perocan 32,0mcg/ml. S1;S2;S3, respectivamente 46,7;93,4;186,8 mg/ml de sacarose. L= lavagem da preparação.

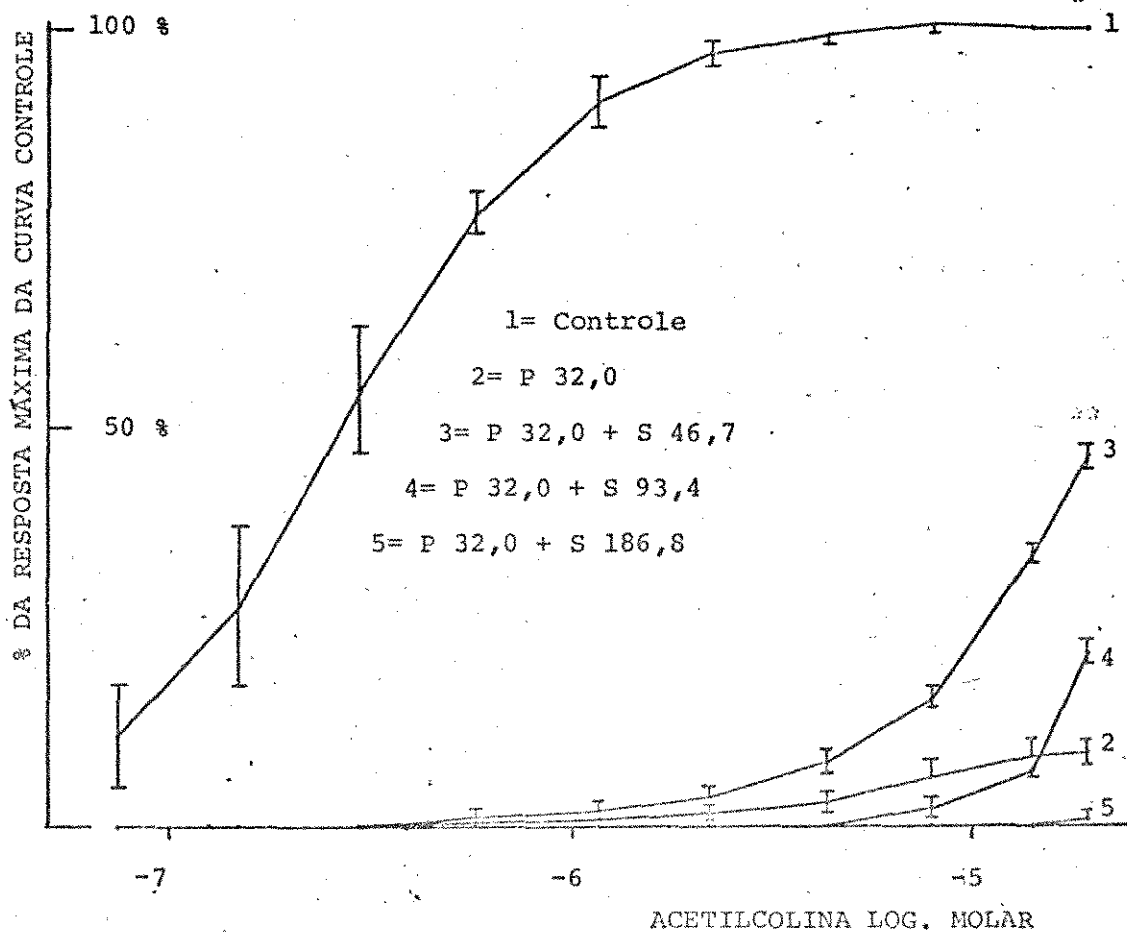
TABELA 6 - Influência da Sacarose hipertônica sobre a atividade depressora do Perocan na curva dose efeito cumulativo produzida pela Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 9 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

ACH Molar	Acréscimo de Perocan em mcg/ml e de Sacarose em mg/ml				
	0,0-0,0	32,0-0,0	32,0-46,7	32,0-93,4	32,0-186,8
$7,34 \cdot 10^{-8}$	11,5 $\pm$ 6,4	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$1,47 \cdot 10^{-7}$	27,5 $\pm$ 10,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$2,92 \cdot 10^{-7}$	54,7 $\pm$ 8,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$5,81 \cdot 10^{-7}$	77,0 $\pm$ 2,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,5	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$1,15 \cdot 10^{-6}$	90,6 $\pm$ 2,9	0,6 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,8	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$2,26 \cdot 10^{-6}$	97,1 $\pm$ 0,9	1,6 $\pm$ 0,9	3,5 $\pm$ 1,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
	*2,3,4,5	*3,4,5	*4,5	*5	
$4,33 \cdot 10^{-6}$	99,7 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 1,1	7,6 $\pm$ 1,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
	*2,3,4,5	*3,5	*4,5		
$8,03 \cdot 10^{-6}$	100,1 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 2,0	16,3 $\pm$ 1,3	1,9 $\pm$ 1,0	0,0 $\pm$ 0,0
	*2,3,4,5	*3,5	*4,5	*5	
$1,40 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	8,7 $\pm$ 1,8	34,2 $\pm$ 0,7	7,1 $\pm$ 0,6	0,0 $\pm$ 0,0
	*2,3,4,5	*3,4,5	*4,5	*5	
$1,95 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	9,0 $\pm$ 1,6	46,3 $\pm$ 1,3	21,7 $\pm$ 1,4	0,5 $\pm$ 0,4

\* Significante ao nível de 0,05 em relação às colunas assinaladas.

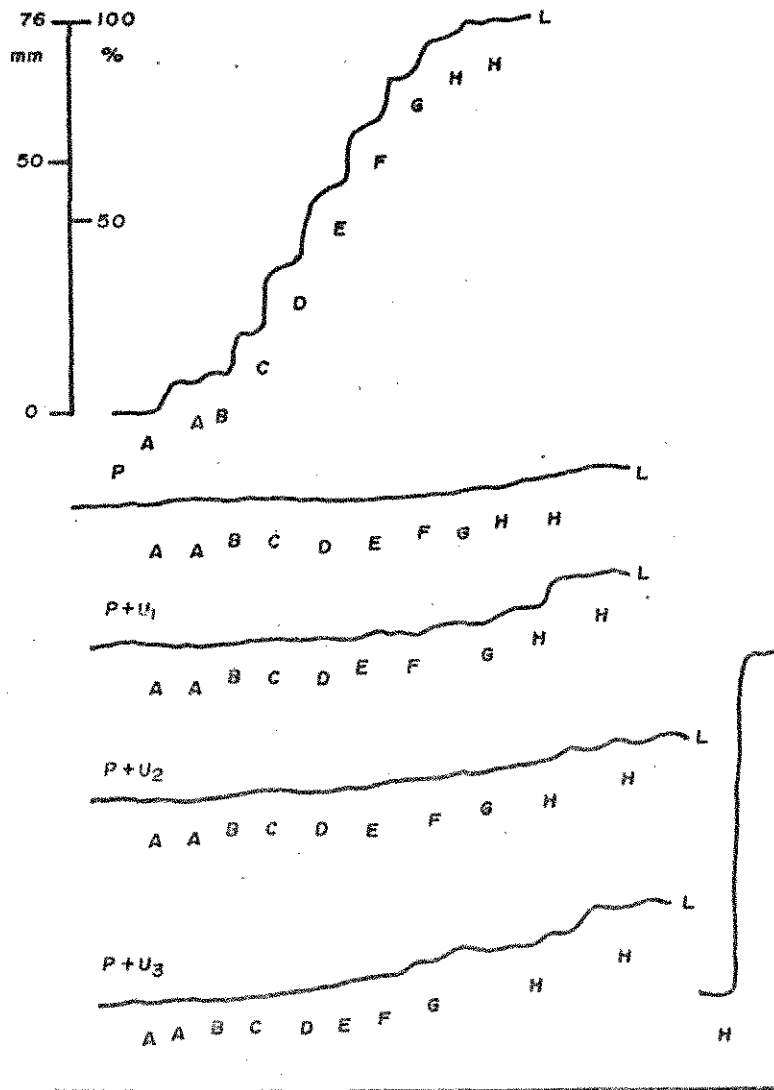


GRÁFICO 6 - INFLUÊNCIA DA SACAROSE HIPERTÔNICA SOBRE A ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN NA CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA (ACH) NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 9 experiências. P=Perocan em mcg/ml. S= Sacarose em mg/ml.

FIGURA 7 - ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN E INFLUÊNCIA DE DOSES CRESCENTES DE URÉIA NA CURVA DOSE RESPOSTA CUMULATIVA OBTIDA COM A ACETILCOLINA NA MESMA PREPARAÇÃO DE ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



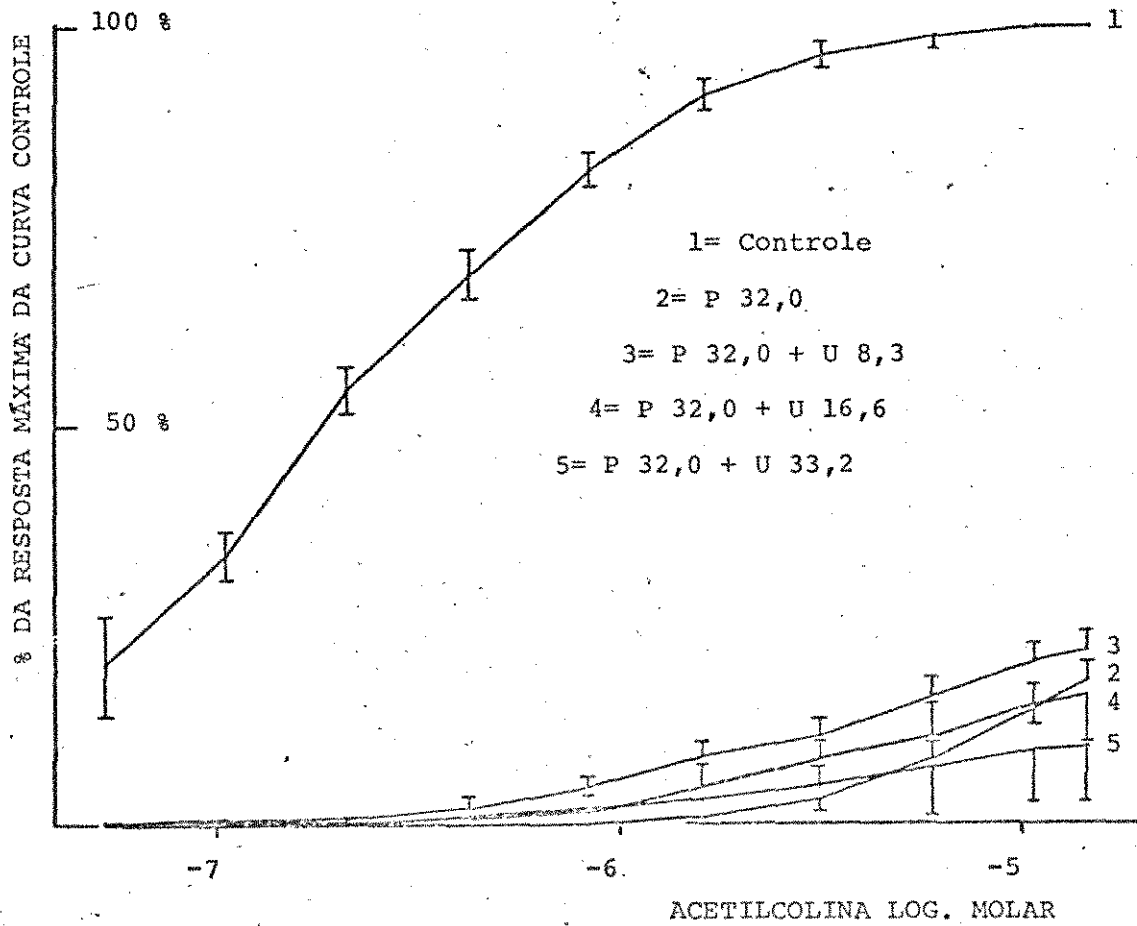
Banho contendo 21 ml de solução de Tyrode a 37°C e oxigenado pelo borbulhamento de ar. Em A;B;...;G;H, foram adicionados ao banho respectivamente 0,02;0,04;...;1,28;2,56 ml de cloreto de acetilcolina 10mcg/ml. P= Perocan 32,0mcg/ml. U<sub>1</sub>;U<sub>2</sub>;U<sub>3</sub>, respectivamente 8,3;16,6;33,2 mg/ml de Uréia. L= lavagem da preparação.

TABELA 7 - Influência da Uréia hiperosmótica sobre a atividade depressora do Perocan na curva dose efeito cumulativo produzida pela Acetilcolina (ACH) no íleo isolado de cobaio. Valores em % da resposta máxima da curva controle. Média de 7 experiências  $\pm$  1 desvio padrão.

ACH Molar	Acréscimo de Perocan em mcg/ml e de Uréia em mg/ml				
$5,24 \cdot 10^{-8}$	20,0 $\pm$ 6,3	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
$1,05 \cdot 10^{-7}$	33,7 $\pm$ 3,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2
$2,09 \cdot 10^{-7}$	54,4 $\pm$ 3,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,4
$4,17 \cdot 10^{-7}$	69,3 $\pm$ 2,8	0,0 $\pm$ 0,0	2,0 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,8
$8,27 \cdot 10^{-7}$	82,1 $\pm$ 1,9	0,0 $\pm$ 0,0	4,6 $\pm$ 0,7	2,0 $\pm$ 1,4	1,7 $\pm$ 1,5
	*2,3,4,5	*3	*5		
$1,63 \cdot 10^{-6}$	91,2 $\pm$ 1,7	0,6 $\pm$ 0,5	8,4 $\pm$ 1,3	4,6 $\pm$ 2,6	2,9 $\pm$ 2,5
	*2,3,4,5	*3	*5		
$3,17 \cdot 10^{-6}$	96,4 $\pm$ 1,3	2,9 $\pm$ 1,1	12,0 $\pm$ 1,6	8,0 $\pm$ 3,4	4,8 $\pm$ 4,1
	*2,3,4,5		*5		
$5,99 \cdot 10^{-6}$	99,0 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 2,1	15,7 $\pm$ 1,7	11,3 $\pm$ 4,8	7,1 $\pm$ 6,4
	*2,3,4,5	*5	*5		
$1,08 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	14,7 $\pm$ 2,7	20,3 $\pm$ 1,9	14,8 $\pm$ 5,5	9,0 $\pm$ 6,5
	*2,3,4,5	*5	*5		
$1,43 \cdot 10^{-5}$	100,0 $\pm$ 0,0	18,2 $\pm$ 2,5	21,7 $\pm$ 1,8	15,9 $\pm$ 5,7	9,6 $\pm$ 6,9

\* significante ao nível de 0,05 em relação às colunas assinaladas.

GRÁFICO 7 - INFLUÊNCIA DA URÉIA HIPEROSMÓTICA SOBRE A ATIVIDADE DEPRESSORA DO PEROCAN NA CURVA DOSE EFEITO CUMULATIVO OBTIDO COM ACETILCOLINA (ACH) NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIO.



Cada ponto representa a média  $\pm$  1 desvio padrão de 7 experiências. P=Perocan em mcg/ml. U= Uréia em mg/ml.

## D I S C U S S Ã O

Os resultados experimentais obtidos com Perocan no íleo isolado de cobaio, mostraram a sua atividade antagonista em relação às contrações da preparação, provocada pela Acetilcolina, confirmando as observações de RAMOS & col. (1964). Entretanto, a metodologia utilizada permitiu que se acompanhasse a resposta do íleo à Acetilcolina nos seus vários graus de responsividade, até atingir a capacidade máxima de contração, permitindo constatar assim, segundo ARIENS (1964) o antagonismo do tipo não competitivo entre a Acetilcolina e o Perocan.

Outro aspecto observado foi a atividade depressora do Perocan ser proporcional à sua concentração no banho, e reversível pela lavagem da preparação, permitindo assim construir várias curvas concentração efeito cumulativos com doses variáveis do Perocan ou, com concentrações variáveis de agentes oscóticos. Neste particular, o efeito depressor do Perocan foi semelhante aos resultados encontrados por SAKATE (1971); SAKATE & col. (1972-b) e SAKATE & col. (1973-a), assim como aos resultados obtidos na preparação de aurícula isolada de coelho (GIULIANO & col., 1964) e de cobaio (SAKATE, 1972-a, b).

O aumento da concentração de Cloreto de sódio na solução nutriente foi utilizado por OHSUKA & col. (1970) para antagonizar a atividade depressora da Isosuprina sobre o átrio isolado de coelho e cobaio. Também, o mesmo procedimento foi utilizado por SAKATE (1972-a) para antagonizar o efeito

denressor do Perocan sobre o átrio isolado de cobaio, observando-se o antagonismo completo naquela preparação com o acréscimo de 0,5 vezes a concentração de Cloreto de sódio na Solução nutriente, tendo observado também que os mesmos tratamentos realizados com a Sacarose e <sup>N</sup>anitol levaram ao mesmo tipo de reversão do efeito depressor do Perocan, entretanto o tratamento pela Uréia mostrou não antagonizar eficazmente.

Na presente experiência, o Cloreto de sódio e Sacarose hipertônicos reduziram significativamente, nas concentrações utilizadas, a capacidade de contração máxima do íleo isolado de cobaia, tendo-se verificado antagonismo do tipo não competitivo em relação às contrações produzidas pela Acetilcolina. Entretanto, a Uréia hiperosmótica em concentrações osmóticas equivalentes às do Cloreto de sódio e Sacarose, não alterou significativamente a capacidade de resposta máxima do íleo à Acetilcolina, enquanto que, nas primeiras fases da contração a Uréia 8,3 mg/ml aumentou significativamente a responsividade do íleo isolado em comparação com a concentração de 16,6 mg/ml (Tabela 4) o que parece estar de acordo com os resultados de FLEICH & EHRENPREIS (1968).

O mecanismo da atividade depressora do Cloreto de sódio e Sacarose hipertônicos no íleo isolado de cobaio, conforme observado nas experiências realizadas (Tabelas, Gráficos e Figuras 2 e 3) não está totalmente elucidado. nas observações realizadas nos músculos estriados por BLINKS (1965);

CAPUTO (1966,1968); DYBYNSKA & WILKIE (1963); FUJINO & FUJINO (1964); GORDON & GODT (1970); HODGKIN & HOROWICZ (1957); HOM-SHER & col. (1974); LANNERGREN & NOTH (1973); LEAF (1959); MIYAMOTO & HUBBARD (1972); OKADA & GORDON (1972); PARISI & col. (1965); REUBEN & col.(1963); SAKAI & YOSHIOKA (1973); SPERELAKIS & SCHNEIDER (1968), no músculo liso vascular por ARVILL & col.(1969); JOHANSSON & JONSSON (1968); JONSSON (1969-a,b); JONSSON (1971); KURIYAMA & col.(1971), no músculo cardíaco por MENDES & col.(1973); SAKATE (1972-a,b,c); SAKATE (1974-a,b); SAKATE & RAMOS (1972); SPERALAKIS & RUBIO (1971); WILDENTHAL & col.(1969), na *Tenia coli* por TOMITA (1966) e em eritrócitos por SAVITZ & col.(1964), permitem supor que se trata de desidratação celular, pois os íons sódio e cloreto são predominantemente extracelulares. Por outro lado, a hipótese da participação de forças osmóticas exercidas por meio extracelular passa a ser mais aceitável, ao contrário do que foi preconizado por COX & WEST (1961) para a atividade depressora da quinidina no músculo cardíaco, uma vez que neste caso a reversão ocorreu também com a Sacarose, substância predominantemente extracelular, em concentrações equiosmóticas.

A não depressão pela Uréia do efeito máximo no de ser entendida se considerarmos que se trata de molécula de baixo coeficiente de reflexão, conforme verificado por PARISI & col.(1965) e portanto penetra rapidamente para dentro da célula, e como consequência não leva à desidratação celular, por

tornar o meio intracelular em equilíbrio osmótico com o extracelular. A não depressão pela Uréia, ao contrário do que poderia parecer à primeira vista, confirma a hipótese da variação do volume celular como causa da perda da responsividade do músculo liso à Acetilcolina.

Por outro lado, os trabalhos de ARVILL & col. (1969); CAFUTO (1966,1968); JOHANSSON & JONSSON (1968); JONSSON (1969); evidenciam o fato da necessidade de um volume celular adequado para que o músculo mantenha a capacidade de responder aos estímulos. Abaixo e acima deste volume celular o músculo torna-se refratário à ação agonista de drogas ou de estímulos elétricos.

Embora na preparação frênico-diafragmático isolado de rato a hipertonicidade da solução nutriente não tenha antagonizado o efeito depressor da Propriclazina (SAKATE & PEREIRA, 1975-a) e da Isoarinila (SAKATE & PEREIRA, 1975-b) a estímulos indiretos e diretos, no presente caso o antagonismo não competitivo entre a Acetilcolina e Perocan indica segundo ARIENS (1964) a possibilidade do Perocan estar atuando em receptor diferente a da Acetilcolina, levando à diminuição da eficácia da Acetilcolina na preparação utilizada, esta perda da eficácia pode estar relacionado à hidratação celular e como consequência o aumento do seu volume produzido pelo Perocan, pois frente a condições hipertônicas da solução nutriente nas faixas equivalentes a 1,5 e 2,0 vezes à concentração do Clong



to de sódio e de Sacarose houve reversão significativa da atividade depressora do Perocan, enquanto que a Uréia em concentrações equi-osmóticas não provocou reversão significativa da atividade depressora do Perocan.

Um aspecto interessante e que favorece a hipótese do antagonismo "osmótico" para explicar o antagonismo ocorrido é o fato de cloreto de sódio e Sacarose hipertônicos exercerem atividade depressora sobre as contrações produzidas pela Acetilcolina, entretanto serem capazes de reverterem a depressão causada pelo Perocan.

## V - CONCLUSÕES

Dos estudos realizados no íleo isolado de cobaia podemos concluir que nesta preparação:

1 - A Isoaminila (Perocan <sup>R</sup>) promoveu antagonismo do tipo não competitivo em relação à atividade agonista da Acetilcolina.

2 - O Cloreto de sódio e Sacarose hipertônicos promoveram antagonismo do tipo não competitivo em relação à atividade agonista da Acetilcolina.

3 - A Uréia hiperosmótica não antagonizou a atividade agonista da Acetilcolina.

4 - O Cloreto de sódio e Sacarose hipertônicos a nível de 1,5 a 2,0 vezes a concentração de Cloreto de sódio na solução nutriente de Tyrode antagonizou significativamente a atividade depressora do Perocan 32,0 mcg/ml nas últimas fases da curva concentração resposta.

5 - A Uréia hiperosmótica não antagonizou significativamente a atividade depressora do Perocan 32,0 mcg/ml.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - ARIENS, E.J. - Molecular Pharmacology - 1<sup>a</sup> ed., Vol. I, New York and London, Academic Press, 1964.
- 2 - ARVILL, A.; JOHANSSON, B. & JONSSON, O. - Effects of hyperosmolarity on the volume of vascular smooth muscle cells and the relation between cell volume and muscle activity. - Acta Physiol. Scand., 75:484-495, 1969.
- 3 - BASTOS, W.P. & RAMOS, A.O. - Isoaminile as inhibitor of muscarinic and nicotinic ganglionic receptors. - Pharmacology, 4:39-44, 1970.
- 4 - BLINKS, J.R. - Influence of osmotic strength on cross section and volume of isolated single muscle fibers. - J. Physiol. (London), 177:42-57, 1965.
- 5 - CAPUTO, C. - Caffeine and potassium induced contractures of frog striated muscle fibers in hypertonic solutions. - J. gen. Physiol., 50:129-139, 1966.
- 6 - CAPUTO, C. - Volume and twitch tension changes in single muscle fibers in hypertonic solutions. - J. gen. Physiol., 52:793-809, 1968.
- 7 - COX, A.R. & WEST, T.C. - Sodium lactate reversal of quinidine effect studies in rabbit atria by the microelectrode technique. - J. Pharmacol. Exp. Ther., 131:212-222, 1961.

- 8 - DAWES, G.S. - Synthetic substitutes for quinidine - Br.J . Pharmac. Chemother., 1:90-111, 1946.
- 9 - DYDYNKA, M. & WILKIE, D.R. - The osmotic properties of striated muscle fibers in hypertonic solutions. - J. Physiol. (London), 169:312-329, 1963.
- 10- FLEISCH, J.H. & EHRENPREIS, S.-A study of the alteration in receptor activity of the rat fundal strip by urea.-J. Pharmacol. Exp. Therap., 163:362-367, 1968.
- 11- FUJINO, S. & FUJINO, M.- Removal of the inhibitory effect of hypertonic solutions on the contractibility in muscle cells and the excitation-contraction link.- Nature, 201:1331-1333, 1964.
- 12- GIULIANO, H.; VARGAFTIG, B.B. & RAMOS, A.O.- Ciclohexil amino sulfonato de alfa isopropil alfa beta dimetilaminopropil fenil acetnitrila (Peracon) na auricula isolada de coelho. - Rev. Fac. Farm. Piquin., São Paulo, 2:101-106, 1964.
- 13- GORDON, A.M. & GODT, R.E. - Some effects of hypertonic solutions on contraction and excitation-contraction coupling in frog skeletal muscles.- J. gen. Physiol., 55:254-275, 1970.
- 14- HODGKIN, A.L. & HOROWICZ, P.- The differential actions of hypertonic solutions on the twitch and action potential of a muscle fibre. - J. Physiol. (London), 136:17-18P, 1957.

- 15- HOMSHER, E.; BRIGGS, F.W. & WISE, R.M.- Effects of hypertonicity on resting and contracting frog skeletal muscles. - Am. J. Physiol., 226:855-863, 1974.
- 16- JOHANSSON, B. & JONSSON, O.- Cell volume as a factor influencing electrical and mechanical activity of vascular smooth muscle. - Acta Physiol. Scand., 72:456-468, 1968.
- 17- JONSSON, O. - Changes in the activity of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.-Acta. Physiol. Scand., 77:191-200, 1969-a.
- 18- JONSSON, O.- Changes in the volume of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.- Acta Physiol. Scand., 77:201-211, 1969-b.
- 19- JONSSON, O.- Effects of variations in the extracellular osmolarity on the ionic permeability of vascular smooth muscle.- Acta Physiol. Scand., 81:405-421, 1971.
- 20- KRAUSE, D. - Pharmacologie des alfa-(isopropyl)-alfa-(beta-dimethylaminopropyl)-phenylacetonitril-citrat. - Arzneimittel Forsch., 8 (8):3-6, 1958.
- 21- KURIYAMA, H.; OHSHIMA, K. & SAKAMOTO, Y. - The membrane properties of the smooth muscle of the guinea-pig portal vein in isotonic and hypertonic solutions. - J. Physiol., (London), 217:179-199, 1971.
- 22- LAUNBERGER, J. & NOTH, J. - The effect of bathing solution tonicity on resting tension in frog muscle fibers. - J. gen. Physiol., 62:737-755, 1973.

- 23- LEAF, A. - Maintenance of concentration gradients and regulation of cell volume. - Ann. N.Y. Acad. Sci., 72:396-404, 1959.
- 24- MENDES, R.P.; SAKATE, M. & RAMOS, A.O. - Atividade depressora da Ganamicina (Kantrex<sup>R</sup>) no átrio isolado de cobaio e seu antagonismo com agentes osmóticos. - Ann. III Jornada Científica da FCMBB, 1:185, 1973.
- 25- MILLER, O. - Toranôutica - 6<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro, Livraria Atheneu S.A., p.587, 1964.
- 26- MIYANOTO, M. & HUBBARD, J.I. - On the inhibition of muscle contraction caused by exposure to hypertonic solutions.- J. gen. Physiol. (London), 59:689-700, 1972.
- 27- OKADA, R.D. & GORDON, A.M. - Excitation, contraction, and excitation-contraction coupling of frog muscles in hypotonic solutions. - Life Sciences, 11:449-460, 1972.
- 28- OTSUKA, M.; SAKATE, M.; KUBO, T. & MISU, Y. - Explanation of atrial biphasic responses to isoxsuprine in the rabbit and guinea-pig. - Jan. J. Pharmacol., 20:179-186, 1970.
- 29- PARISI, M.N.; MONTORSANO, R. & LEE, V. - Osmotical behavior of isolated muscle fibers. - Acta Physiol. Latinoam., 15:38-43, 1965.
- 30- RAMOS, A.O.; RAMOS, L.; SIEMER, O. & CUNHA, E. - Atividade farmacológica da alfa-(isopropil)-alfa-(beta-dimetilaminopropil)-benzil - cianeto (CID). - Ciência e Cultura, 16(2):203, 1964.

- 31- RAMOS, A.O.; SARAIVA, P.A.P.; RAMOS, L. & CUNHA, M.- Parasympathetic inhibition produced by alfa-isopropyl-beta-dimethylaminopropyl-phenylacetone nitrile (Perocan).- Archs. int. Pharmacodyn. Théor., 157:379-384, 1965-a.
- 32- RAMOS, A.O.; ADACHI, T.; VARGAFTIG, B.B.; RAMOS, L. & SLEMER, O. - Antiarrhythmic action of alfa-isopropyl-beta dimethylaminopropyl-phenylacetone nitrile (Perocan).- Archs. int. Pharmacodyn. Théor., 157:454-461, 1965-b.
- 33- REUBEN, J.P.; LOPEZ, E.; BRANDT, P.W. & GRUNDFEST, H.- Muscle: volume changes in isolated single fibers.- Science, 142: 246-248, 1963.
- 34- SAKAI, T. & YOSHIOKA, T. - Studies on rapid cooling contractions of frog muscle immersed in hypertonic and hypotonic solutions. - Jan. J. Physiol., 23:135-147, 1973.
- 35- SAKATE, M. - Antagonismo Clorato de bário-Perocan no íleo isolado de cobaio: Influência do aumento da tonicidade da solução nutriente. - Res. XXIII Reunião Anual da SBPC, 1: 366, 1971 e Ann. I Jornada Científica da FOCBB, 2:207, 1971.
- 36- SAKATE, M. - Atividade da Isoaminila (Perocan<sup>R</sup>) na aurícula isolada de cobaio: antagonismo por agentes osmoticamente ativos. - Tese de Livre-Docência, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, 1972-a.
- 37- SAKATE, M. - Antagonismo Perocan<sup>R</sup> e agentes osmóticos na aurícula isolada de cobaio: Influência da Reserpina e de catecolaminas.- Ann. II Jornada Científica da FOCBB, 1:148, 1972-b.

- 38- SAKATE, M. - Efeito da hiperosmolaridade na atividade contrátil da aurícula isolada de cobaio: Influência do Perocan. - Ann. II Jornada Científica da FCMBB, 1:149, 1972-c.
- 39- SAKATE, M. & RAMOS, A.O. - Atividade depressora da Metoclopramida na aurícula isolada de cobaio: Influência de agentes osmóticos. - Ann. II Jornada Científica da FCMBB, 1:147, 1972.
- 40- SAKATE, M.; BARROS, P.P. & RAMOS, A.O. - Efeito da Papaverina nas contrações do íleo isolado de cobaio causadas pela acetilcolina e cloreto de bário: Influência de agentes osmóticos. - Ann. II Jornada Científica da FCMBB, 1:145, 1972-a.
- 41- SAKATE, M.; BARROS, P.P. & RAMOS, A.O. - Antagonismo Acetilcolina e Perocan no íleo isolado de cobaio; Influência de agentes osmóticos. - Ann. II Jornada Científica da FCMBB, 1:146, 1972-b.
- 42- SAKATE, M.; BARROS, P.P. & RAMOS, A.O. - Influência da hipertonidade sobre os efeitos espasmolíticos do Perocan e Papaverina nas contrações do íleo isolado de cobaio produzidas pela histamina. - Ann. III Jornada Científica da FCMBB, 1:193, 1973-a.
- 43- SAKATE, M.; BARROS, P.P. & RAMOS, A.O. - Antagonismo nicotina e Papaverina no íleo isolado de cobaio. Influência da solução nutriente hipertônica. - Ann. III Jornada Científica da FCMBB, 1:194, 1973-b.



- 44- SAKATE, M.; BARROS, P.P. & RAMOS, A.O. - Influência da hipertonicidade na interação entre Nicotina e Perocan no íleo isolado de cobaio. - Ann. III Jornada Científica da FCMBB, 1: 195, 1973-c.
- 45- SAKATE, M. - Influência da hipertonicidade sobre a atividade depressora do Pentobarbital Sódico na aurícula isolada de cobaio. - Ann. IV Jornada Científica da FCMBB, 1: 74, 1974-a.
- 46- SAKATE, M. - Atividade depressora do Verapamil sobre a aurícula isolada de cobaio e influência da solução nutritiva hipertônica. - Ann. IV Jornada Científica da FCMBB, 1: 74, 1974-b.
- 47- SAKATE, M. & PEREIRA, O.C.M. - Atividade depressora da protericiazina na preparação frênico-diafragmático isolado de ratos e camundongos. - Ann. V Jornada Científica da FCMBB, 1: 119, 1975-a.
- 48- SAKATE, M. & PEREIRA, O.C.M. - Atividade depressora da Isoaminila na preparação frênico diafragmático de rato e influência de agentes osmóticos. - Ann. V Jornada Científica da FCMBB, 1: 120, 1975-b.
- 49- SAVITZ, D.; SIDEL, V.W. & SOLOMON, A.K. - Osmotic properties of human red cells. - J. gen. Physiol., 48: 79-94, 1964.
- 50- SPERELAKIS, N. & SCHNEIDER, M.F. - Membrane ion conductances of frog sartorius fibers as a function of tonicity. - Am. J. Physiol., 215: 723-729, 1968.

- 51- SPERLAKIS, N. & RUBIO, R. - Ultrastructural changes produced by hypertonicity in cat cardiac muscle. - J. Mol. and Cel. Cardiol., 3:139-156, 1971.
- 52- TAKAYANAGI, I. - Methods and Problems in Screening tests - Pharmacological experiments with Magnus apparatus (on the smooth muscle preparations). - Pharmacometrics, 2(2):131-142, 1968.
- 53- TOMITA, T. - Electrical responses of smooth muscle to external stimulation in hypertonic solutions. - J. Physiol. (London), 183:450-468, 1966.
- 54- Van ROSSUM, J.M. - Cumulative dose-response curves. II Techniques for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters. - Archs. int. Pharmacodyn., 143:299-330, 1963.
- 55- WEIDENHIAL, K.; SKELTON, C.L. & COLEMAN III, H.W. - Cardiac muscle mechanics in hypertonic solutions. - Am. J. Physiol. 217:302-306, 1969.