



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

CYNTHIA LAYSE FERREIRA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Spondias purpurea* L.
(ANACARDIACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

CAMPINA GRANDE - PB

2013

CYNTHIA LAYSE FERREIRA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Spondias purpurea* L.
(ANACARDIACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

CAMPINA GRANDE - PB

2013

CYNTHIA LAYSE FERREIRA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Spondias purpurea* L.
(ANACARDIACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos

CAMPINA GRANDE - PB

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

A447a Almeida, Cynthia Layse Ferreira de.
Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L.
(Anacardiaceae) em modelos animais [manuscrito] / Cynthia Layse
Ferreira de Almeida. - 2013.
111 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Estadual da
Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.
"Orientação: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões,
Departamento de Ciências Farmacêuticas".
"Co-Orientação: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos,
Departamento de Ciências Farmacêuticas".

1. *Spondias purpurea*. 2. Atividade gastroprotetora. 3.
Úlceras gástricas. 4. Etnofarmacologia. I. Título.

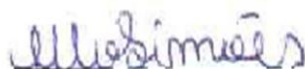
21. ed. CDD 615.321

CYNTHIA LAYSE FERREIRA DE ALMEIDA

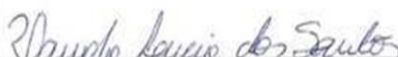
**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Spondias purpurea* L.
(ANACARDIACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

APROVADA EM: 04/09/2013

BANCA EXAMINADORA:



**Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões
Orientadora – UEPB**



**Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos
Co-orientadora – UEPB**



**Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas Medeiros
Examinadora Interna – UEPB**



**Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva
Examinadora Externa – UFPE**

CAMPINA GRANDE - PB

2013

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, Adauto e Ica, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos, pelo incentivo, apoio, amor, compreensão, carinho e cuidado incondicionais que sempre tiveram para comigo...

Agradecimientos

Ao meu Deus, Fiel e Maravilhoso, a Ti todo o meu agradecimento pelo dom da vida, por me capacitar para as missões em que eu me vejo pequena e incapaz, por dar sentido aos meus sonhos e os fazerem realidade, por me conduzir pelos caminhos do bem, e por todo o Seu amor incondicional;

Aos meus pais, Adauto e Teia, agradeço por tanta dedicação e amor. Não há palavras para exprimir minha eterna gratidão e felicidade de tê-los ao meu lado todas as horas;

Aos meus irmãos João Felipe e Cisia, por existirem e completarem minha vida da forma mais especial e sublime;

Aos meus familiares, tios, tias, primos e primas, em especial Maria Luiza e João Victor, por me proporcionarem inúmeros momentos de distração e alegria com a paz que só uma criança pode transmitir;

A minha orientadora Mônica Simões e minha co-orientadora Vanda Lucia, agradeço pela infinita paciência, por acreditarem e apoiarem minhas decisões e ideias, por estarem sempre presentes nos momentos mais difíceis e pelo exemplo de pessoa e profissional que representam;

A minha colega, amiga e irmã Katharina Porto, um exemplo de amizade, humildade e coleguismo. A você, amiga querida, meu muito obrigada por dividir os momentos mais complicados, as alegrias, as angústias, as incertezas, enfim, as experiências que ficarão para sempre. Obrigada por me acolher na sua casa e me deixar fazer da sua família, a minha.

Ao nosso grupo de pesquisa do Laboratório de Ensaios Farmacológicos, em especial ao Maciel Oliveira, Helimarcos Nunes, Jhonata Alexandre, Jéssica Romualdo, Caio Henrique e Alexandre por estarem sempre presentes em todos os experimentos, por não medirem esforços e suarem a camisa junto conosco na execução deste projeto que hoje virou um resultado positivo. Valeu minha equipe linha de frente, jamais esquecerei vocês;

A FURNE e funcionários e ao CESED pelo apoio e colaboração;

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas que compartilharam conosco seus conhecimentos e experiências fundamentais;

Ao grupo de Farmacologia do Trato Gastrointestinal da UFPB, agradeço pela colaboração e amizade. Camila, Igor, Thaylan, Marcelo, Rodrigo, Raphaela, Flávia, Gedson, Heloína que sempre me acolheram de braços abertos e em especial a Professora Leônia Batista, responsável por grande parte de tudo que aprendi na minha vida acadêmica;

Aos amigos colegas de mestrado, Michelle, Jamilly, Gabriela, Danielle, Ravelly, Geovani, Alan, Thiago, Segundo, Jéssica, Késsia, Giovana, ficarão muitas experiências e saudades de cada um;

Ao amigo Crispim Duarte, por sempre me acolher e me ajudar de todas as maneiras possíveis na execução deste trabalho e pelo ser especial que representa para mim;

A Isis Fernandes e Tharcia Kiara Oliveira, por me auxiliarem sempre com seus conhecimentos na realização dos ensaios;

Aos professores Karina Saraiwa, Walclécio Lira, Ana Cláudia e Equipe Labdem, Jaime Mendonça e Equipe, pela constante força e colaborações;

Aos amigos Danieli Madruga, Kethyane Gama, Camila Montenegro, Ewerthon Alves, Paulo Dantas, Felipe Hugo, Airlla Laana, Nelson Justino, Luana Silveira, Moana Paixão, Rufis Coutinho, Kaisy Martins, Michelly Zueiroga, e finalmente aos bons Rômulo Moreira, Adriana Amorim e Rossana Werner, Thianne Medeiros e Yokebedh Neri, meu muito obrigada por todo apoio, carinho e amizade.

Muito obrigada!

*" Que sejas meu universo
Que sejas tudo o que sinto e o
que penso
Que de manhã seja o primeiro
pensamento
E a luz em minha janela*

*Que sejas meu universo
Que enchas cada um dos meus
pensamentos*

*Que a Tua presença e o Teu
poder seja o alimento
Jesus este é o meu desejo "*

Meu Universo – PG

Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L.(Anacardiaceae) em modelos animais. ALMEIDA, C. L. F. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Dissertação de Mestrado, CCBS/UEPB (2013).

RESUMO

Spondias purpurea L. (Anacardiaceae), popularmente conhecida como “siriguela”, é utilizada na medicina popular para o alívio de febre e dores, como antidiarréico, antiespasmódico, diurético, analgésico e antianêmico. Estudos farmacognósticos realizados com a espécie indicam a presença marcante de taninos, flavonoides e triterpenos em suas folhas, e raízes, os quais geralmente estão relacionados com a atividade antiulcerogênica. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade gastroprotetora do extrato e fase de *S. purpurea* em modelos animais. Para isso foram obtidos o extrato etanólico (EEtOH-Sp) e a fase diclorometano (FaDCM-Sp) das folhas de *S. purpurea*. Com relação à atividade gastroprotetora, as doses de 125, 250 e 500 mg/kg (v.o.) do EEtOH e FaDCM foram testados frente a modelos de indução aguda de úlcera por etanol acidificado, etanol, estresse por imobilização e frio e anti-inflamatório não-esteroidal (AINE). No modelo de etanol acidificado, houve a redução do índice de lesão ulcerativo (ILU) em 61, 71 e 65% para EEtOH e 29, 77 e 68% para FaDCM. Nas ulcerações causadas por etanol, EEtOH-Sp e FaDCM-Sp nas mesmas doses protegeram a mucosa gástrica, bem como não foram alterados parâmetros do conteúdo estomacal dos ratos. Na avaliação pelo modelo do estresse, EEtOH-Sp e FaDCM-Sp diminuíram o ILU em 23, 59, 70 e 24, 61, 72%, respectivamente. Foram realizados para os modelos anteriores a dosagem da Proteína C reativa ultrasensível (PCR) nas amostras de sangue e foram observadas reduções significativas deste parâmetro. Da mesma maneira, no modelo de úlceras gástricas induzidas por AINE, houve inibição das lesões para EEtOH-Sp e FaDCM-Sp. No intuito de investigar os mecanismos de ação relacionados à gastroproteção promovida pelo EEtOH-Sp (250 mg/kg) e FaDCM-Sp (250 mg/kg), foi avaliado o envolvimento do óxido nítrico e dos grupamentos sulfidrílicos. Assim, foi observado que o efeito gastroprotetor de *S. purpurea* não envolve a participação do óxido nítrico. Entretanto, este efeito está relacionado à participação dos grupamentos sulfidrílicos, sugerindo que *S. purpurea* apresenta atividade gastroprotetora, possivelmente relacionada a mecanismos citoprotetores.

Palavras-chave: *Spondias purpurea*, atividade gastroprotetora, úlceras gástricas, etnofarmacologia.

Gastroprotective activity of *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) in animal models. ALMEIDA, C. L. F. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Master's thesis, CCBS/UEPB (2013).

ABSTRACT

Spondias purpurea L. (Anacardiaceae), popularly known as “siriguela”, is used in folk medicine for the relief of fever and pain, as diarrhea medication, antispasmodic, diuretic, anti-anemic and analgesic. Pharmacognostic studies with the species indicate the strong presence of tannins, flavonoids and triterpenes in their leaves, and roots, which are generally related to the antiulcer activity. The aim of this study was to evaluate the gastroprotective activity of the extract phase of *S. purpurea* in animal models. For this, the ethanolic extract (Sp-EtOHE) and the dichloromethane fraction (Sp-DCMF) of leaves of *S. purpurea* were obtained. Regarding the gastroprotective activity, doses of 125, 250 and 500 mg/kg (p.o.) were tested against different models of acute induction of ulcer by acidified ethanol, ethanol, stress immobilization and cold, and nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). In the model of acidified ethanol, there was a reduction in the ulcerative lesion index (ULI) for 61, 71 and 65% Sp-EtOHE and 29, 77 and 68% to Sp-DCMF. In ulceration caused by ethanol, Sp-EtOHE and Sp-DCMF in the same doses protect the gastric mucosa and were not altered parameters of the stomach contents of rats. The evaluation by the stress model, Sp-EtOHE and Sp-DCMF decreased the ULI in 23, 59 and 70% and 24, 61 and 72%, respectively. Previous models were made for the determination of C-Reactive Protein (CRP) in blood samples and were observed significant reductions of this parameter. Similarly, in the model of NSAID-induced gastric ulcers, there was inhibition of injuries to Sp-EtOHE and Sp-DCMF. In order to investigate the mechanisms of action related to gastroprotection promoted by Sp-EtOHE (250 mg/kg) and Sp-DCMF (250 mg/kg) was evaluated the involvement of nitric oxide and sulfhydryl compounds. Thus, it was verified that the gastroprotective effect of *S. purpurea* not involve the participation of nitric oxide. However, this effect is related to the participation of sulfhydryl compounds. Thus, these data suggest that *S. purpurea* presents gastroprotective activity, possibly related to mechanisms cytoprotectives.

Keywords: *Spondias purpurea*, gastroprotective activity, gastric ulcers, ethnopharmacology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Anatomia do estômago: (a) Camadas histológicas do estômago, (b) Estrutura ampliada das glândulas gástricas, (c) Locais de produção do ácido clorídrico na célula parietal e da secreção de pepsina das células chefe nas glândulas gástricas 26
Figura 2	Os tipos de glândulas gástricas, as células predominantes e suas secreções 28
Figura 3	Formação do ácido clorídrico na célula parietal da glândula gástrica 29
Figura 4	Mecanismos envolvidos na secreção ácida gástrica 31
Figura 5	Agentes protetores da mucosa gástrica 34
Figura 6	Fotos de <i>Spondias purpurea</i> . Árvore completa e detalhe das folhas 50
Figura 7	Diagrama da marcha fitoquímica para obtenção do EEtOH e da FaDCM das folhas de <i>Spondias purpurea</i> 55
Figura 8	Etapas na obtenção das amostras vegetais: A) coleta das folhas de <i>Spondias purpurea</i> ; B solução etanólica obtida por maceração exaustiva com etanol absoluto; C) concentração da solução etanólica em rotaevaporador; D) pesagem do extrato etanólico bruto obtido das folhas de <i>S. purpurea</i> ; H) obtenção da fase diclorometano de <i>S. purpurea</i>56
Figura 9	Lupa OLYMPUS SZ2 – LGB 58
Figura 10	Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos.....65
Figura 11	Efeito da administração oral da FaDCM-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos65

Figura 12	Efeito da administração oral do EEtOH-Sp (250 mg/kg) e do lansoprazol na avaliação histológica do modelo de úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos	67
Figura 13	Efeito da administração oral da FaDCM-Sp (250 mg/kg) e do lansoprazol na avaliação histológica do modelo de úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos	68
Figura 14	Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos	69
Figura 15	Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução salina 0,9 % (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), EEtOH-Sp (125 mg/kg) (C), EEtOH-Sp (250 mg/kg) (D), EEtOH-Sp (500 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)	70
Figura 16	Efeito da administração oral da FaDCM-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos	70
Figura 17	Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução salina 0,9 % (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), FaDCM-Sp (125 mg/kg) (C), FaDCM-Sp (250 mg/kg) (D), FaDCM-Sp (500 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)	71
Figura 18	Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por estresse em camundongos	74
Figura 19	Efeito da administração oral do FaDCM-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por estresse em camundongos	75
Figura 20	- Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por AINE em camundongos	76
Figura 21	Efeito da administração oral do FaDCM-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por AINE em camundongos	77
Figura 22	Efeito gastroprotetor do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e da carbenoxolona após pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da	

enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos79

Figura 23 Estômagos de ratos ulcerados e tratados com salina/salina (A) salina/carbenoxolona (B), salina/EEtOH (C), salina/FaDCM (D), L-NAME/salina (E), L-NAME/carbenoxolona (F), L-NAME/EEtOH (G), L-NAME/FaDCM (H) para o protocolo de avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção79

Figura 24 Efeito gastroprotetor do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e da carbenoxolona após pré-tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidríla, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos81

Figura 25 Estômagos de ratos ulcerados e tratados com salina/salina (A) salina/carbenoxolona (B), salina/EEtOH (C), salina/FaDCM (D), NEM/salina (E), NEM/carbenoxolona (F), NEM/EEtOH (G), NEM/FaDCM (H) para o protocolo de avaliação da participação dos grupamentos sulfidríla (SH) na gastroproteção81

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Efeito da administração oral da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos66
- Tabela 2** Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por etanol em ratos71
- Tabela 3** Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre o pH e o volume gástrico em úlceras induzidas por etanol em ratos72
- Tabela 4** Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por estresse em camundongos 75

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido araquidônico
AC	Ciclase de adenilil
ACh	Acetilcolina
AINEs	Anti-inflamatório não-esteroidal
ALT	Alanina aminotransferase
ALU	Área de lesão ulcerativa
AMP_c	3',5'- monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	Análise de variância de uma via
ANP	Peptídeo natriurético atrial
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Trifosfato de adenosina
AVMA	Associação Americana de Medicina Veterinária
Ca²⁺	Íon cálcio
CBiotec	Centro de Biotecnologia
CCK-2	Receptor de colecistocinina 2
CESED	Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento
CETENE/INT	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CK-nac	Creatina quinase
CL₅₀	Concentração letal 50%
Cl⁻	Íon cloreto
COX	Ciclooxigenase
Cu²⁺	Íon cobre
DL₅₀	Dose Letal 50%
d.p.	Desvio padrão
EC	Células enterocromafins

ECL	Células semelhantes às enterocromafins
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
EEtOH-Sp	Extrato etanólico de <i>Spondias purpurea</i>
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EP	Receptor de prostaglandina E
EP₃	Receptor de prostaglandina E ₃
EP₄	Receptor de prostaglandina E ₄
FaDCM-Sp	Fase diclorometano de <i>Spondias purpurea</i>
FURNE	Fundação Universitária de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão
GCs	Guanilil ciclase solúvel
G_{q/11}	Proteína G _q ou proteína 11
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa reduzida
GSH	Glutationa
HCl	Ácido clorídrico
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCO₃⁻	Íon bicarbonato
H₂O	Água
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
H⁺	Próton
H⁺-K⁺-ATPase	Bomba de prótons
ILU	Índice de Lesão Ulcerativo
i.p.	Intraperitoneal
IP₃	1,4,5-trisfosfato de inositol
K⁺	Íon potássio
Labdem	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos

LSVM	Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas
L-NAME	N ^ω -nitro-L-arginina-metil-éster
Mn²⁺	Íon manganês
Na⁺	Íon sódio
NEM	N-etilmaleimida
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
O₂	Oxigênio molecular
O₂⁻	Ânion superóxido
OH[·]	Radical hidroxila
ONOO⁻	Radical peroxinitrito
p	Probabilidade
PCRus	Proteína C reativa ultrasensível
PG	Prostaglandina
PGE₂	Prostaglandina da série E
PGI₂	Prostaciclina
PKA	Proteína cinase dependente de AMP _c
PKG	Proteína cinase dependente de GMP _c
PLC	Fosfolipase C
PPIs	Inibidores da bomba de prótons
PVC	Policloreto de vinila
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RNS	Espécies reativas de nitrogênio
s.c.	Subcutânea
SH	Sulfidril
SOD	Superóxido dismutase
SST₂	Receptor de somatostatina 2
TGFα	Fator de crescimento transformador α
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba

UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VCM	Volume corpuscular médio
v.o.	Via oral
Zn²⁺	Íon zinco

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

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 Considerações Gerais	24
1.2 Anatomia Funcional do Estômago	25
1.3 Secreção Ácida Gástrica	28
1.4 Mecanismos Regulatórios da Secreção Ácida	30
1.5 Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica	33
1.6 Agentes Moduladores da Mucosa Gástrica	36
1.7 Fisiopatologia da Úlcera Péptica	39
1.7.1 Etiologia	39
1.7.2 Epidemiologia	42
1.8 Terapêutica da Úlcera Péptica	42
1.9 Plantas Medicinais	44
1.10 Família Anacardiaceae e Gênero <i>Spondias</i>	46
1.11 <i>Spondias purpurea</i> L.	48
2 OBJETIVOS	50
2.1 Objetivo Geral	51
2.2 Objetivos Específicos	51
3 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.1 Material Botânico	53
3.2 Obtenção das Amostras Vegetais	53
3.3 Investigação da Atividade Gastroprotetora de <i>Spondias purpurea</i> L.	55
3.3.1 Modelos de Indução Aguda de Úlcera Gástrica	57
3.3.1.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/Etanol	57
3.3.1.2 Úlcera Gástrica Induzida por Etanol	58
3.3.1.3 Úlcera Gástrica Induzida por Estresse (imobilização e frio)	59
3.3.1.4 Úlceras Gástricas Induzidas por Ant-i-inflamatório não-esteroidal	59
3.4 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade	60

Gastroprotetora de *Spondias purpurea*

3.4.1 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção	60
3.4.2 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Gastroproteção	60
3.5 Análise Estatística	61
4 RESULTADOS	62
4.1 Obtenção das Amostras Vegetais	63
4.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de <i>Spondias purpurea</i> L.	63
4.2.1 Modelos de Indução Aguda de Úlcera Gástrica	63
4.2.1.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/Etanol	63
4.2.1.2 Úlcera Gástrica Induzidas por Etanol	68
4.2.1.3 Úlcera Gástrica Induzida por Estresse (Imobilização e Frio)	72
4.2.1.4 Úlceras Gástricas Induzidas por Anti-inflamatório não-esteroidal	74
4.2.2 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de <i>Spondias purpurea</i>	75
4.2.2.1 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção	75
4.2.2.2 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Gastroproteção	77
5 DISCUSSÃO	79
6 CONCLUSÃO	90
7 PERSPECTIVAS	92
REFERÊNCIAS	94
ANEXOS	111

Introdução



1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Desde os tempos remotos, as civilizações utilizavam os recursos da natureza para tratar os mais diversos tipos de enfermidades, como meio para a própria defesa ou ainda no combate de pragas. O interesse na medicina popular, sobretudo no uso de plantas, tem crescido consideravelmente nos últimos anos e surgiu do pensamento errôneo de acreditar que o que é natural não é prejudicial à saúde (CARVALHO et al., 2008a; REGINATTO, 2011).

A utilização de produtos naturais é uma prática milenar, empregada como uma fonte alternativa ou complementar aos medicamentos alopáticos no tratamento das doenças, e as nações desenvolvidas trazem em seu componente histórico esta tradição. Em países como Canadá, França e Alemanha, cerca de 80% da população utiliza recursos oriundos da medicina tradicional e, aproximadamente 30% das drogas utilizadas são derivadas de produtos naturais (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008; WHO, 2011).

As plantas medicinais representam uma alternativa segura, eficaz, de baixo custo e fácil acessibilidade. Cerca de 70 a 90% da população dos países em desenvolvimento se utiliza quase exclusivamente das plantas na terapêutica dos mais diversos tipos de males, devido ao acesso limitado aos medicamentos (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; CARVALHO et al., 2008; WHO, 2011).

No Brasil, cerca de 82% da população faz uso de plantas medicinais, seja pelo uso popular transmitido de geração a geração ou pelo conhecimento tradicional quilombola e indígena, principal responsável pela disseminação do conhecimento popular e do uso de plantas como uma rica fonte de produtos terapêuticos (VEIGA-JUNIOR, 2008; RODRIGUES; DE SIMONI, 2010).

Atualmente o potencial terapêutico e os mecanismos de ação de uma grande variedade de plantas estão sendo investigados e fornecerão informações úteis para o desenvolvimento de novas farmacoterapias. Entretanto, as pesquisas ainda são escassas e o Brasil, mesmo sendo detentor de uma rica biodiversidade, desconhece

o valor econômico de seus recursos botânicos, sendo necessário cada vez mais estudos fitoquímicos e farmacológicos (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; SOUSA et al., 2008).

A úlcera gástrica é uma afecção crônica que afeta milhões de pessoas no mundo e seu surgimento está associado ao estilo de vida contemporâneo, estresse, exposição excessiva aos anti-inflamatórios não-esteroidais e ao álcool, dentre outros fatores, como as infecções bacterianas (KLEIN-JUNIOR et al., 2010; TULASSAY; HERSNZENYI, 2010; OLIVEIRA et al., 2011).

Existe uma ampla variedade de opções disponíveis no mercado destinadas ao controle ou cura da úlcera péptica. Porém, há uma elevada taxa de recidiva após o tratamento e o emprego contínuo destes medicamentos acarreta uma série de efeitos indesejados (MALFERTHEINER et al., 2009; SHEEN; TRIADFILOPOULOS, 2011).

Diante destes agravantes, surge a necessidade de novas alternativas com menos efeitos colaterais e que garantam segurança e eficácia. Assim, as plantas e seus metabólitos são promissores na busca por novas terapias que possam ser utilizadas no tratamento das doenças que acometem o trato gastrointestinal (SANTIN et al., 2010).

1.2 Anatomia Funcional do Estômago

O estômago é um órgão com funções endócrinas e exócrinas, compreende uma porção dilatada do trato gastrointestinal que realiza os processos de digestão, absorção de algumas substâncias, armazena os alimentos e os distribui para os intestinos de maneira regulada (FEHER, 2012).

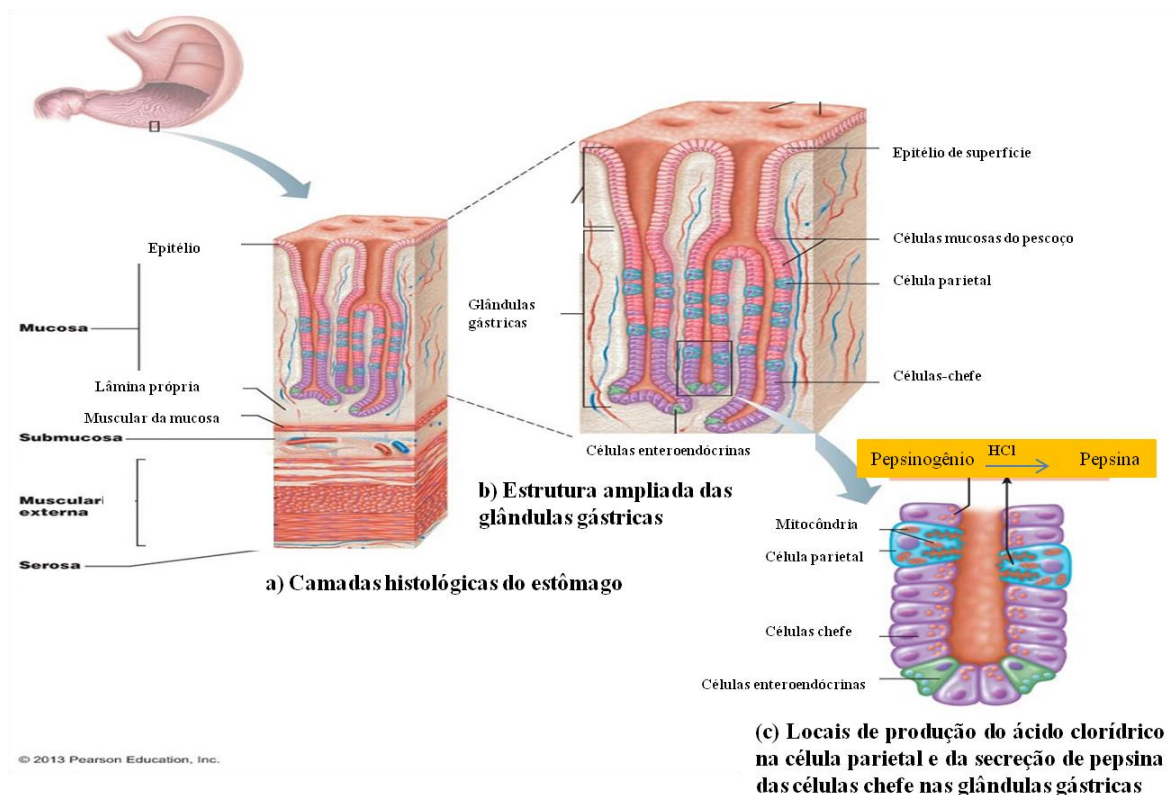
Anatomicamente se estende a partir da sua junção com a extremidade inferior do esôfago até a junção com o duodeno e está dividido em quatro regiões: cárdia, onde existe o esfíncter cardíaco; fundo, é a parte do estômago superior à incisura cardíaca, uma região de transição entre o esôfago e o estômago; corpo e antro compõem o restante do estômago. O esfíncter pilórico está presente na porção final

do estômago e regula o movimento de material entre o estômago e do duodeno (BANSAL et al., 2009; FEHER, 2012).

Em razão da sua motilidade, o estômago também pode ser dividido em uma porção inicial e uma final. A parte inicial do estômago recebe alimentos oriundos do esôfago e a porção final serve para misturar e fazer a propulsão do conteúdo pelo lúmen (FEHER, 2012).

Histologicamente, a parede do estômago consiste em quatro camadas, uma serosa; uma camada muscular - composta de três subcamadas, sendo uma longitudinal externa, uma circular e a última, uma oblíqua interna; uma camada submucosa, formada de tecido conjuntivo frouxo rico em fibras; e uma mucosa (BANSAL; BANSAL; GUPTA, 2008; MOHAN, 2008; BANSAL et al., 2009) (Figura 1a).

Figura 1 – Anatomia do estômago: (a) Camadas histológicas do estômago, (b) Estrutura ampliada das glândulas gástricas, (c) Locais de produção do ácido clorídrico na célula parietal e da secreção de pepsina das células chefe nas glândulas gástricas (Modificado de <http://classes.midlandstech.com/carterp/Courses/bio211/chap23/chap23.htm>)



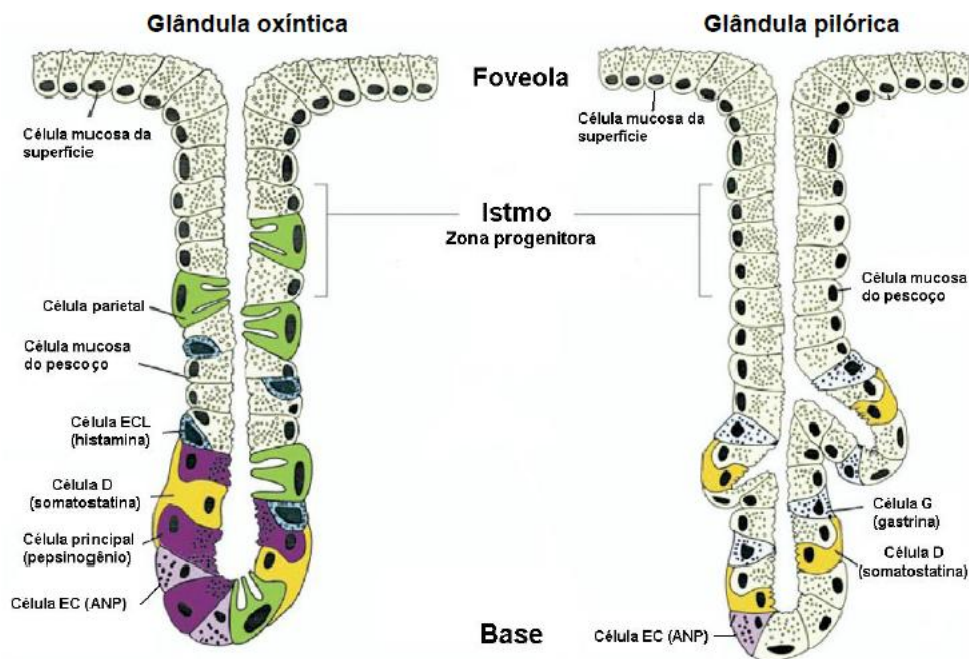
As secreções auxiliam o processo digestivo de diversas formas, o epitélio colunar de revestimento do estômago secreta muco e bicarbonato, fatores

defensores da mucosa e sofre invaginações que dão origem às glândulas gástricas (Figura 1b). As glândulas gástricas compõem funcionalmente o estômago em duas partes, as glândulas oxínticas e pilóricas. Apresentam formato túbulo-vertical e consistem de uma fenda na região apical, um istmo também denominado de zona progenitora e a região da base. As glândulas gástricas do tipo oxínticas estão localizadas na porção inicial do órgão e compreendem 80% do órgão. As glândulas gástricas pilóricas estão presentes nas regiões do antro e piloro e constituídas predominantemente por células G (SCHUBERT; PEURA, 2008; FRY, 2009, FEHER, 2012).

Com relação à secreção, o estômago se subdivide em três regiões. A região inicial, abaixo do esfínter esofágico, é responsável pela produção de muco. Em seguida, a região oxíntica onde são encontradas as células do pescoço, também produtoras de muco e em continuidade com as células epiteliais; as células parietais ou oxínticas, que secretam ácido clorídrico e fator intrínseco; e as células pépticas ou principais, que produzem e armazenam o pepsinogênio em grânulos (zimogênios) localizados no ápice das células. E por fim, a região pilórica, que secreta muco e o hormônio gastrina, produzido pelas células G. Há, ainda, as células enterocromafins (EC), que produzem o peptídeo natriurético atrial (ANP) e a serotonina; as células enterocromafins “like” (ECL), que produzem e estocam a histamina; as células D, que produzem somatostatina e amilina; e as células A-“like” ou Gr que armazenam a grelina (SCHUBERT; PEURA, 2008; FRY, 2009; MILLS; SHIVDASANI, 2011) (Figura 2).

O suco gástrico é constituído por ácido clorídrico (HCl), pepsina, mucina e eletrólitos, como os íons sódio (Na^+), potássio (K^+), bicarbonato (HCO_3^-), cloreto (Cl^-). As células parietais especializadas secretam HCl e fator intrínseco. O HCl torna o meio ácido e ativa a enzima proteolítica, pepsinogênio, na forma de pepsina, proporcionando um ambiente favorável à digestão das proteínas e ao combate de possíveis patógenos (Figura 1c). O fator intrínseco é uma glicoproteína que se liga a vitamina B_{12} e é necessária para absorção da vitamina no íleo terminal, sendo a única secreção essencial à vida (FRY, 2009; FEHER, 2012).

Figura 2 – Os tipos de glândulas gástricas, as células predominantes e suas secreções (Adaptado de Schubert; Peura 2008)



O estômago é innervado pelo sistema nervoso entérico, uma rede de neurônios muitas vezes chamada de “pequeno cérebro”. É uma subdivisão do sistema nervoso autônomo com neurônios aferentes e eferentes. Os neurônios pós-ganglionares podem ser colinérgicos, quando liberam acetilcolina ou neurônios não-adrenérgicos não-colinérgicos, quando liberam outros neurotransmissores, a exemplo do óxido nítrico (NO) e da substância P. Esses neurônios atuam na regulação da liberação dos principais mediadores envolvidos na secreção ácida gástrica (SCHUBERT; PEURA, 2008) (Figura 2).

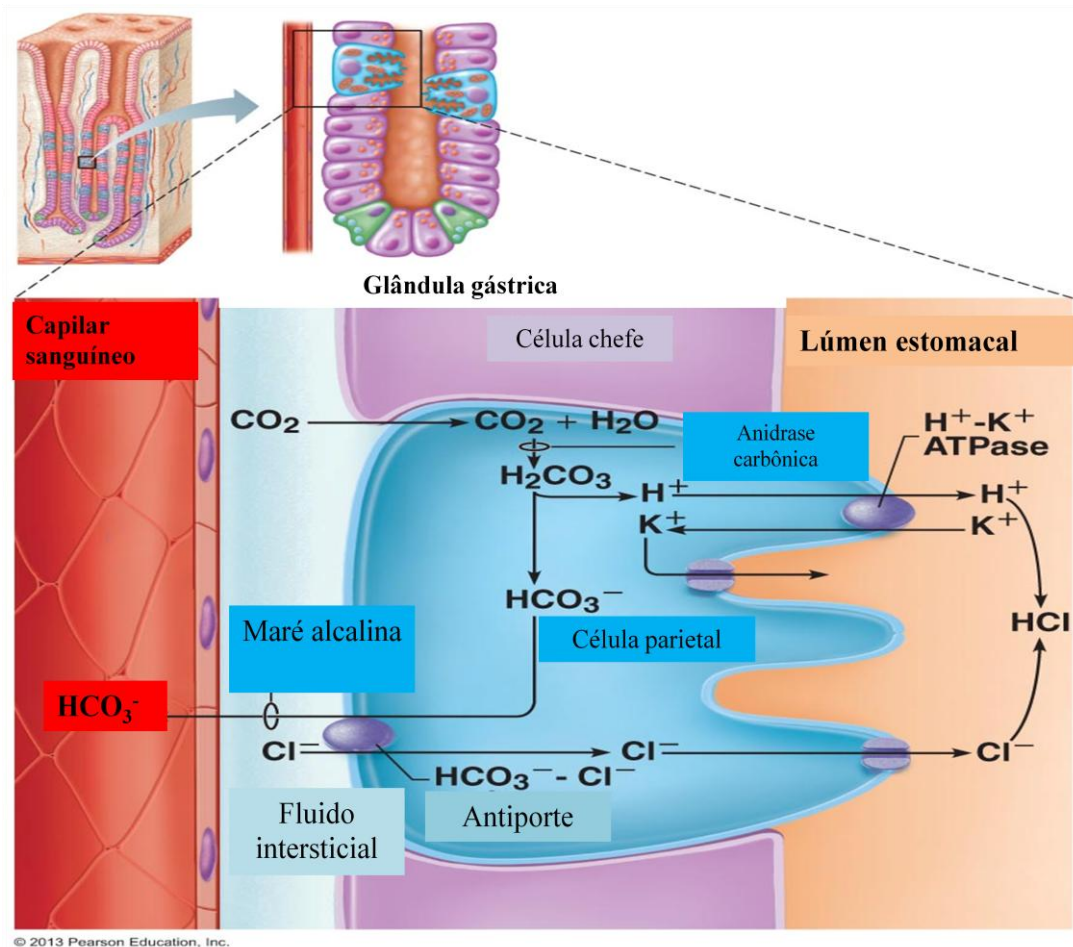
1.3 Secreção Ácida Gástrica

A secreção ácida auxilia na conversão do bolo alimentar em quimo, destrói bactérias e realiza a digestão de gorduras e carboidratos. Diante de um estímulo, a taxa de secreção de ácido pode aumentar cerca de dez vezes mais (FRY, 2009).

O HCl é produzido nas células parietais, altamente especializadas e que abrangem uma rede de pequenos canais, denominados canalículos, que aumentam a área de contato. Também estão presentes as tubulovesículas, estruturas

intracelulares ligadas à membrana, por onde o ácido será lançado e onde está localizada a bomba de H^+/K^+ -ATPase. Uma vez estimulada, a célula parietal promove a fusão das tubulovesículas com a membrana apical da célula para a liberação do ácido no lúmen (FRY, 2009; FEHER, 2012).

Figura 3 – Formação do ácido clorídrico na célula parietal da glândula gástrica (Modificado de <http://classes.midlandstech.com/carterp/Courses/bio211/chap23/chap23.htm>)



A célula parietal secreta HCl por um mecanismo de transporte ativo, dependente de trifosfato de adenosina (ATP), onde os íons H^+ e HCO_3^- são formados a partir da interação dos íons Cl^- do sangue arterial com a água e o dióxido de carbono, na presença da enzima anidrase carbônica. Em seguida, ocorre o influxo de íons H^+ e consequente saída de íons K^+ , através da enzima H^+/K^+ -ATPase localizada na membrana apical da célula parietal. A bomba H^+/K^+ -ATPase é formada de duas subunidades, sendo a subunidade α a que contém o sítio catalítico. Na superfície basolateral ocorre também o efluxo de íons HCO_3^- e a entrada de Cl^- , daí a secreção

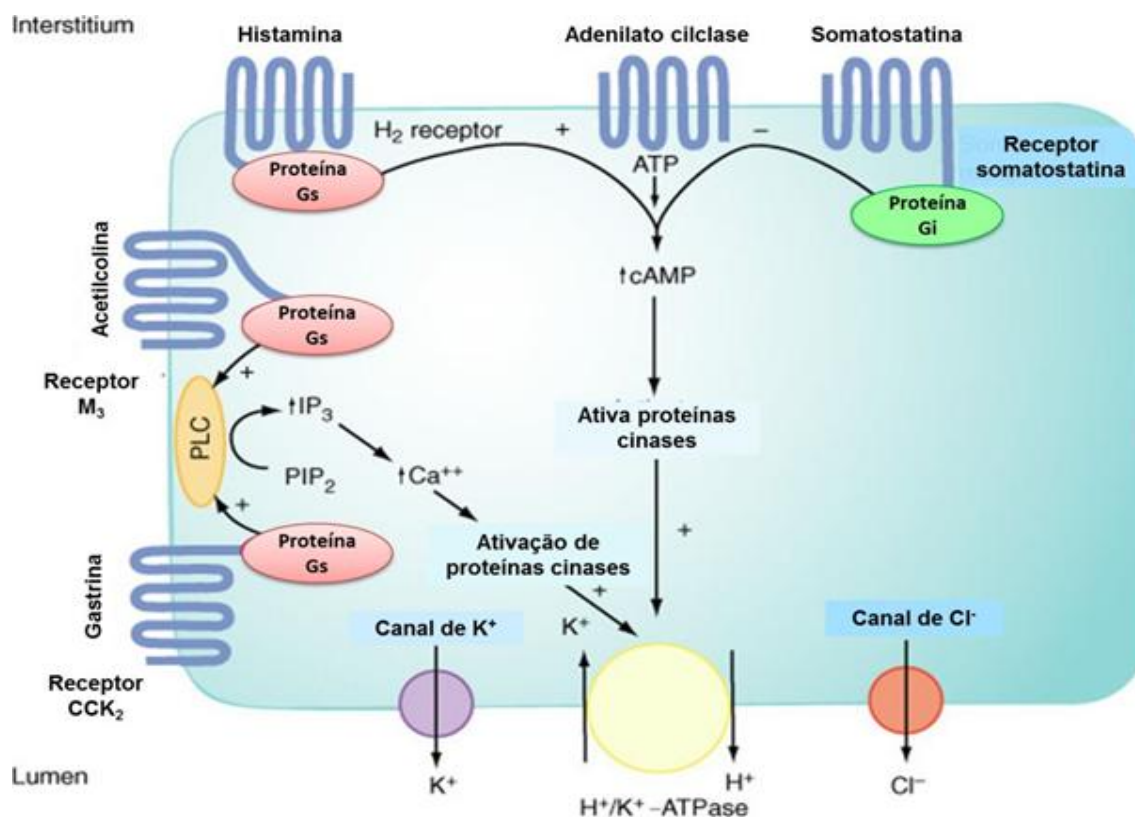
de H^+ ser acompanhada por uma maré alcalina no sangue gerada pelos íons bicarbonato (FRY, 2009; FEHER, 2012) (Figura 3).

1.4 Mecanismos Regulatórios da Secreção Ácida

O controle da secreção neuroendócrina é complexo e atua diretamente sobre as células parietais e indiretamente pelos hormônios secretados no estômago. Esse mecanismo envolve as sinalizações neurócrina, parácrina e endócrina. Os principais estimulantes são a histamina, a gastrina e a acetilcolina, secretagogos que vão agir nos seus receptores específicos na superfície basolateral da célula parietal para estimular a secreção de HCl. Outros agentes estimulantes incluem a cafeína e o álcool (GOLAN et al., 2008; SCHUBERT; PEURA, 2008; FRY, 2009; STENGEL et al., 2010) (Figura 4).

A acetilcolina (ACh) corresponde à estimulação neuronal e é liberada a partir de nervos pós-ganglionares do sistema nervoso autônomo parassimpático, com corpos celulares localizados na submucosa. Estimula a célula parietal diretamente via receptores muscarínicos do tipo M_3 acoplados a proteína $G_{q/11}$ e promove a ativação de fosfolipase C (PLC), com consequente geração de 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3) e o aumento da concentração de cálcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$), ativando proteínas cinases, que regulam a fusão das vesículas contendo a H^+/K^+ -ATPase com a membrana apical destas células. De forma indireta, ativa receptores M_2 e M_4 presentes nas células D e inibe a liberação de ANP, mecanismos que corroboram com a inibição da secreção de somatostatina. A ACh induz, ainda, a liberação de gastrina por ativar os receptores M_3 presentes nas células G e estimular a cascata de sinalização do Ca^{2+} e, induz também, a secreção de histamina das células ECL do fundo gástrico (JAIN et al., 2007; SCHUBERT; PEURA, 2008; BANSAL et al., 2009; SCHUBERT, 2011).

Figura 4 – Mecanismos envolvidos na secreção ácida gástrica (Fonte: <http://www.misodor.com/estomago%20cirurgical.html> - Acesso em: 20 mai 2013)



A gastrina, o estimulante endócrino da secreção, é liberada das células G do antro e do duodeno, em resposta aos agentes químicos (proteínas) e mecânicos (por exemplo, distensão) que agem diretamente sobre a célula G e/ou indiretamente, através de liberação de mensageiros de células neuroendócrinas e neurotransmissores do sistema nervoso entérico. Estimula diretamente os receptores de colecistocinina 2 (CCK-2) das células parietais, acoplados a proteína $G_{q/11}$, e ativa a via da PLC, levando ao aumento da concentração de cálcio intracelular $[Ca^{2+}]_i$. Isto permite a fusão das vesículas contendo a H^+/K^+ -ATPase com a membrana apical das células parietais (SCHUBERT; PEURA, 2008; SCHUBERT, 2011).

É também um hormônio trófico e ativa de forma indireta o receptor CCK-2 das células ECL acoplado à proteína $G_{q/11}$, ativando a PLC e liberando Ca^{2+} para o meio intracelular. Este agonista estimula de forma bifásica a histamina, promovendo a sua liberação e síntese e ativando a indução da histidina descarboxilase, que controla a síntese de histamina nas células ECL. Este é o principal mecanismo que a gastrina

utiliza para estimular a secreção de ácido (SCHUBERT; PEURA, 2008; BANSAL et al., 2009; SCHUBERT, 2011).

A histamina é liberada das células ECL das glândulas oxínticas e dos mastócitos da lâmina própria e se liga ao receptor do tipo H_2 para a histamina na célula parietal acoplado à proteína G_s . A ativação desta via estimula a adenilato ciclase (AC) e aumenta a concentração intracelular de adenosina 3' 5' monofosfato-cíclico (AMPc). O AMPc ativa a proteína-quinase dependente de AMPc, a proteína cinase A (PKA), que fosforila, ativa a H^+/K^+ -ATPase e permite a fusão das vesículas com a membrana apical das células parietais. A fosforilação permite a extrusão de H^+ para o lúmen gástrico. Assim, ocorre a estimulação direta da secreção ácida via parácrina. A histamina é também um potente vasodilatador e promove o aumento do fluxo de sangue nas regiões adjacentes, em virtude do intenso metabolismo e também age indiretamente pela interação aos receptores H_3 das células D ligados à inibição da somatostatina, estimulando a liberação de gastrina e histamina (SCHUBERT; PEURA, 2008; BANSAL et al., 2009; FRY, 2009).

Além da somatostatina, a secretina, a colecistocinina e as prostaglandinas (PGs) estão envolvidas no processo de inibição da secreção ácida. A somatostatina liberada das células D atua no receptor de somatostatina 2 (SST_2) acoplado a proteína G_i , diminuindo indiretamente a secreção ácida através da inibição da liberação de gastrina das células G e de histamina das Células ECL e mastócitos. Atua de forma direta, inibindo as células parietais e a cascata de sinalização da AC (ZHAO et al., 2008; BANSAL et al., 2009).

A prostaglandina E_2 (PGE_2) melhora a resistência à lesão através da redução da secreção ácida basal e estimulada, reforçando a secreção de bicarbonato, a produção de muco, renovação celular e o fluxo sanguíneo local, além de inibirem a secreção de histamina. Regulam a secreção ácida gástrica via receptor EP_3 , acoplado à proteína G_i , que uma vez ativada, inibe a via da AC na célula parietal (BANSAL et al., 2009).

O duodeno também exerce um efeito inibidor sobre a secreção gástrica, através da liberação do hormônio secretina, decorrente da acidez do quimo. A secretina inibe as células G e as células parietais (FRY, 2009).

A secreção ácida engloba três etapas: a fase cefálica, mediada inteiramente pelo nervo vago, onde os estímulos variados, incluindo a visão, olfato e sabor dos alimentos provoca a secreção de ácido no estômago; a fase gástrica é responsável por aproximadamente 60% da secreção originada em resposta a uma refeição e resulta em estímulos químicos e mecânicos, mediados por reflexos neuronais locais; e a fase intestinal, onde são liberados os hormônios colecistocinina, secretina, somatostatina e neurotensina e ocorre o controle da secreção ácida pelo estômago (FEHER, 2012).

Diante do desequilíbrio entre os fatores protetores e a acidez gástrica, ocorre a formação de lesões ulcerativas na mucosa do trato gastrintestinal (SCHUBERT; PEURA, 2008).

1.5 Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica

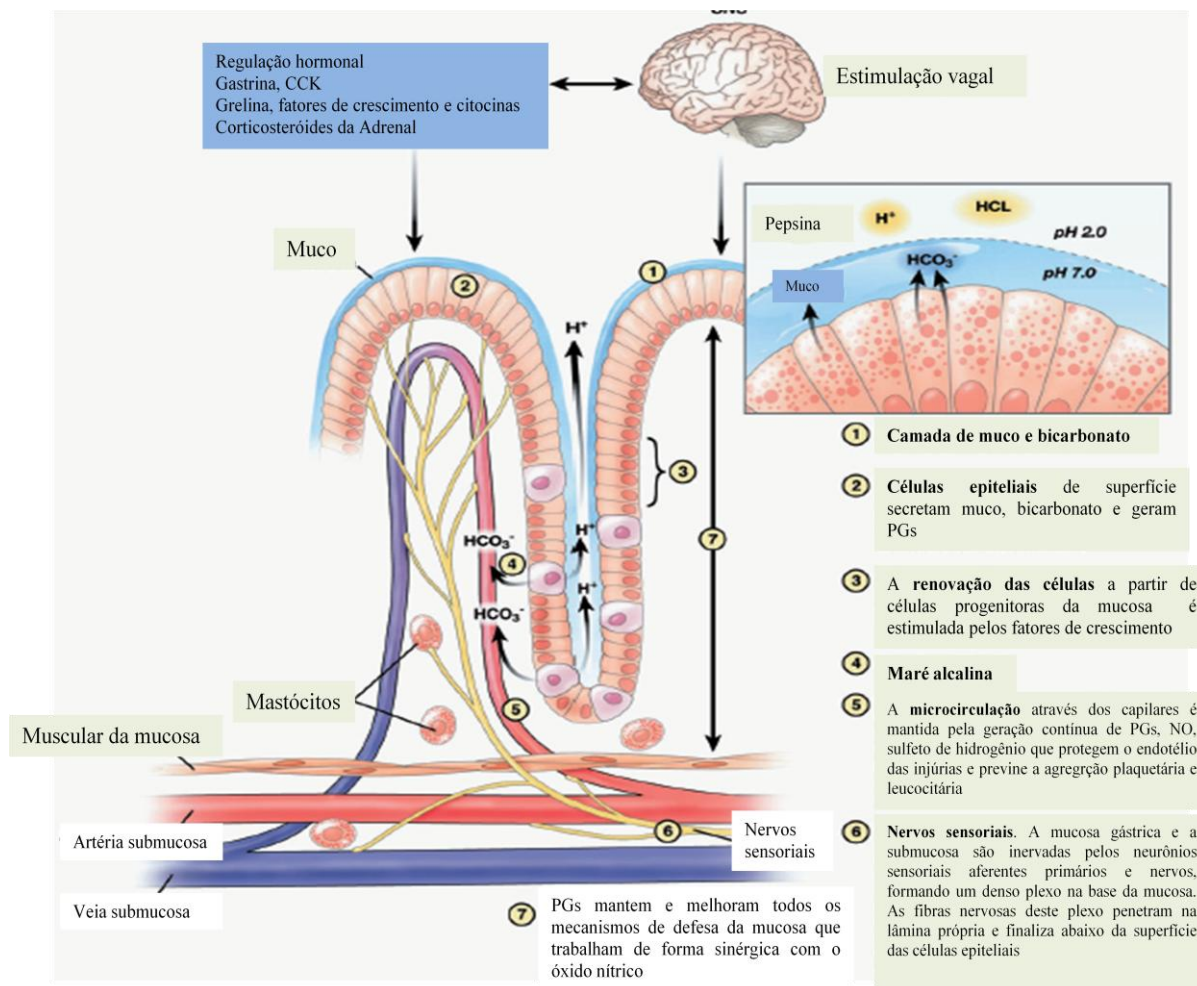
A defesa da mucosa gástrica é um processo dinâmico e apesar de frequentemente exposta aos agentes agressores, a mucosa está protegida por uma série de fatores que atuam conjuntamente. Os diferentes níveis de defesa iniciam no lúmen e pode atingir as camadas mais internas do tecido, em um processo muito rápido de reparação. Há ainda, os moduladores desses componentes protetores, a exemplo das PGs (WALLACE, 2008).

Os fatores de defesa pré-epiteliais, a barreira epitelial, a renovação contínua das células, o fluxo sanguíneo contínuo através da mucosa, a inervação sensorial, as PGs e o NO são responsáveis por manter a integridade da mucosa (TARNAWSKI, 2010) (Figura 5).

Com relação à defesa pré-epitelial, a barreira de muco-bicarbonato-fosfolipídeos e o suco gástrico desempenham papéis relevantes na proteção. A camada de muco presente na superfície do estômago atua como um lubrificante, reduzindo as agressões mecânicas geradas pela passagem do bolo alimentar. O muco é composto de um gel viscoso e elástico aderente e transparente, formado de água e glicoproteínas. As propriedades protetoras da barreira mucosa dependem

não apenas da estrutura do gel, mas também da quantidade ou a espessura da camada (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; WALLACE, 2008).

Figura 5 – Agentes protetores da mucosa gástrica (Adaptado de TARNAWSKI, 2010)



A presença do muco e dos fosfolipídios de membrana formam uma barreira física hidrofóbica que impede a difusão dos íons H^+ , e juntamente com os íons bicarbonato secretados pelo epitélio, atuam na contenção da pepsina e do pH ácido da secreção gástrica, proporcionando um microambiente próximo da neutralidade. Esta barreira impede, ainda, a capacidade de penetração das bactérias no epitélio (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; WALLACE, 2008).

O suco gástrico contém um número de elementos capazes de diminuir a colonização bacteriana do estômago, incluindo ácido, imunoglobulinas e lactoferrina (WALLACE, 2008).

Na defesa epitelial, a membrana apical das células do epitélio gástrico é altamente resistente à difusão de íons hidrogênio e pepsina. As células epiteliais superficiais, as células do pescoço e as células secretoras de muco das glândulas também secretam a glicoproteína mucina. As subunidades de mucina são unidas por pontes dissulfeto, formando uma barreira de revestimento do epitélio contra os danos ocasionados pelo contato com as secreções ácidas. As células epiteliais secretam também PGs, proteínas de choque térmico que previnem a lesão tecidual e catelicidinas que inibem a invasão bacteriana. No entanto, a membrana basolateral destas células se apresentam sensíveis ao ácido (TANAKA et al., 2007; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; FEHER, 2012).

Outro fator importante de proteção é a rápida renovação do epitélio gástrico, que ocorre em cerca de 2 a 4 dias, substituindo as células antigas através do processo de apoptose e sem comprometer a continuidade e função do epitélio (WALLACE, 2008).

O fluxo sanguíneo, que atua como mecanismo de defesa sub-epitelial, e a inervação sensorial gástrica, impedem que o dano causado ao epitélio evolua para necrose das camadas mais profundas da mucosa. O muco e a exsudação do plasma proveniente da vasculatura comprometida formam uma espécie de tampão sobre a região danificada, impedindo a entrada de ácido e permitindo que a restituição da área lesionada ocorra. A manutenção do pH elevado depende do fluxo sanguíneo na mucosa, se o fluxo for interrompido, o pH diminui e as lesões hemorrágicas se formam. O fluxo sanguíneo sofre influência hormonal e do sistema nervoso central e entérico, além dos fatores de crescimento e das PGs (WALLACE, 2008).

A rica vasculatura reage quase instantaneamente à presença de ácido na mucosa superficial, graças às terminações nervosas sensoriais aferentes que detectam a presença de ácido e liberam um vasodilatador, o peptídeo relacionado ao gene de calcitonina (CGRP). Isto promove o relaxamento da musculatura das arteríolas e o consequente aumento do fluxo de sangue (WALLACE, 2008).

A reconstituição do epitélio gástrico é um processo essencial, onde são necessárias a migração de células epiteliais localizadas no pescoço das glândulas e

a proliferação de células pró-genitoras, que ocorre após a injúria e é influenciada pelos fatores de crescimento e de transcrição (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A migração celular depende dos rearranjos dos filamentos do citoesqueleto. Os fatores envolvidos na proliferação envolvem o fator de crescimento epidermal (EGF), o fator de crescimento transformador α (TGF- α) e a PGE₂ (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

1.6 Agentes Moduladores da Mucosa Gástrica

Dentre os envolvidos na defesa da mucosa gástrica, o óxido nítrico é um gás endógeno solúvel, com efeitos semelhantes aos das PGs no trato gastrintestinal. Importante na manutenção da integridade da mucosa, o NO promove a inibição da secreção ácida, o estímulo à secreção de muco e a ativação do fluxo sanguíneo (FIORUCCI et al., 2006; WALLACE, 2008; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

O óxido nítrico é sintetizado endogenamente a partir da L-arginina em uma reação catalisada por uma das três isoenzimas NO sintetase (NOS). Duas isoformas, a neuronal e a endotelial, são constitutivas e dependentes de Ca²⁺/calmodulina e a terceira isoforma é a induzida, independente de Ca²⁺. A NOS induzida é capaz de produzir altos níveis de NO durante um estado de injúria ou inflamação (OH et al., 2006; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

O efeito relaxante do NO se deve à ativação da ciclase de guanilil solúvel (GCs). O NO se liga ao grupamento heme da GCs, produzindo o monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), ativando a proteína cinase G (PKG), dependente de GMPc e iniciando uma cascata de fosforilação que resulta na ativação de enzimas alvos (MONCADA; HIGGS, 2006; LANAS, 2008).

Além de um potente vasodilatador capaz de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa, o NO é capaz de inibir a aderência de leucócitos no endotélio vascular. Promove, também, a resistência da mucosa aos agentes agressores e acelera o

processo de cicatrização da úlcera, levando à angiogênese através do estímulo do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (ZANARDO et al., 2006).

As PGs são potentes moduladores derivados do metabolismo do ácido araquidônico (AA), resultantes da ação de uma enzima-chave, a ciclooxigenase (COX), que converte AA em prostaglandina endoperoxídeo (PGG₂) e prostanóides (prostaciclina, tromboxanos, prostaglandinas E₂, D₂ e F_{2α}) (KAM; SO, 2009).

A COX compreende três isoformas, sendo a COX-1 a isoforma constitutiva, importante na manutenção das funções renal e plaquetária e relacionada com a integridade do epitélio gastrointestinal. A COX-2, a isoenzima induzida, está expressa nos tecidos inflamados e também tem papel fundamental na homeostase renal, cardiovascular e cerebral. É responsável pela aderência leucocitária nos vasos, angiogênese e reparo celular. Já a COX-3 detectada no córtex cerebral humano, possivelmente está envolvida com o efeito antipirético e analgésico de algumas drogas, como o paracetamol (KAM; SO, 2009).

As PGs influenciam praticamente todos os componentes de defesa da mucosa, atuam estimulando a produção de muco e a secreção de bicarbonato, auxiliam na manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa e aumentam resistência das células epiteliais frente às lesões. A PGE₂ desempenha um papel importante nesta regulação, sendo a mais abundante no trato gastrointestinal e seus mecanismos de proteção estão relacionados com a ativação dos receptores EP (WALLACE, 2008).

Os receptores de membrana EP estão acoplados a proteínas G e poderão ativar diferentes mecanismos de sinalização intracelular. As PGs inibem a secreção ácida gástrica através da ligação aos receptores do tipo EP₃ e IP. A síntese de muco no estômago está relacionada aos receptores EP₄ e a secreção de bicarbonato promove a ativação de receptores do tipo EP₁. PGs exercem um potente efeito vasodilatador via receptores EP₂, EP₄ e IP, graças ao aumento do fluxo sanguíneo (KOTANI et al., 2006; NISHIO et al., 2007; TAKEUCHI et al., 2007).

As prostaglandinas derivadas da COX-1 contribuem para o fluxo de sangue basal na mucosa, criam um pH favorável à mucosa e reduzem a permeabilidade do epitélio à difusão do ácido. Nos casos onde há o comprometimento da integridade desta mucosa, as PGs oriundas do metabolismo da COX-2 demonstram maior importância para a manutenção desse fluxo sanguíneo (KOTANI et al., 2006; WALLACE et al., 2008).

Um radical livre é qualquer espécie (átomo, grupo de átomos ou molécula) que contém um ou mais elétrons desemparelhados ocupando um único orbital atômico. A presença de um elétron desemparelhado tornam as espécies altamente reativas, embora com diferentes níveis de reatividade. As espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) são geradas principalmente durante a inflamação ou disfunções biológicas. As principais EROs distribuem-se em dois tipos, os radicalares como a hidroxila ($\text{HO}\cdot$) e o superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$); e os não-radicalares, como o oxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Estas espécies podem atacar lipídios, proteínas, ácidos nucleicos, e as espécies pouco reativas podem ainda gerar espécies danosas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Reações de oxidação-redução envolvem troca de elétrons entre as espécies moleculares. Grande parte destes radicais deriva do oxigênio ou do radical NO, entretanto há espécies que não são radicais livres, mas devido sua alta reatividade atuam como tais, a exemplo do H_2O_2 e peroxinitrito (ONOO^-). Os radicais livres reagem podendo provocar danos às biomoléculas e a oxidação de lipídios interfere no transporte pela membrana podendo levar a ruptura e morte celular. O sistema antioxidante compreende a proteção enzimática ou por micromoléculas, que podem ser endógenas ou adquiridas pela dieta. As enzimas podem atuar diretamente contra os radicais ou, ainda, reparar os danos causados ao organismo por essas espécies (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese de várias doenças, incluindo a úlcera gástrica e os antioxidantes desempenham um papel significativo na proteção da mucosa gástrica. Os antioxidantes protegem as células dos danos causados pelo estresse oxidativo (BARDI et al., 2011; ALMEIDA et al., 2012).

Existem três sistemas enzimáticos antioxidantes, o primeiro são as enzimas superóxido dismutase (SOD), que convertem o ânion superóxido em O_2 e H_2O_2 . Existem duas formas de SOD, a primeira contém Cu^{2+} e Zn^{2+} como centros redox e ocorre no citosol, entretanto sua atividade não é afetada pelo estresse oxidativo. A segunda contém Mn^{2+} , presente na mitocôndria e está envolvida com o estresse oxidativo. O segundo sistema compreende a catalase, uma enzima que promove a dismutação do H_2O_2 em O_2 e H_2O . O último sistema é composto pela glutathiona (GSH) em conjunto com duas enzimas glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona

reduzida (GR). A presença do selênio na enzima (selenocisteína) explica a importância desse metal e sua atuação como antioxidante nos organismos vivos. Esse sistema também catalisa a dismutação do H_2O_2 , sendo que a GSH opera em ciclos entre sua forma oxidada e sua forma reduzida. A GSH reduz o H_2O_2 a H_2O na presença de GPx, formando uma ponte dissulfeto e, em seguida, a GSH é regenerada (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A GSH é um componente chave para a limpeza de metal com alta afinidade dos metais do grupo tiol (SH). O resíduo de cisteína o torna um antioxidante importante que age como um substrato para a regeneração de outros antioxidantes essenciais. Desta forma, a GSH executa a homeostasia de metal e a defesa antioxidante, que influenciam os níveis de GSH reduzida livre e o estado redox celular (SMEETS et al., 2009; BASHANDY et al., 2010; CUYERS et al., 2010; FOYER; NOCTOR, 2011). Além disso, o equilíbrio redox transmite informações específicas, a fim de integrar as vias de sinalização celular e respostas, sob condições de estresse ambiental (FOYER; NOCTOR, 2011; SETH et al., 2012).

1.7 Fisiopatologia da Úlcera Péptica

1.7.1 Etiologia

As úlceras pépticas compreendem as úlceras esofágicas, gástricas e duodenais e são causadas por um desequilíbrio entre os fatores protetores e defensores da mucosa (BANSAL et al., 2009).

Os fatores citoprotetores são representados pela barreira de muco-bicarbonato, secreção de mucina, fosfolípidios de superfície, PGs, fluxo sanguíneo da mucosa, renovação celular, enzimas antioxidantes como a catalase, superóxido dismutase e fatores de crescimento (ALQASOUMI et al., 2009; PRABHA et al., 2009; ALRASHDI et al., 2012).

Os mecanismos agressores resultam da união de fatores endógenos, como o HCl, a pepsina, o refluxo biliar, a peroxidação lipídica e formação das EROs, e exógenos relacionados ao estilo de vida contemporâneo que incluem uso excessivo de álcool, uso indiscriminados de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs),

estresse, fumo e a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori*, entre outros (ALQASOUMI et al., 2009; PRABHA et al., 2009; OYAGI et al., 2010).

O etanol e seu metabólito, o acetaldeído, são responsáveis por causar grande parte das injúrias gástricas no homem, levando ao aparecimento de lesões hemorrágicas, edema, esfoliação celular e infiltração de células inflamatórias. O acetaldeído promove a diminuição dos níveis de antioxidantes, formando um complexo com a GSH, resultante da peroxidação lipídica (KO; CHO; LAM, 2004).

Os AINEs são ácidos orgânicos fracos, que contêm um ácido carboxílico em sua estrutura, o qual contribui para sua hidrossolubilidade e confere propriedade detergente frente aos fosfolipídios de membrana. São capazes de inibir o processo de reparo, proliferação celular e angiogênese, retardando o processo de cicatrização da mucosa gástrica (BJARNASON et al., 2007).

Efeitos adversos ao trato digestório ocasionados pelos AINEs, vão desde sintomas dispépticos, erosões gástricas e até úlceras pépticas com complicações graves, como sangramento ou perfuração (BLANDIZZI et al., 2009).

Essas drogas causam lesões gastrintestinais tanto pela ação tóxica local como sistêmica. O efeito local inicia com o comprometimento da barreira epitelial gástrica e com a inibição da síntese de PGs. Os AINEs promovem o desacoplamento da fosforilação oxidativa mitocondrial e a inibição da cadeia transportadora de elétrons, resultando na depleção de ATP intracelular, na toxicidade pelo acúmulo de Ca^{2+} intracelular e na geração de espécies reativas de oxigênio. EROs, como radicais superóxido e hidroxila, promovem a oxidação de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, gerando a perda da função ou ativando uma série de cascatas de sinalização que levam à necrose e apoptose da célula (ORRENIUS; GOGVADZE; ZHIVOTOVSKY, 2007).

Os AINEs interagem quimicamente com os fosfolipídios da superfície da membrana da mucosa gástrica e alteram as propriedades hidrofóbicas, levando a um aumento na permeabilidade da membrana, formação de poros e interferindo na sua fluidez e espessura. Isso permite que ocorra a retrodifusão dos íons H^+ sobre as células mucosas, causando a morte celular por apoptose, necrose e desenvolvimento de úlceras gástricas (LICHTENBERGER et al., 2006).

A inibição das enzimas COX-1 e COX-2, leva ao bloqueio da síntese das prostaglandinas, principal responsável pelo efeito sistêmico causado pelos AINEs. A integridade da mucosa gástrica depende geração contínua de PGE₂ e prostaciclina (PGI₂), ambos são vasodilatadores potentes e controlam quase todos os aspectos de defesa da mucosa gástrica (DEY; LEJEUNE; CHADEE, 2006; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

O estilo de vida contemporâneo é um importante fator no aumento da secreção ácida e conseqüente formação de úlceras. Ainda não foi definido qual dos fatores é preponderante na origem das ulcerações, entretanto o estresse promove o acúmulo de neutrófilos e citocinas pró-inflamatórias, levando à geração das espécies reativas de oxigênio (FILATEROVA et al., 2007).

A bactéria *Helicobacter pylori*, um bacilo gram-negativo espiralado, com predileção pela região do antro do estômago, é considerado um dos principais agentes causadores de úlcera gástricas e duodenais. Produz como fatores de virulência a enzima urease e endotoxinas, bem como uma lipase e uma protease que combatem a acidez gástrica da mucosa. A urease é responsável por converter a uréia em amônia e proporcionar resistência ao ambiente ácido. A amônia envolve e protege a bactéria da ação dos íons H⁺, criando um ambiente alcalino de proteção em torno do patógeno (BANSAL et al., 2009).

O tabagismo é um fator etiológico que está diretamente associado ao surgimento de úlcera péptica e tem um impacto direto sobre a formação, gravidade e incidência de úlceras gástricas. A nicotina aumenta o risco de desenvolvimento de úlceras pela ativação da secreção ácida gástrica e redução da produção de muco, diminuindo a proteção do estômago. O fumo aumenta ainda o risco de desenvolvimento de úlceras por *H. pylori*, analgésicos e álcool (ARO et al., 2006).

As lesões causadas pela úlcera péptica comprometem a integridade do revestimento do estômago ou do duodeno, podendo atingir desde as camadas superficiais – mucosa, muscular da mucosa, submucosa, até as mais profundas camadas da parede muscular. A sintomatologia compreende dor epigástrica, sangramento, obstrução, perfuração, podendo até mesmo evoluir para o estado de morte (BANSAL et al., 2009).

1.7.2 Epidemiologia

A úlcera péptica acomete cerca de 4 milhões pessoas em todo o mundo e em 10 a 20% dos casos evoluem para complicações. O sexo feminino representa mais de 50% dos casos. 2 a 14% das úlceras irão evoluir para perfurações, que mesmo sendo raras são potencialmente fatais, com uma taxa de mortalidade em torno de 10 a 40% (BERTLEFF; LANGE, 2010; LAU et al., 2011; THORSEN et al., 2011, 2013; ZELICKSON et al., 2011).

Aproximadamente 500 mil pessoas desenvolvem úlcera péptica nos Estados Unidos por ano, sendo boa parte adultos com mais de 25 anos e os custos gerados pela doença são estimados em 5,65 bilhões de dólares por ano, representando um impacto substancial na economia. Na Holanda, os custos com a doença chegam aos 12.000 euros por pessoa e suas complicações, como hemorragia e perfuração em torno dos 19.000 e 26.000 euros, respectivamente. Os custos anuais destinados ao tratamento direto e indireto desta doença são estimados em cerca de 10 bilhões de dólares. Porém, a incidência tem diminuído graças à utilização dos inibidores da bomba de prótons e à queda nos índices de infecção causada pelo *H. pylori* (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007; UNIVERSITY OF MICHIGAN HEALTH SYSTEM, 2007).

No Brasil, a maior parte dos dados relacionados à úlcera péptica permanecem subnotificados, impossibilitando o conhecimento de dados epidemiológicos confiáveis com relação à sua incidência (MOTA, 2009).

A elevada incidência de úlcera demonstra sua projeção mundial e exige um tratamento que alcance o alívio dos sintomas com o mínimo possível de efeitos adversos. Nos países ocidentais predominam as úlceras duodenais, enquanto que nos países orientais as úlceras gástricas são as mais comuns, e estas diferenças são atribuídas a fatores como dieta e fatores genéticos (WALLACE, 2008).

1.8 Terapêutica da Úlcera Péptica

A regulação fisiológica da secreção de ácido pelas células parietais é um importante mecanismo para desenvolver agentes capazes de reduzir a acidez gástrica. A terapêutica existente atualmente no mercado é variada e engloba os

antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor H_2 para a histamina e inibidores da bomba de prótons (JAIN et al., 2007).

Os antiácidos foram desenvolvidos há mais de um século com o objetivo de neutralizar a acidez gerada pelo HCl, formando água e dióxido de carbono. Os mais comuns são o hidróxido de alumínio, hidróxido de magnésio, carbonato de sódio e carbonato de cálcio. Entretanto, os efeitos colaterais causados incluem alcalose, náuseas, distensão abdominal, flatulência, diarreia e constipação (JAIN et al., 2007).

A secreção de ácido também é estimulada pelos receptores muscarínicos. Os anticolinérgicos, a exemplo da pirenzepina e telenzepina, bloqueiam o receptor dos gânglios intramurais da parede do estômago, reduzindo a dor e a motilidade duodenal. Porém, os efeitos secundários são variados e incluem boca seca, visão turva e constipação (JAIN et al., 2007).

Antagonistas seletivos do receptor H_2 inibem completamente a interação de histamina com os receptores H_2 , reduzindo a concentração de íons H^+ . Cimetidina, ranitidina e famotidina inibem a secreção de ácido basal, noturna e induzida pela gastrina, pelos agonistas muscarínicos, presença de alimentos e distensão do estômago. São fármacos seguros, entretanto seus efeitos colaterais incluem tonturas, náuseas, erupções cutâneas, sonolência, confusão, impotência, ginecomastia, efeitos hematológicos e alterações imunológicas (JAIN et al., 2007).

O desenvolvimento de agentes tendo como alvo a bomba de prótons presente na célula parietal (principal responsável pela secreção de H^+) representou um avanço tratamento das disfunções pépticas (SCHUBERT; PEURA, 2008).

Os inibidores da bomba de prótons (PPIs) são os agentes mais eficazes para suprimir a acidez gástrica. Omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, esomeprazol, rabeprazol são consideradas drogas de escolha na terapêutica da maioria das doenças gastrointestinais relacionadas com a acidez. Os efeitos adversos incluem dores de cabeça, diarreia, náusea, constipação, prurido, hipergastrinemia, hipersecreção ácida rebote, má absorção, infecção e câncer (O'NEIL; LEONARD, 2011).

A infecção causada pelo *H. pylori* pode ser recorrente em pacientes que tenham sido submetidos ao tratamento prévio. A terapia antimicrobiana dupla ou tripla combinada com drogas antissecretórias (PPIs, como o omeprazol ou antagonista do receptor H_2 , a exemplo da ranitidina) são utilizadas com sucesso no

tratamento de úlceras pépticas. Os compostos de bismuto são incluídos no esquema provavelmente devido à sua ação citoprotetora. A terapia tripla com metronidazol, e um composto de bismuto ou tetraciclina ou amoxicilina, durante duas semanas é recomendado no tratamento de infecções por *H. pylori*. No entanto, as limitações terapêuticas incluem náuseas, diarreia e tonturas (BRUNTON, 2001).

Dentre outros agentes farmacológicos existentes, a carbenoxolona é um composto encontrado naturalmente nos alcaçuz, utilizada como ferramenta farmacológica, é também útil no tratamento da úlcera péptica. O mecanismo de ação não está esclarecido, mas parece alterar a composição e quantidade de muco. Seu uso ainda não foi aprovado nos Estados Unidos, mas na Europa é empregado desde 1962, porém apresenta as desvantagens de causar hipertensão, hipocalcemia e retenção de líquidos (BRUNTON, 2001).

O sucralfato é um sal básico de alumínio que exerce seu efeito tópico ligando-se a proteínas de superfície do local da úlcera. Dentre os efeitos adversos foram observadas prisão de ventre, acúmulo de alumínio (particularmente na insuficiência renal) e hipofosfatemia. A ligação de certas drogas com o sucralfato pode reduzir os efeitos da varfarina, fenitoína, digoxina, quinidina e fluoroquinolonas (O'NEIL; LEONARD, 2011).

1.9 Plantas Medicinais

Mesmo diante das inovações tecnológicas e do acelerado desenvolvimento da medicina moderna, a utilização de plantas medicinais tem papel relevante na saúde mundial, graças aos conhecimentos acumulados pelas diversas populações (VEIGA-JUNIOR; MELLO, 2008; REGINATTO, 2011) e são largamente empregadas como remédios caseiros em todo o mundo, seja como alternativa terapêutica ou complementar (LOYA; GONZÁLEZ-STUART; RIVERA, 2009; BRASIL, 2010).

As espécies vegetais são matéria-prima na produção de fitoterápicos, fitofármacos e outros tipos de medicamentos. A fitoterapia sofre forte influência histórica e cultural e o uso de plantas é uma prática comum nos países desenvolvidos, um exemplo disso é a Alemanha, onde 60% dos medicamentos prescritos são fitoterápicos (ABURJAI et al., 2007; BRASIL, 2010; MUKHERJEE et al., 2010).

No Brasil, plantas e fitoterápicos são responsáveis por um crescimento anual de 10 a 15% nas vendas e há mais de vinte anos o Ministério da Saúde, através do Sistema Único de Saúde, disponibiliza plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos como opções terapêuticas, além de desenvolver políticas de incentivo para a implementação do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária é órgão que trata do registro, regulamentação e fiscalização dos fitoterápicos no País (BRASIL, 2010).

Desde os tempos antigos, o uso tradicional de plantas como especiarias, temperos e nas aplicações médicas é uma prática comum por parte das comunidades dos países em desenvolvimento, que transmitem esses conhecimentos de geração a geração. No entanto, a sobrevivência das espécies vegetais está ameaçada devido à intensa prática do desmatamento (ASASE et al., 2010; KNETE; EFFERTH, 2010; GAHUKAR, 2011; NADEMBEGA et al., 2011; YADIAH et al., 2011).

Investigações etnofarmacológicas acerca de plantas medicinais são relevantes na descoberta de novos alvos terapêuticos, e mesmo diante da rica biodiversidade brasileira e do extenso uso tradicional destas plantas, são escassos os estudos que comprovam o efeito biológico destas espécies (MUTHU et al., 2006; EDRIS, 2007).

Na flora mundial um grande número de espécies são utilizadas na medicina popular para o tratamento de distúrbios gastrintestinais e no Brasil várias plantas tiveram a sua atividade antiulcerogênica comprovada, dentre elas: *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira (BATISTA et al., 2004), *Alchornea castaneaefolia* (HIRUMA-LIMA et al., 2006a), *Qualea grandiflora* (HIRUMA-LIMA et al., 2006b), *Praxelis clematidea* (FALCÃO, 2007), *Maytenus rigida* (SANTOS, 2008), *Virola surinamensis* (HIRUMA-LIMA et al., 2009), *Xylopia langsdorffiana* (MONTENEGRO, 2011) e *Maytenus distichophylla* (CALDAS-FILHO, 2013). Esse efeito farmacológico se deve aos mais diversos tipos de metabólitos secundários, dentre eles os compostos polifenólicos, terpenos e alcalóides.

1.10 Família Anacardiaceae e Gênero *Spondias*

O Brasil abrange cinco biomas, designados como floresta amazônica, cerrado, mata atlântica, pantanal e caatinga (VEIGA-JUNIOR, 2008). A “caatinga” recebeu esta denominação pelo aspecto da vegetação nas épocas de seca, considerado o mais relevante ecossistema do Nordeste do Brasil, esse bioma faz parte do semiárido e consiste de extensas planícies com grande diversidade cultural e biológica, porém se encontra atualmente ameaçado pelo intenso desmatamento e pela descontrolada exploração extrativista (AGRA, FREITAS & BARBOSA-FILHO, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007a).

Nos últimos anos, os estudos sobre o uso de plantas e seus derivados têm evoluído no Nordeste do Brasil e muitas espécies conhecidas da “caatinga” são utilizadas tanto na medicina popular como no desenvolvimento e produção de fitoterápicos, sendo uma das espécies mais comuns e importantes *Myracrodruon urundeuva* Allemão (ALBUQUERQUE et al., 2007b, MELO et al., 2007).

Dentre as variedades de plantas mais estudadas, destaca-se a família Anacardiaceae que reúne cerca de setenta gêneros, com aproximadamente 875 espécies, distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e poucas em regiões de clima temperado (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Esta família é bem conhecida pela presença de fenóis e ácidos fenólicos. O ácido anacárdico foi isolado da fruta e especialmente do óleo da castanha por Stadler em 1887, sendo um composto característico das espécies deste gênero.

O gênero *Spondias*, descrito por Carl Linnaeus, inclui espécies tropicais, especialmente árvores com resinas. O nome *Spondias* significa “ameixa”, referindo-se à semelhança com o fruto. Muitas dessas espécies são usadas como medicinais em diversas regiões do País (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; WIART, 2006) e na indústria, devido sua alta versatilidade e possibilidade de desenvolver novos análogos sintéticos. Do ponto de vista fitoquímico, o gênero é rico em metabólitos secundários, em especial compostos fenólicos, responsáveis por importantes atividades biológicas (ENGELS et al., 2012).

Composto por mais de 15 espécies presentes nas regiões tropicais, na literatura há alguns relatos do uso de *Spondias* na medicina tradicional. Estudos de

Spondias mangifera demonstraram atividade gastroprotetora, antidiarreica e antimicrobiana (ARIF et al., 2008). Os extratos metanólico e aquoso obtidos das raízes demonstraram atividade frente ao *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (ACHARYYA et al., 2010).

Spondias pinnata apresenta atividade antioxidante de diferentes extratos comprovada, devido a presença de fenóis e flavonóides (SATPATHY; TYAGI; GUPTA, 2011). A atividade hipoglicemiante das cascas foi observada em roedores. Esta atividade poderá ser atribuída à presença destes compostos fenólicos, corroborando o emprego na medicina tradicional (SHETTY; WAHLQVIST, 2004; SATPATHY; TYAGI; GUPTA, 2011).

O fruto de *S. pinnata* também foi ativo contra *C. albicans* e *T. mentagrophytes* (KEAWSA-ARD & LIAWRUANGRAT, 2009). Diferentes tipos de extratos obtidos a partir de *S. pinnata* foram eficazes frente a bactérias Gram positivas e negativas (SATPATHY, TYAGI & GUPTA, 2011). O extrato bruto e a polpa são utilizadas na medicina popular com indicação antibacteriana (BIBITHA et al., 2002, MOHANTA; ROUT; SAHU, 2006), e estudos comprovaram tal efeito frente às cepas de *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 (KEAWSA-ARD & LIAWRUANGRAT, 2009). A resina extraída com o éter de petróleo apresentou efeito frente ao *B. subtilis* (GUPTA et al., 2010), o extrato metanólico foi ativo frente a *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus* and *E. coli* (CHETIA & GOGOI, 2011) e o extrato clorofórmico, contra *S. typhi*, *S. aureus*, *V. cholera*, *Shigella dysenteriae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* (DAS et al., 2011).

Salmonella typhimurium, *E. coli* (DADUANG et al, 2011), *S. typhi*, *Shigella boydii*, *S. flexneri*, *S. sonney*, *P. aeruginosa*, *V. cholera*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. saprophyticus*, *S. aureus* (MUHAMMAD et al., 2011, AMBASTA, 1992) foram suscetíveis ao extrato etanólico de *S. pinnata*.

Spondias dulcis, “cajá-manga”, é outra espécie comum no Nordeste do Brasil, utilizada na medicina tradicional e tem estudos comprovados no tratamento do diabetes (HAMANO; MERCADANTE, 2001; MITCHELL; AHMAD, 2006).

O uso tradicional de extratos aquosos na medicina popular inclui o tratamento de diferentes tipos de distúrbios gastrointestinais. Diarréia, disenteria ou

gastroenterites podem estar diretamente relacionadas com a presença destes patógenos. *Spondias mombin* apresentou pronunciado efeito anti-inflamatório (ABAD et al., 1996) e antibacteriano, ambos requeridos no combate da úlcera péptica que se origina de diferentes causas. *S. mombin* é uma espécie comumente empregada como alimento e na medicina popular para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, hiperglicemia, contra a febre tifóide e ainda, como abortiva (ABO; OGUNLEYE; ASHIDI, 1999; AYOKA et al., 2006).

Um estudo das frações químicas e composto isolado realizado por Fred-Jaiyesimi, Kio e Richard (2009) também comprovou a atividade antidiabética das folhas de *S. mombin* frente à inibição da α -amilase. Estudos com o extrato etanólico das sementes reduziram os níveis de glicose e proteínas totais em ratos com diabetes induzida por aloxano (EMEKA; IWEALA; OLUDARE, 2011).

A decocção das cascas e folhas de *S. mombim* são empregadas no uso tradicional para o tratamento da gonorréia (GBOLADE & ADEYEMI, 2008; HAZRA; BISWAS; MANDAL, 2008; AKINMOLADUN, OBUOTOR, FAROMBI, 2010;). As folhas e cascas de *S. mombim* são popularmente utilizadas no tratamento da malária (IDOWU et al., 2010).

O extrato aquoso das folhas de *S. lutea* inibiu significativamente o rotavírus simian (SA-11) e humanos (HCR3) (GONÇALVES et al., 2005), as cascas e folhas de *S. radlkoferi* apresentou atividade inibitória frente a enzima transcriptase reversa HIV-1 (CALDERON et al., 2000).

O uso popular das folhas, cascas e raízes de *S. mombim* contra helmintos foi validada através de estudos *in vitro* com o extrato aquoso (GBOLADE & ADEYEMI, 2008). As extrações com etanol e acetona feitas com as cascas do caule de *S. pinnata*, nas concentrações de 10, 25, 50 e 100 mg/ml, também foram ativas (PANDA et al., 2011).

1.11 *Spondias purpurea* L.

Foi registrado amplo uso na região amazônica da espécie conhecida popularmente por serigüela, seus frutos comestíveis são usados na forma de suco

para o alívio de febre e dores (Figura 6). Em outros países da América do Sul é empregada contra dores renais, como antidiarréico, antiespasmódico, diurético, analgésico e antianêmica. Estudos farmacognósticos realizados com a espécie indicam a presença marcante de taninos, flavonóides e triterpenos em suas folhas, e raízes (GUERRERO, 1994), constituintes químicos marcantes nas plantas com atividade antiulcerogênica.

Os extratos aquoso e metanólico e as cascas de *S. purpurea* foram ativos contra cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *E. coli* (AGRA, DE FREITAS, & BARBOSA-FILHO, 2007; AYOKA et al., 2008; BERNHARDT, 2008; GACHET et al., 2010).

Figura 6 - Fotos de *Spondias purpurea*. Árvore completa e detalhe das folhas (ALMEIDA, 2013)



O uso tópico de *S. purpurea* tem indicação popular no tratamento da *Leishmania*. Accioly et al (2012) comprovaram por testes *in vitro* com promastigotas e amastigotas, o efeito leishmanicida de quatro extratos de *S. mombim*.

Diante dessas premissas, o presente estudo busca investigar a atividade gastroprotetora de espécie *S. purpurea*, levando em consideração o ineditismo do estudo desse gênero frente à atividade farmacológica relatada e da necessidade de investigar novas alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera gástrica.

Objetivos



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato etanólico e da fase diclorometano obtidos das folhas de *Spondias purpurea* L. em modelos animais que mimetizam a úlcera gástrica no homem.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter o extrato etanólico (EEtOH) e as fases (hexânica, diclorometano e acetato de etila), elegendo a fase de melhor rendimento para estudos subsequentes;
- Investigar o efeito gastroprotetor do EEtOH de *S. purpurea* frente ao agente lesivo HCl/etanol, através da triagem farmacológica preliminar;
- Observar a atividade gastroprotetora do EEtOH-Sp e da FaDCM-Sp em modelos clássicos de indução aguda de úlceras;
- Elucidar os possíveis mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor da *S. purpurea*, através da avaliação da participação do óxido nítrico e dos grupamentos sulfidrílicos.

Material e métodos



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Botânico

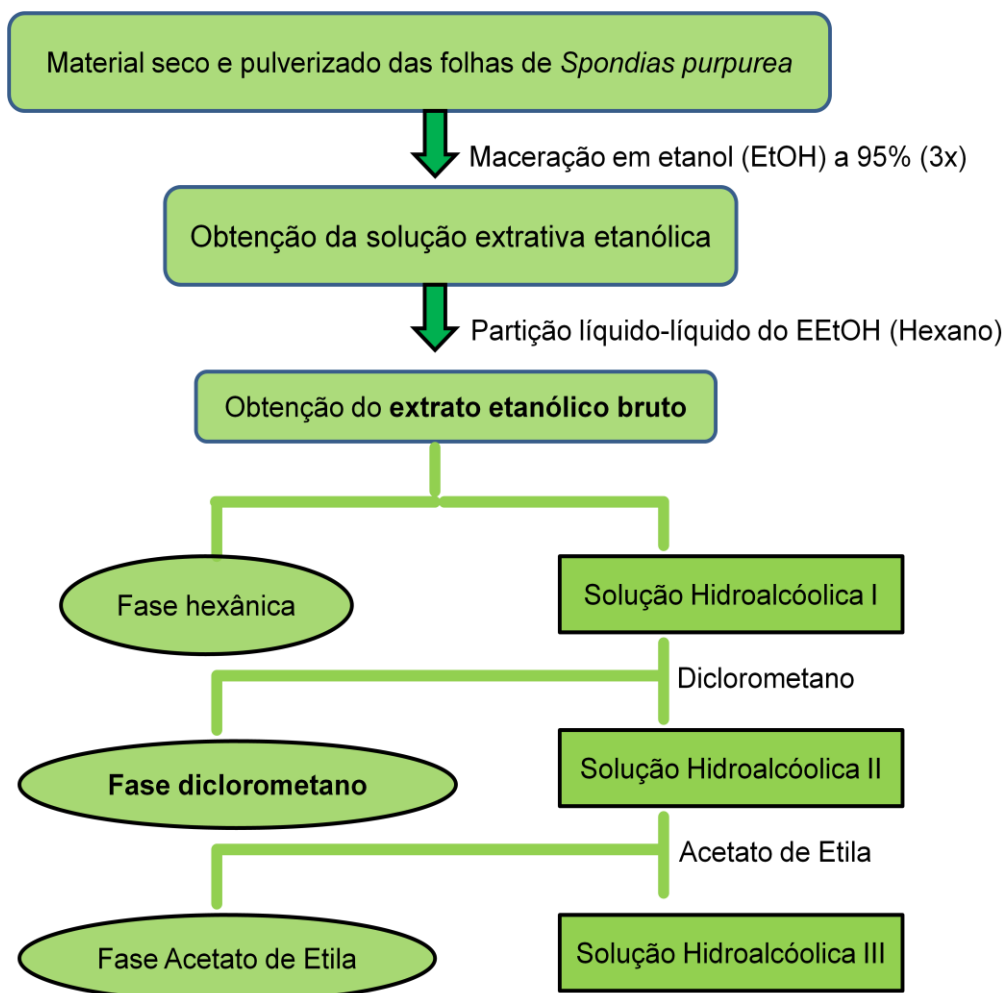
O material vegetal utilizado nos experimentos foi obtido a partir das folhas da espécie *Spondias purpurea* L., coletadas na área destinada à Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Ligeiro, da Fundação Universitária de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (Furne), localizada no município de Campina Grande, Estado da Paraíba, em novembro de 2011. Uma exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob número 128.

3.2 Obtenção das Amostras Vegetais

O extrato etanólico bruto de *S. purpurea* (EEtOH-Sp) foi obtido no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (Labdem), do Complexo Integrado de Pesquisas “Três Marias”, da UEPB. A fase diclorometano (FaDCM-Sp) foi obtida no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM), com o auxílio da equipe do Prof. Dr. Francisco Jaime B. M. Junior, da UEPB e no Laboratório de Farmacoquímica, localizado no Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob responsabilidade do Prof. Dr. Marcelo Sobral e equipe.

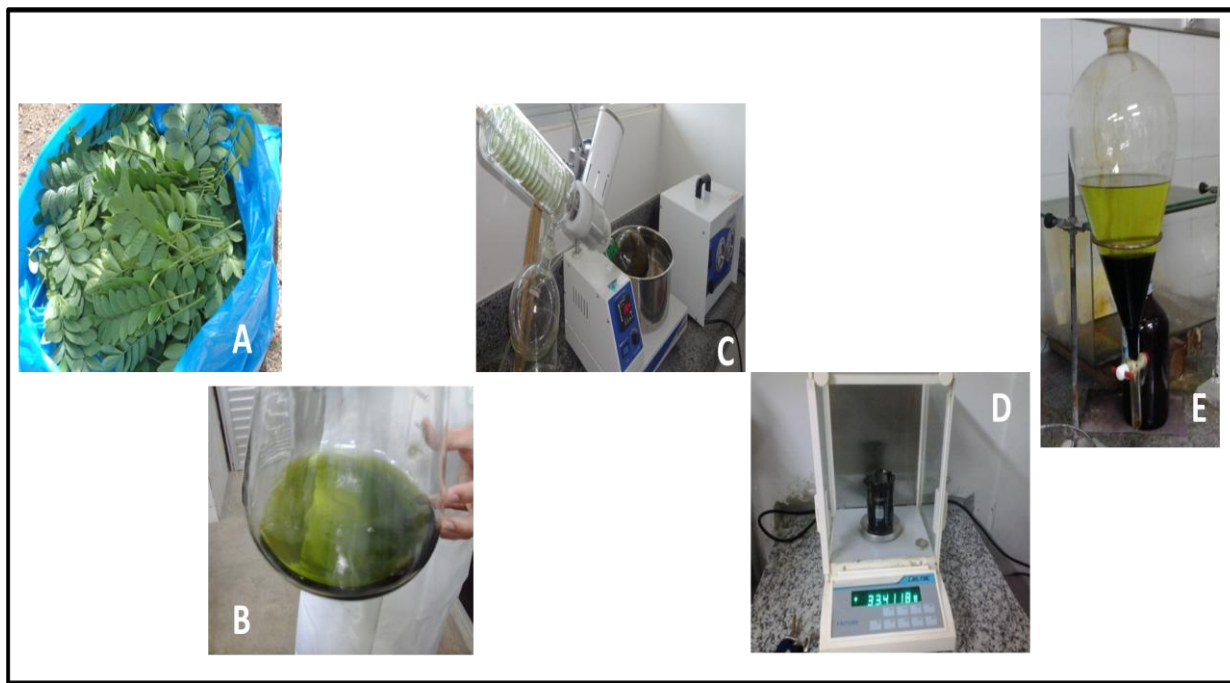
O material vegetal seco e pulverizado das folhas de *S. purpurea* foi exposto à percolação utilizando etanol a 95 %. Assim, a solução etanólica foi filtrada e concentrada em rotaevaporador, resultando no extrato etanólico bruto (EEtOH). O EEtOH foi, então, submetido a uma partição líquido-líquido utilizando os solventes em polaridade de ordem crescente, para obtenção das fases hexânica, diclorometano e acetato de etila (Figura 7).

Figura 7 – Diagrama da marcha fitoquímica para obtenção do EEtOH e da FaDCM das folhas de *Spondias purpurea*



A partir de 50 g de EEtOH-Sp, foram obtidas as partições que resultaram nas fases hexânica, diclorometano (13,22 g) e acetato de etila, respectivamente. A fase diclorometano foi selecionada para a realização dos experimentos posteriores por apresentar o melhor rendimento (26,44 %) (Figura 8).

Figura 8 – Etapas na obtenção das amostras vegetais: A) coleta das folhas de *Spondias purpurea*; B) solução etanólica obtida por maceração exhaustiva com etanol absoluto; C) concentração da solução etanólica em rotaevaporador; D) pesagem do extrato etanólico bruto obtido das folhas de *S. purpurea*; E) obtenção da fase diclorometano de *S. purpurea* (Foto: ALMEIDA, 2013)



3.3 Investigação da Atividade Gastroprotetora de *Spondias purpurea* L.

Inicialmente foi realizada uma triagem farmacológica com o objetivo de avaliar se as amostras obtidas de *Spondias purpurea* apresentavam atividade gastroprotetora. Para isto, foi utilizado o modelo de indução aguda de úlceras gástricas por etanol acidificado.

Na avaliação da atividade antiulcerogênica do EEtOH-Sp e FaDCM-Sp foram utilizados modelos reprodutíveis, capazes de mimetizar as causas da úlcera no homem. A indução aguda de úlceras gástricas foi promovida pelos agentes lesivos: etanol absoluto, estresse por imobilização e frio e AINEs. Foi realizada, ainda, no modelo de etanol absoluto, a avaliação volume e do pH do suco gástrico.

Após a confirmação do efeito gastroprotetor de *S. purpurea*, foi necessário investigar os possíveis mecanismos de ação envolvidos, através dos modelos que avaliam a participação do óxido nítrico e dos grupamentos sulfidrílicos.

Estes estudos foram desenvolvidos nos Laboratórios de Ensaio Farmacológicos e de Análises Clínicas, da UEPB e no Laboratório de Farmacologia do Trato Gastrointestinal, sob orientação da Profa. Dra. Leônia Maria Batista, da UFPB.

Camundongos (*Mus musculus*) albinos machos e fêmeas, da linhagem Swiss, pesando entre 25-35 g e ratos (*Rattus norvegicus*) albinos machos e fêmeas – n=6, linhagem Wistar pesando entre 180-250 g, procedentes do Biotério do CESED, do Biotério da Universidade Potiguar e do Biotério “Prof. Thomas George” do CBiotec, da UFPB. Estes animais foram aclimatados durante sete dias às condições locais, sob temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e submetidos a ciclos claro-escuro controlado de 12 horas, alimentados com ração Presence® tipo pellets e água *ad libitum*.

A eutanásia dos animais foi realizada de acordo com a Resolução nº 1.000/2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária e com as recomendações da Associação Americana de Medicina Veterinária, precedida por anestesia geral prévia com quetamina (150 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg), via intraperitoneal. Após a observação da ausência do reflexo corneal, o processo foi complementado com cloreto de potássio 1mmol/kg, via intravenosa, sendo este método considerado eficaz no intuito de diminuir a dor e o sofrimento. Todos os protocolos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética em Utilização de Animais – CEUA/UFPB sob o registro nº 0611/12 (ANEXO 1).

Em seguida, o estômago foi aberto ao longo da grande curvatura, as lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa OLYMPUS SZ2 – LGB e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU) (Figura 9), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI; THIEMER, 1978):

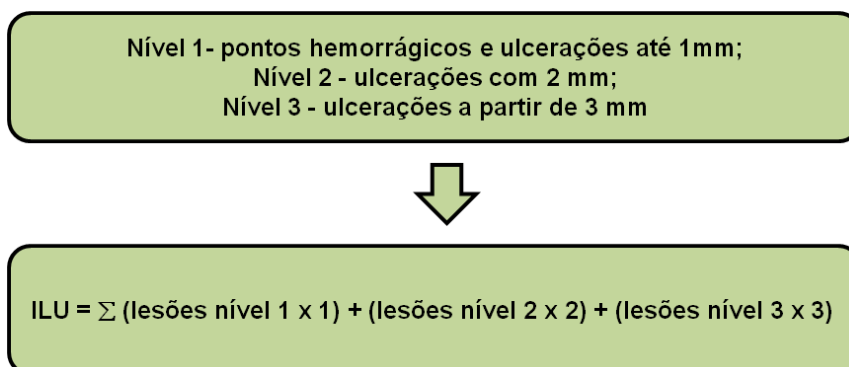


Figura 9 - Lupa OLYMPUS SZ2 – LGB



3.3.1 Modelos de Indução Aguda de Úlcera Gástrica

3.3.1.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/etanol (Triagem farmacológica) (MIZUI; DOUTEUCHI, 1983, modificado)

Os camundongos (n= 5-6) foram submetidos a um jejum de 24 horas, divididos em grupos, em seguida pré-tratados oralmente com veículo (10 mL/kg) para controle negativo, lansoprazol (30 mg/kg), para o controle positivo, e EEtOH ou FaDCM obtidos das folhas de *Spondias purpurea* nas dose 125, 250 e 500 mg/kg. Após 50 minutos foi administrado 0,2 mL de uma solução do agente lesivo 0,3 M HCl/Etanol 60%, via oral, e uma hora após, os camundongos foram previamente anestesiados, foi coletada uma amostra de sangue para a determinação da concentração da Proteína C reativa ultrasensível (PCRus), a eutanásia foi complementada com a administração de cloreto de potássio 1mmol/kg.

Os estômagos foram retirados e abertos ao longo da grande curvatura, sendo uma parte do grupo destinada à determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978) e a outra parte foi selecionada para a realização dos cortes histológicos.

Com relação à análise histológica, as amostras foram fixadas em solução Bouin por 8 horas. Em seguida, foram desidratadas em série crescente de etanol,

tratadas com xilol e embebidas em parafina. Secções de 4 µm foram obtidas, usando o micrótomo (Leica RM 2125RT) e coradas com hematoxilina e eosina. Este procedimento foi realizado no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste-CETENE/INT-Nordeste, pela Professora Dra. Karina Saraiva.

3.3.1.2 Úlcera Gástrica Induzidas por Etanol (MORIMOTO et al.,1991, com modificações)

Os ratos (n=5-6) foram submetidos a um jejum inicial de 24 horas, posteriormente, pré-tratados por via oral com lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo), veículo solução salina 0,9 % (controle negativo) e EEtOH-Sp ou FaDCM-Sp nas doses 125, 250 e 500 mg/kg. Após 1 hora, foi administrado 4 mL/kg de etanol absoluto (agente lesivo) aos animais por via oral. Decorrida 1 hora dessa administração, os ratos receberam anestesia geral prévia e foi coletada uma amostra de sangue para a determinação da concentração de PCRus.

Os animais foram eutanasiados com a administração de cloreto de potássio 1mmol/kg via intraperitoneal, os estômagos foram retirados para que fosse coletado o conteúdo com a finalidade de se determinar o volume e o pH do suco gástrico, e em seguida, abertos ao longo da grande curvatura e o ILU foi determinado (SZELENYI; THIEMER, 1978). O pH foi verificado com o auxílio de um pHmetro digital PG 2000 (GEHAKA, Brasil) após centrifugação do conteúdo estomacal a 3000 rpm por 10 minutos e expresso em unidades.

3.3.1.3 Úlcera Gástrica Induzida por Estresse (imobilização e frio) (LEVINE et al., 1971, modificado)

Os camundongos (n=5-6) submetidos a um jejum de 24 horas, foram pré-tratados, por via oral, com cimetidina 100 mg/kg (controle positivo), veículo solução salina 0.9% (controle negativo) e EEtOH ou FaDCM obtidos das folhas de *S. purpurea* nas doses 125, 250 e 500 mg/kg. Trinta minutos após a administração dos

diferentes tratamentos, os animais foram imobilizados pelas patas dianteiras e traseiras, colocados em contêntores de policloreto de vinila (PVC) (9 cm de comprimento x 3,5 cm de diâmetro) e submetidos a uma temperatura de 4° C (\pm 1°C) por um período de 3 horas para indução das úlceras gástricas. Decorrido esse tempo, os animais foram eutanasiados por anestesia e foi coletada uma amostra de sangue para a determinação da concentração de PCR. Os estômagos foram retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.3.1.4 Úlceras Gástricas Induzidas por Anti-inflamatório Não-esteroidal (PUSCAS et al., 1997, modificado)

Para realização deste protocolo experimental, camundongos (n=5-6) foram submetidos a um jejum de 24 horas, posteriormente pré-tratados, por via oral, com cimetidina 100 mg/kg (controle positivo), veículo solução salina 0,9 % (controle negativo) e EEtOH ou FaDCM obtidos das folhas de *S. purpurea* nas doses 125, 250 e 500 mg/kg. Decorridos 30 minutos do pré-tratamento, os animais receberam piroxicam 30 mg/kg (agente lesivo) por via subcutânea (s.c.) e 4 horas após essa administração, os camundongos foram eutanasiados por anestesia, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.4 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de *Spondias purpurea*

3.4.1 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção (SIKIRIC et al., 1997)

Após jejum de 24 horas, ratos Wistar machos (n=5-6) foram divididos em 8 grupos conforme o pré-tratamento: 4 grupos receberam veículo e 4 grupos

receberam N-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) 70 mg/kg (i.p.), um agente bloqueador da enzima sintase de óxido. Após 30 minutos da administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com o veículo solução salina 0.9% (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo), e com a melhor dose do EEtOH ou da FaDCM das folhas de *S. purpurea*. Decorridos 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos mais uma hora os animais foram eutanasiados como já citado anteriormente, os estômagos retirados, abertos e fotografados para determinação da Área de Lesão Ulcerativa (ALU), determinada pela análise no programa AVSoft Bioview[®].

3.4.2 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Gastroproteção (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Ratos Wistar machos (n=5-7) foram colocados em jejum por 24 horas e distribuídos em oito grupos. Conforme o pré-tratamento, 4 grupos receberam o veículo solução salina 0,9% e os outros 4 grupos receberam N-etilmaleimida (NEM) 10 mg/kg, via intraperitoneal. NEM é um bloqueador dos grupamentos sulfidrilas. Após 30 minutos da administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com o veículo solução salina 0.9% (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo) e a melhor dose do EEtOH-Sp e da FaDCM-Sp. Após 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos mais 60 minutos, os animais foram eutanasiados com anestesia geral prévia, os estômagos retirados, abertos e fotografados para determinação da Área de Lesão Ulcerativa (ALU), determinada pela análise no programa AVSoft Bioview[®].

3.5 Análise Estatística

Para os resultados obtidos a partir dos ensaios de toxicidade aguda foi realizado o teste “t” de Student, enquanto que para os resultados farmacológicos obtidos em ensaios de indução de úlcera gástrica utilizou-se a análise de variância

de uma via (ANOVA), seguido por pós-teste (Dunnett e/ou Tukey). Todos os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (d.p.) e o nível de significância mínimo foi de $p < 0,05$. Todos os resultados foram analisados com o software, *GraphPad Prisma 5.0*, San Diego, CA, EUA.

Resultados



4 RESULTADOS

4.1 Obtenção das Amostras Vegetais

Foram coletadas 3500 g de folhas frescas de *Spondias purpurea* e em seguida, submetidas aos processos de secagem em estufa de circulação de ar com temperatura controlada a 40 ± 1 °C. O material seco foi triturado em moinho de facas, com granulometria em torno de 10 Mesh. O pó obtido (peso = 690 g) foi submetido à extração por percolação com etanol a 96%. A solução exaustiva produzida foi concentrada em rotaevaporador, obtendo-se um extrato etanólico bruto (352 g) (Figura 9).

4.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de *Spondias purpurea* L.

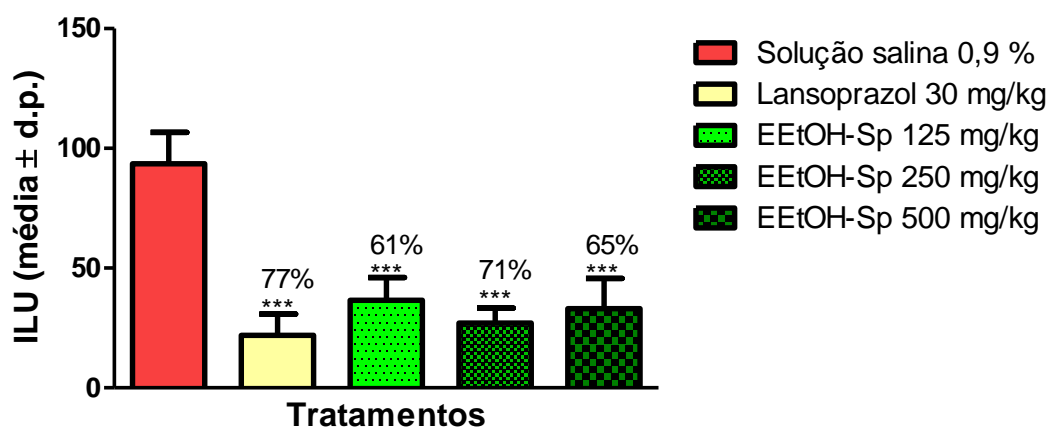
4.2.1 Modelos de Indução Aguda de Úlcera Gástrica

4.2.1.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/Etanol (MIZUI; DOUTEUCHI, 1983, com modificações)

Para avaliar se o EEtOH-Sp e a FaDCM-Sp apresentariam efeito gastroprotetor foi realizada inicialmente uma triagem farmacológica através do modelo de indução aguda de úlceras em camundongos, utilizando como agente lesivo o etanol acidificado.

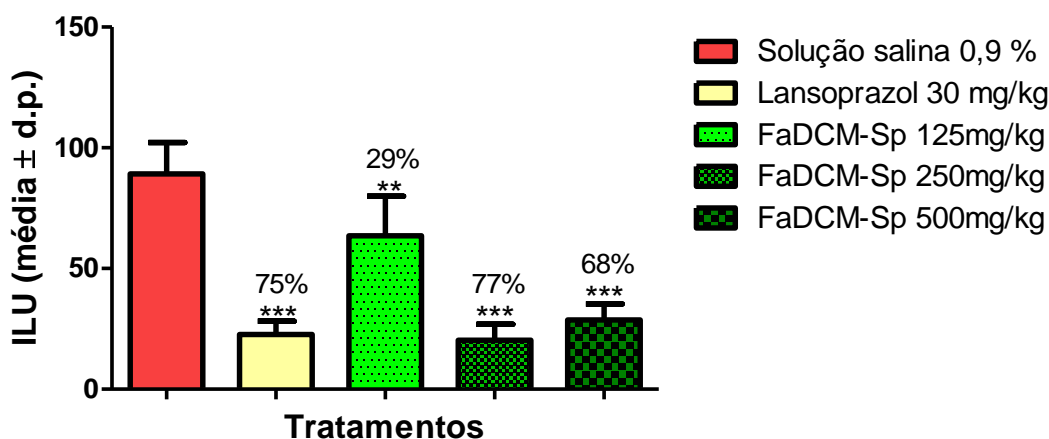
Os resultados demonstraram que o EEtOH e o lansoprazol foram capazes de reduzir de forma significativa o índice de lesão ulcerativa (ILU), quando comparado ao grupo controle negativo (solução salina 0.9 %) (Figura 10).

Figura 10 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos.



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,25)} = 41.09$, seguido do teste de Dunnett ($n=5-6$), comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), *** $p < 0,001$.

Figura 11 - Efeito da administração oral da FaDCM-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos.



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,27)} = 43.41$ ($n=5-6$) para a FaDCM; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Resultado semelhante pôde ser observado em relação à FaDCM-Sp e o lansoprazol, via oral, em que os danos na mucosa gástrica foram significativamente reduzidos em comparação ao controle negativo (Figura 11). Os valores de PCRus nas amostras de sangue coletadas nos animais tratados com o EEtOH-SP e

FaDCM-Sp foram analisados. Foi observada uma diminuição significativa nos valores de PCRus nas concentrações de 125, 250 e 500 mg/kg e lansoprazol em relação ao grupo controle negativo para o extrato e para a fase, conforme a tabela 1.

Tabela 1 - Efeito da administração oral do EEtOH, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos

Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(a) Solução salina 0,9 %	-	2,04 ± 0,30
Lansoprazol	30	0,52 ± 0,13***
EEtOH-Sp	125	1,29 ± 0,08***
	250	0,98 ± 0,05***
	500	0,34 ± 0,09***
Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(b) Solução salina 0,9 %	-	2,52 ± 0,15
Lansoprazol	30	0,46 ± 0,15***
FaDCM-Sp	125	0,76 ± 0,11***
	250	0,64 ± 0,12***
	500	1,20 ± 0,16***

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,24)} = 179,8$ (n=5) para o EEtOH e $F_{(4,24)} = 92,63$ (n=5) para a FaDCM; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ***p<0,001.

Desta maneira, foi possível confirmar através de estudos histopatológicos por microscopia óptica que o pré-tratamento com as amostras de *S. purpurea* impede que o etanol acidificado promova lesões nas camadas superficiais da mucosa gástrica. As melhores doses do EEtOH-Sp e da FaDCM-Sp - 250 mg/kg e o lansoprazol (30mg/kg) foram eficazes no tratamento da úlcera gástrica, prevenindo o dano à mucosa e preservando o epitélio, quando comparados ao controle negativo (Figuras 12 e 13).

De acordo com os dados apresentados o extrato etanólico bruto e a fase diclorometano de *S. purpurea*, nas doses avaliadas, apresentaram atividade gastroprotetora.

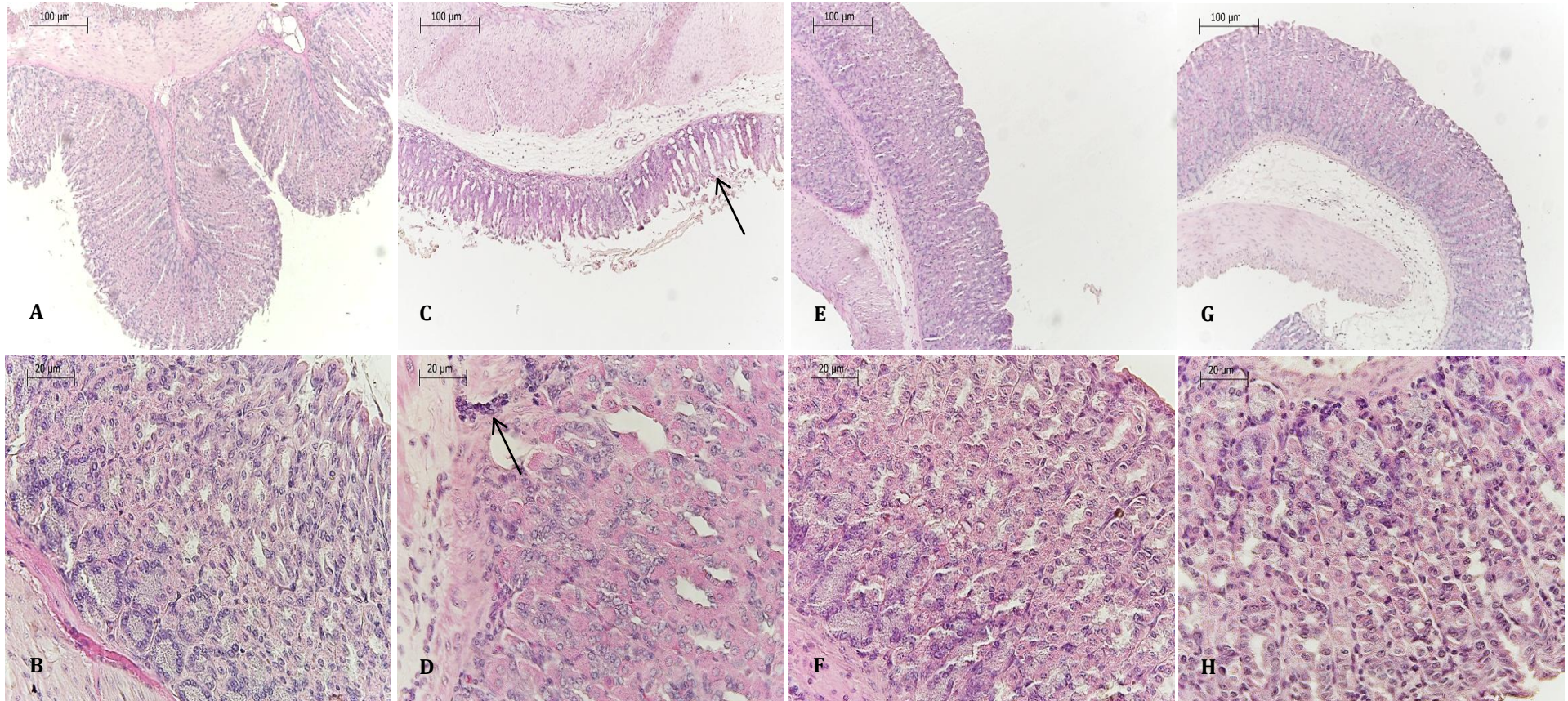


Figura 12 – Efeito da administração oral do EEtOH-Sp (250 mg/kg) e do lansoprazol na avaliação histológica do modelo de úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos. Cortes na coloração de hematoxilina e eosina (HE) (A-H). Epitélio da mucosa gástrica de amostras do grupo Sham (A-B). Aparência microscópica das lesões induzidas por HCl / etanol na mucosa gástrica pré-tratados com solução salina (C-D) (setas). Cortes da mucosa gástrica no grupo tratado com lansoprazol (E-F). Aparência microscópica da mucosa gástrica pré-tratada com EEtOH-Sp 250 mg/ kg (G-H). Escala= 100 µm (micrografia superior) e 20 µm (micrografia inferior)

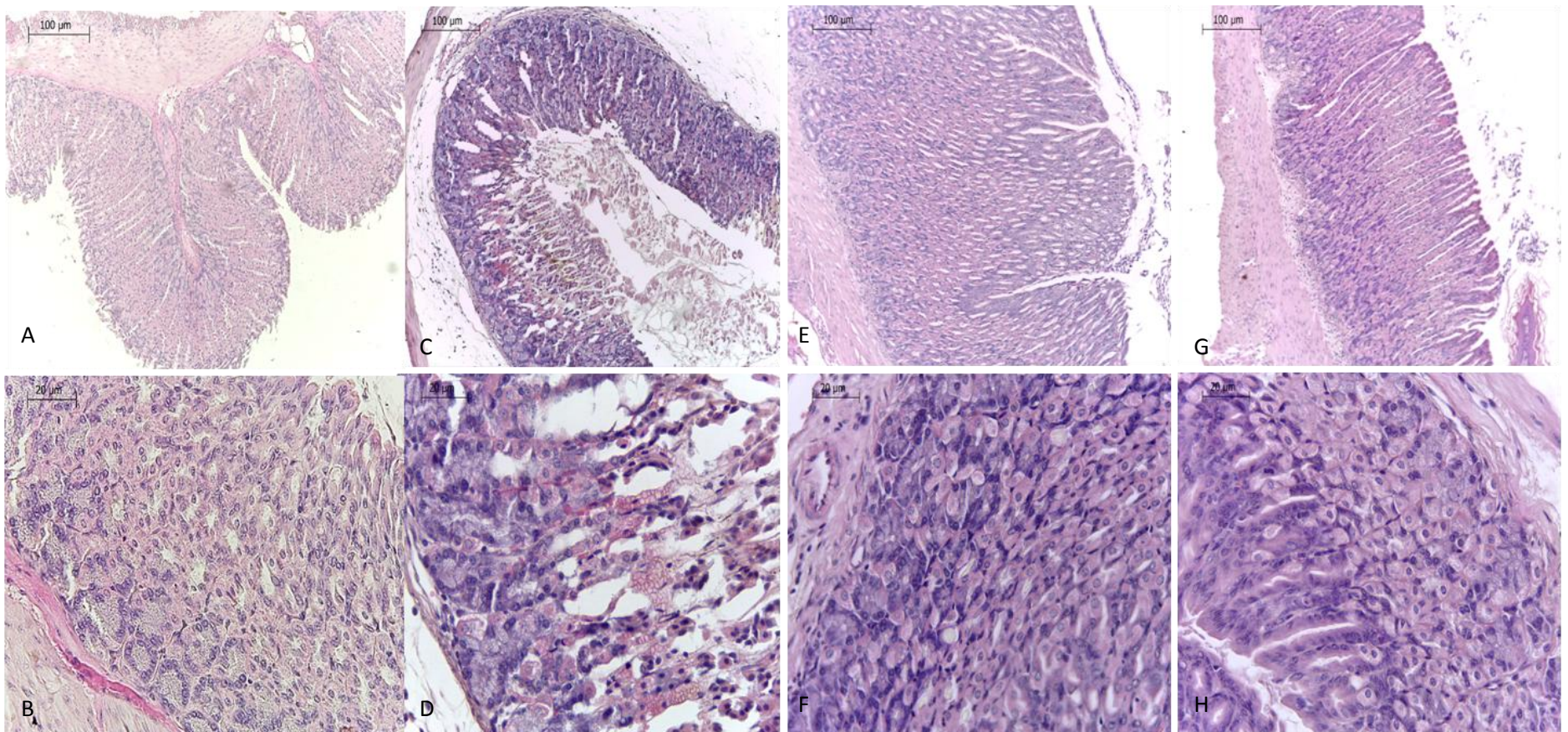
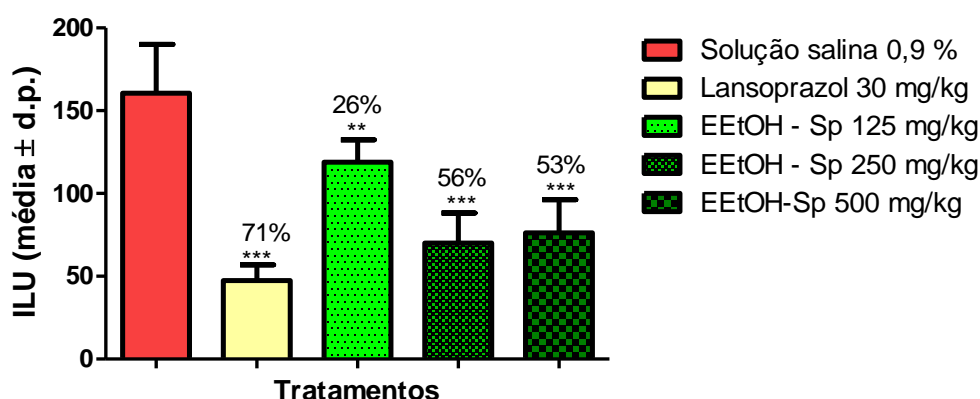


Figura 13 – Efeito da administração oral da FaDCM-Sp (250 mg/kg) e do lansoprazol na avaliação histológica do modelo de úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos. Cortes na coloração de hematoxilina e eosina (HE) (A-E). Epitélio da mucosa gástrica de amostras do grupo Sham (A-B). Aparência microscópica das lesões induzidas por HCl/etanol na mucosa gástrica pré-tratada com solução salina 0.9% (C-D). Corte da mucosa gástrica no grupo tratado com lansoprazol (E-F). Aparência microscópica da mucosa gástrica pré-tratada com FaDCM-Sp (250 mg/kg) (G-H). Escala= 100 µm (micrografia superior) e 20 µm (micrografia inferior)

4.2.1.2 Úlcera Gástrica Induzida por Etanol (MORIMOTO et al.,1991, com modificações)

No modelo de indução de úlceras gástricas por etanol em ratos, o EEtOH-Sp e o lansoprazol via oral diminuíram o ILU de forma significativa, quando comparado com o grupo tratado com solução salina 0,9 % (controle negativo) (Figuras 14 e 15).

Figura 14 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,26)} = 28,54$ ($n=5-6$); seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Resultado semelhante foi observado na FaDCM-Sp (125, 250 e 500 mg/kg) e lansoprazol (30 mg/kg), via oral, em que os danos na mucosa gástrica foram significativamente reduzidos em comparação ao grupo controle (Figura 16 e 17).

Neste experimento, também foram analisados os valores da PCRus nas amostras de sangue coletadas nos animais tratados com o EEtOH-Sp e a FaDCM-Sp. Foi observada uma significativa diminuição nos valores de PCRus nas concentrações testadas e lansoprazol em relação ao grupo controle negativo para o EEtOH e FaDCM (Tabela 2).

Figura 15 - Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução salina 0,9 % (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), EEtOH-Sp (125 mg/kg) (C), EEtOH-Sp (250 mg/kg) (D), EEtOH-Sp (500 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)

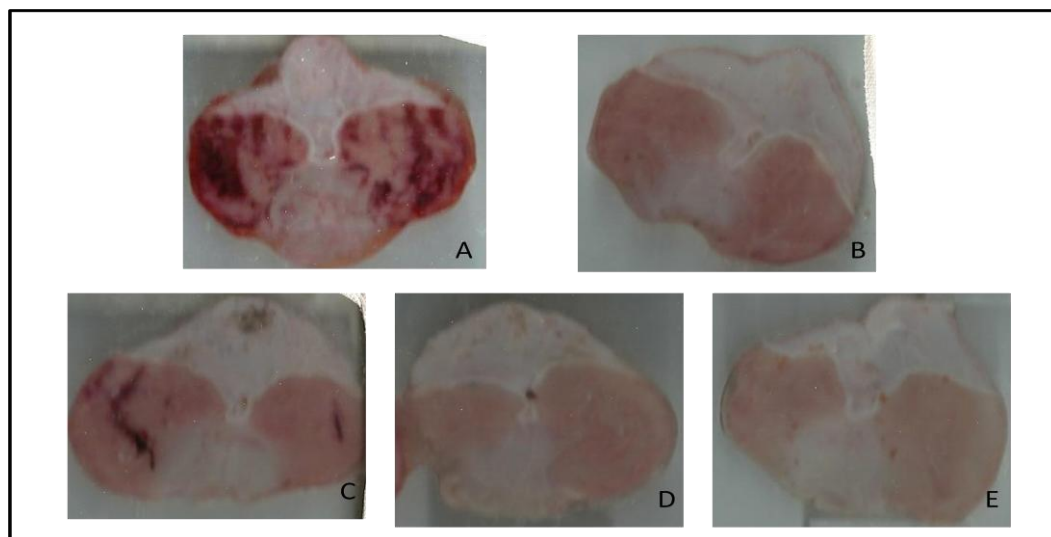
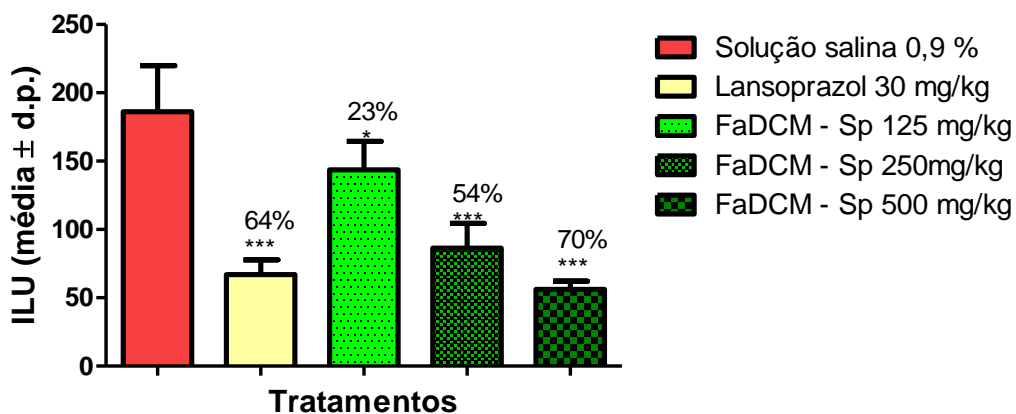


Figura 16 - Efeito da administração oral da FaDCM-Sp e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,25)} = 37,90$ ($n=5-6$); seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

Figura 17 - Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução salina 0,9 % (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), FaDCM-Sp (125 mg/kg) (C), FaDCM-Sp (250 mg/kg) (D), FaDCM-Sp (500 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)

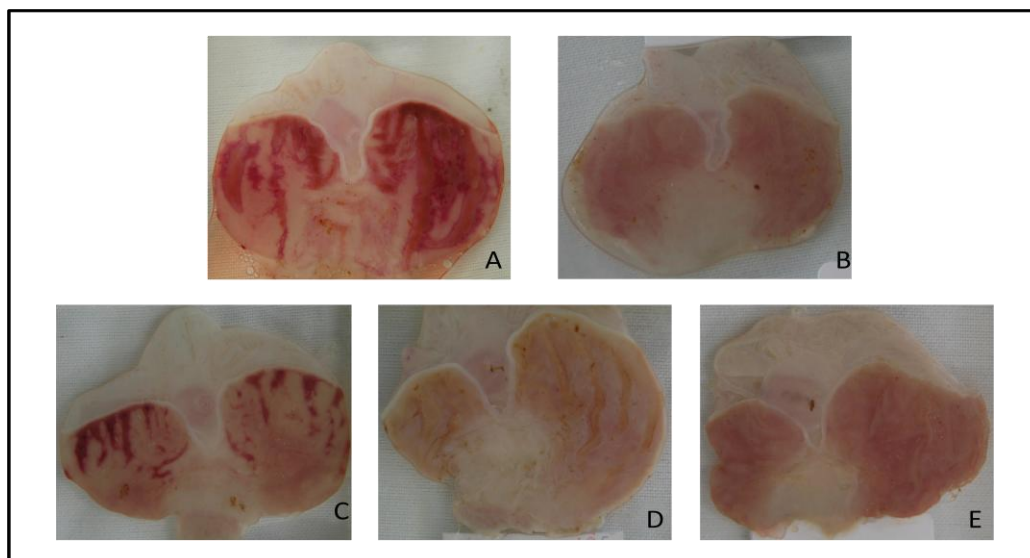


Tabela 2 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por etanol em ratos

Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(a) Solução salina 0,9 %	-	1,78 ± 0,13
Lansoprazol	30	0,60 ± 0,07***
EEtOH-Sp	125	1,04 ± 0,11***
	250	0,62 ± 0,13***
	500	0,46 ± 0,18***
Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(b) Solução salina 0,9 %	-	1,85 ± 0,23
Lansoprazol	30	0,23 ± 0,04***
FaDCM-Sp	125	0,28 ± 0,08***
	250	0,89 ± 0,19***
	500	1,15 ± 0,23***

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,24)} = 85$ (n=5) para o EEtOH e $F_{(4,24)} = 74,50$ (n=5) para a FaDCM; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), ***p<0,001.

Também foram avaliados parâmetros do conteúdo estomacal dos ratos (pH e volume do suco gástrico). EEtOH-Sp e FaDCM-Sp não alteraram nenhum dos parâmetros avaliados quando comparado com o grupo controle negativo (Tabela 3). Porém, no grupo controle positivo (animais que receberam o lansoprazol) foi observado aumento do pH e uma diminuição do volume gástrico como esperado, sugerindo que o mecanismo de proteção da amostras vegetais não está diretamente relacionado à atividade antissecretória.

Esses resultados sugerem que o extrato etanólico e a fase diclorometano de *S. purpurea* apresentaram atividade gastroprotetora frente às lesões gástricas agudas. A partir dos resultados obtidos neste modelo de úlceras gástricas induzidas por etanol absoluto, foi realizada uma comparação entre as diferentes doses dos grupos tratados com o EEtOH e a FaDCM obtidos de *Spondias purpurea*.

Tabela 3 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre o pH e o volume gástrico em úlceras induzidas por etanol em ratos

Tratamento	Dose (mg/kg)	pH (unidades)	Volume gástrico (g)
^(a) Solução salina 0,9 %	-	4,32 ± 1,93	3,61 ± 0,82
Lansoprazol	30	8,17 ± 0,51***	2,10 ± 0,39**
EEtOH-Sp	125	5,47 ± 1,33	2,52 ± 0,20
	250	4,05 ± 1,19	3,86 ± 0,99
	500	4,50 ± 1,34	2,55 ± 0,79
Tratamento	Dose (mg/kg)	pH (unidades)	Volume gástrico (g)
^(b) Solução salina 0,9 %	-	4,58 ± 0,43	1,86 0,37
Lansoprazol	30	7,29 ± 0,66***	0,38 0,10***
FaDCM-Sp	125	5,66 ± 0,51	2,24 0,34
	250	4,42 ± 0,77	1,42 0,48
	500	4,42 ± 0,93	2,40 0,50

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4, 26)} = 7,770$ (EEtOH) / $F_{(4, 24)} = 16,49$ (FaDCM) para pH; $F_{(4, 28)} = 6,434$ (EEtOH) / $F_{(4, 25)} = 27$ (FaDCM) para volume gástrico, seguido do teste de Dunnett ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ (n=5-7).

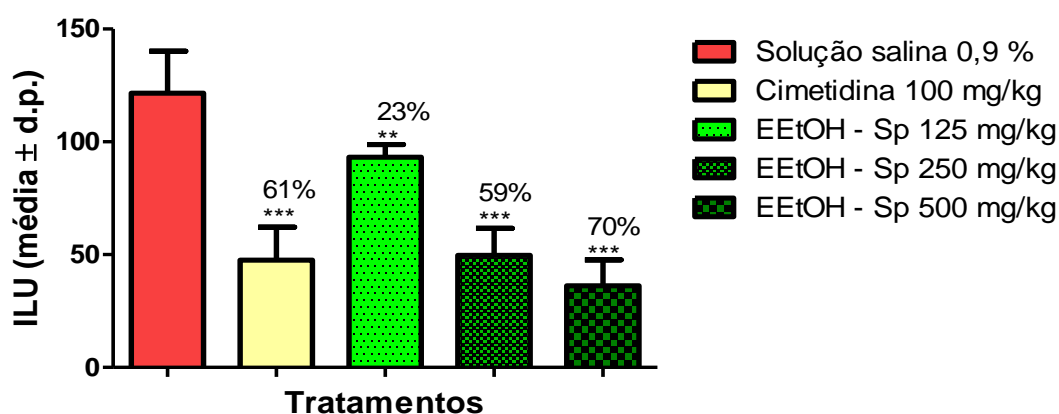
4.2.1.3 Úlcera Gástrica Induzida por Estresse (LEVINE et al., 1971, modificado)

Foi possível observar através do modelo de indução aguda de úlcera gástrica tendo como agente lesivo o estresse induzido por imobilização e frio uma redução significativa no índice de lesões ulcerativas.

EEtOH-Sp, FaDCM-Sp e cimetidina (100 mg/kg), via oral, demonstraram diminuição do ILU, quando comparados com o grupo controle negativo (Figuras 18 e 19). Os resultados sugerem que as amostras apresentam atividade gastroprotetora, preservando a mucosa gástrica dos camundongos dos prejuízos ocasionados pelo estresse.

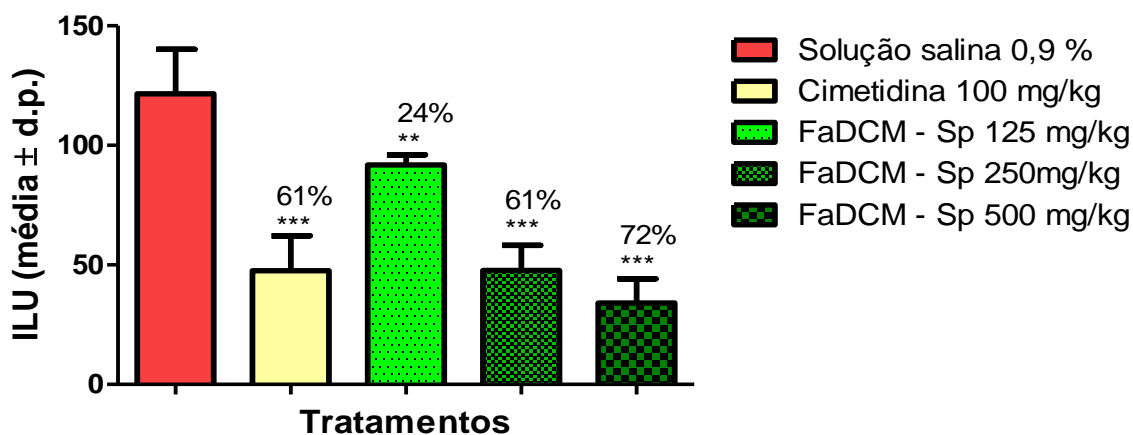
Foram analisados, ainda, os valores da PCRus nas amostras de sangue dos camundongos tratados com o EEtOH-Sp e a FaDCM-Sp e os resultados revelaram uma redução significativa dos valores de PCRs nas concentrações testadas, de acordo com a Tabela 4.

Figura 18 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por estresse em camundongos



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,28)} = 42,82$ ($n=5-6$); seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo $**p < 0,01$, $***p < 0,001$.

Figura 19 - Efeito da administração oral do FaDCM-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por estresse em camundongos



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,28)} = 48,66$ ($n=5-6$); seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo $**p<0,01$, $***p<0,001$.

Tabela 4 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e do lansoprazol sobre a concentração de Proteína C Reativa ultrasensível (PCRus) em úlceras induzidas por estresse em camundongos

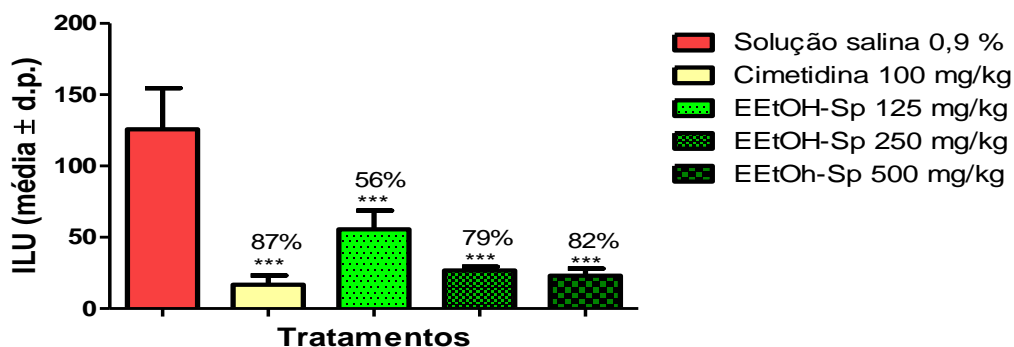
Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(a) Solução salina 0,9 %	-	114,20 \pm 8,62
Cimetidina	100	3,67 \pm 0,11 ^{***}
EEtOH-Sp	125	2,35 \pm 0,28 ^{***}
	250	1,30 \pm 0,15 ^{***}
	500	0,13 \pm 0,01 ^{***}
Tratamento	Dose (mg/kg)	[PCRus] (mg/L)
^(b) Solução salina 0,9 %	-	114,20 \pm 8,62
Cimetidina	100	3,67 \pm 0,11 ^{***}
FaDCM-Sp	125	2,18 \pm 0,13 ^{***}
	250	2,04 \pm 0,47 ^{***}
	500	0,75 \pm 0,11 ^{***}

Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,29)} = 1018$ ($n=6$) para o EEtOH e $F_{(4,26)} = 864$ ($n=5-6$) para a FaDCM; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9 %), $***p<0,001$.

4.2.1.4 Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório não-esteroidal (PUSCAS et al., 1997, modificado)

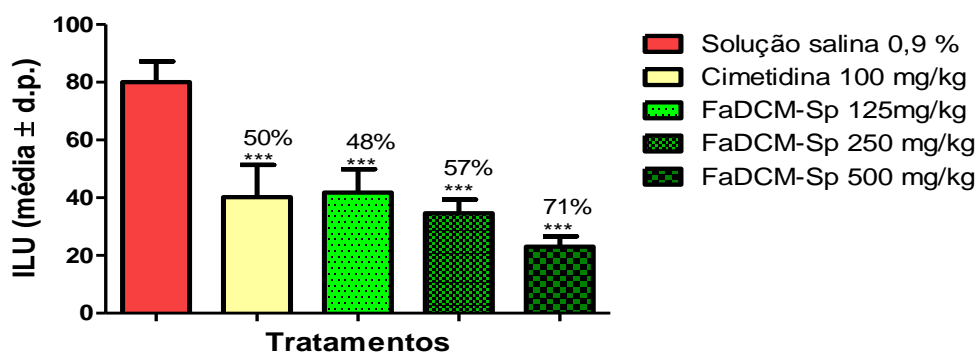
Neste modelo foi possível observar que o EEtOH e a FaDCM de *Spondias purpurea* em doses crescentes e cimetidina, droga utilizada como controle positivo, foram capazes de inibir o ILU de forma significativa (Figuras 20 e 21). As amostras vegetais de *S. purpurea* demonstraram gastroproteção frente às úlceras induzidas por piroxicam em camundongos.

Figura 20 - Efeito da administração oral do EEtOH-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por AINE em camundongos



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,25)} = 50,33$ ($n=5-6$); seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo, $***p < 0,001$

Figura 21 - Efeito da administração oral do FaDCM-Sp e cimetidina em úlceras induzidas por AINE em camundongos.



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(4,24)} = 41,44$ ($n=5$) para a FaDCM; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo $***p < 0,001$.

4.2.2 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de *Spondias purpurea*

Para esta análise, foi utilizado o pós-teste de Tukey que demonstrou como dose mais efetiva para as amostras testadas, a dose de 250 mg/kg, sendo esta a dose selecionada para os experimentos de mecanismos de ação.

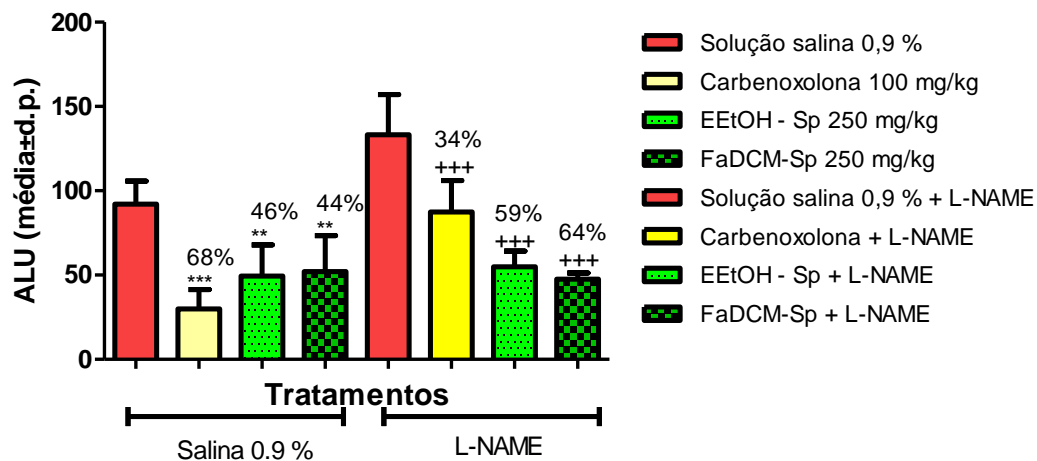
4.2.2.1 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção (método proposto por SIKIRIC et al., 1997)

Neste modelo, a gastroproteção do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp (250 mg/kg) e da carbenoxolona (100 mg/kg) foi avaliada após o tratamento prévio dos animais pela via intraperitoneal (i.p.) com solução salina 0.9% ou L-NAME (N^ω-nitro-L-arginina-metil-éster), na dose de 70 mg/kg, o inibidor da enzima óxido nítrico sintase (NOS), utilizando como agente lesivo o etanol.

A partir da análise da figura 22 é possível inferir que nos grupos pré-tratados tanto com solução salina 0.9% quanto com L-NAME e posteriormente tratados (por via oral) com as amostras vegetais e a carbenoxolona ocorreu inibição significativa do ALU em relação ao controle negativo.

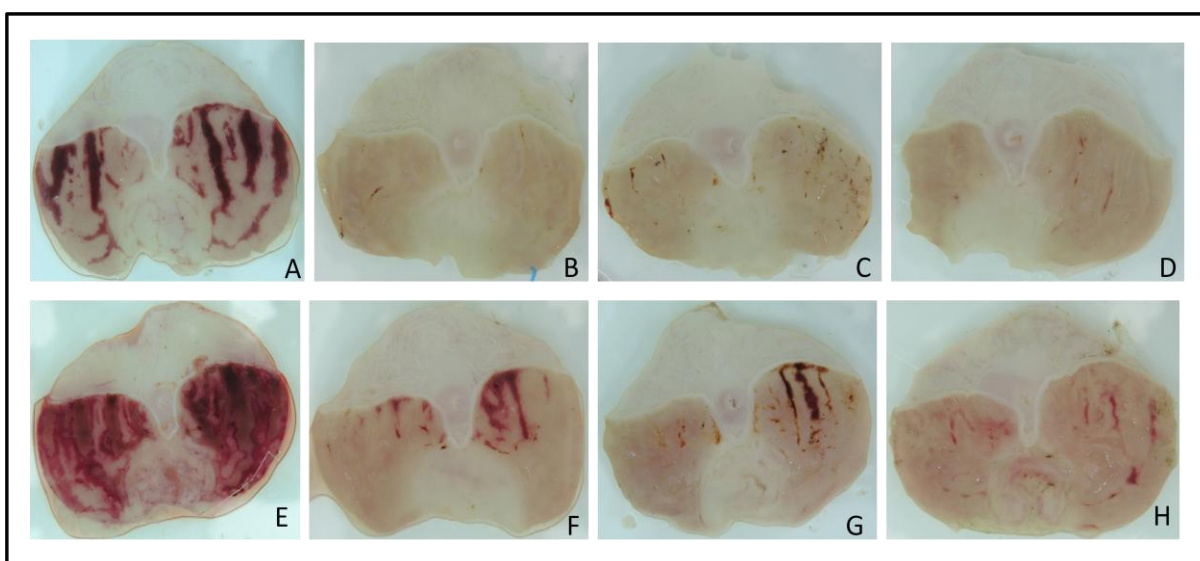
Porém, não foi observada diferença significativa entre os grupos pré-tratados com solução salina 0,9 % i.p. com os grupos pré-tratados com L-NAME i.p. (Figura 23) e desta maneira, os resultados sugerem que o óxido nítrico não está envolvido no efeito gastroprotetor promovido pelas amostras vegetais provenientes de *Spondias purpurea*.

Figura 22 - Efeito gastroprotetor do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e da carbenoxolona após pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos



Os dados estão expressos como média \pm d.p. (n = 5-6). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, **p<0,01; ***p<0,001 comparados ao controle negativo – solução salina 0.9 %; +++p<0,001 comparando-se ao grupo salina + L-NAME. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (solução salina 0.9 %).

Figura 23 - Estômagos de ratos ulcerados e tratados com salina/salina (A) salina/carbenoxolona (B), salina/EEtOH (C), salina/FaDCM (D), L-NAME/salina (E), L-NAME/carbenoxolona (F), L-NAME/EEtOH (G), L-NAME/FaDCM (H) para o protocolo de avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção



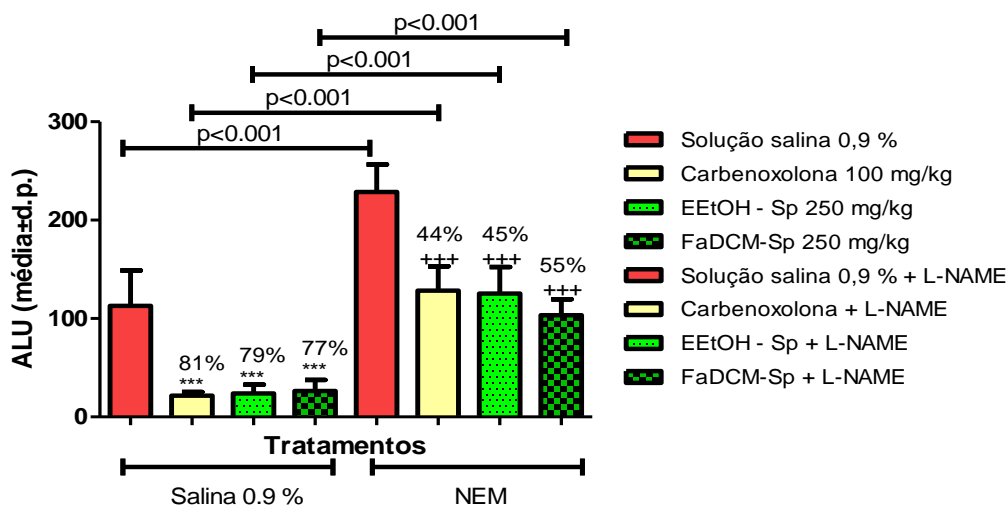
4.2.2.2 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Gastroproteção (método de MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

No experimento de investigação da participação dos compostos sulfidrílicos na atividade gastroprotetora do EEtOH e FaDCM de *S. purpurea* em ratos, os resultados revelaram que nos grupos previamente tratados com solução salina 0,9 % (i.p.) e em seguida tratados com EEtOH ou FAcOEt (250 mg/kg, v.o.) ou carbenoxolona (100 mg/kg, v.o.), ocorreu uma redução significativa do ALU para $23,97 \pm 8,82$ (79 %), $26,36 \pm 11,32$ (77 %) e $21,65 \pm 3,67$ (81 %), respectivamente, quando comparado ao seu controle negativo (salina 0,9 %, v.o.) $112,80 \pm 36,02$.

Nos grupos pré-tratados com o NEM (N-etilmaleimida), bloqueador dos grupamentos SHs, e que posteriormente receberam o mesmo tratamento do grupo anterior, o resultado foi semelhante e foi observada a redução do ALU para $125,30 \pm 27,15$ (44 %), $103,40 \pm 16,19$ (45 %) e $128,5 \pm 24,54$ (55 %), respectivamente, quando comparado ao seu controle negativo (salina 0,9 %, v.o.) $228,6 \pm 28,12$ (Figura 24 e 25).

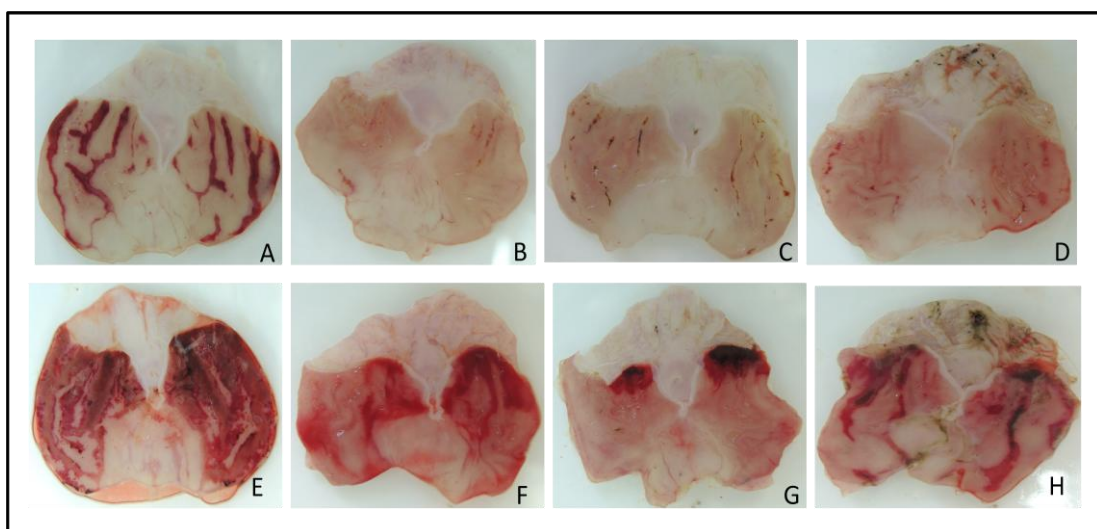
Entretanto, foi observada uma exacerbação do ALU para os grupos de animais pré-tratados com NEM (i.p.), quando comparados aos grupos pré-tratados com solução salina 0,9 % (i.p.). Assim, os resultados indicam que os grupamentos sulfidrílicos estão envolvidos no mecanismo de ação gastroprotetor de *Spondias purpurea*.

Figura 24 - Efeito gastroprotetor do EEtOH-Sp, da FaDCM-Sp e da carbenoxolona após pré-tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidríla, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos



Os dados estão expressos como média ± d.p. (n = 5-7). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, ***p<0,001 comparados ao controle negativo – solução salina 0.9 %; +++ p<0,001 comparando-se ao grupo salina + NEM. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (solução salina 0.9 %).

Figura 25 - Estômagos de ratos ulcerados e tratados com salina/salina (A) salina/carbenoxolona (B), salina/EEtOH (C), salina/FaDCM (D), NEM/salina (E), NEM/carbenoxolona (F), NEM/EEtOH (G), NEM/FaDCM (H) para o protocolo de avaliação da participação dos grupamentos sulfidríla (SH) na gastroproteção



Discussão



5 DISCUSSÃO

Os produtos naturais têm sido as principais fontes de diversidade química para a descoberta de novas alternativas terapêuticas. Historicamente, as empresas farmacêuticas têm utilizado extratos vegetais para produzir formulações terapêuticas (FIRN; JONES, 2003).

Já as plantas medicinais são responsáveis por cerca de 40% dos medicamentos desenvolvidos na atualidade e constituem uma alternativa menos tóxica, mais eficaz e de baixo custo, sendo, portanto, consideradas alvos de estudos e fonte de compostos bioativos para o tratamento de inúmeras doenças (VOHRA; GUPTA, 2011).

Segundo Karak e Bhagat (2010), o interesse na composição química das plantas medicinais está em contínuo desenvolvimento. As indústrias farmacêuticas estão utilizando formulações à base de plantas no tratamento de várias doenças e distúrbios em todo o mundo, enquanto a medicina popular trata os pacientes administrando várias ervas medicamentos com base no seu conhecimento e experiência anterior. No entanto, preparações incorretas, dosagem e efeitos colaterais nocivos representam um risco potencial. Desta forma, se faz necessário pesquisar sobre a segurança e eficácia dos medicamentos tradicionais.

Amaral e colaboradores (2007) afirmam que a toxicidade de plantas medicinais constitui hoje um problema sério de saúde pública, sendo um motivo de preocupação crescente nos meios científicos que envolvem estudos fitoterápicos, pois tem sido comum a ocorrência de adulterações e toxidez dos mesmos.

Assim, a investigação do potencial tóxico de plantas medicinais pode elucidar importantes aspectos farmacológicos de seus princípios naturais, permitindo uma utilização segura, respeitando seus possíveis riscos toxicológicos.

Foram realizados testes de toxicidade aguda que provocam uma resposta rápida num curto período de tempo (por convenção de poucas horas ou poucos dias), levando a uma elevada mortalidade em sua maioria e diferente da toxicidade crônica, onde os efeitos se manifestam num longo período de tempo de semanas a meses (RUÍZ, 2005).

O primeiro ensaio realizado foi o de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais. Os testes de toxicidade animal, como o bioensaio com *Artemia salina*, são válidos, pois os efeitos produzidos por um composto nos animais de laboratório são aplicáveis ao homem.

Com base na dose por unidade de superfície corporal, os efeitos tóxicos no homem estão consideravelmente nos mesmos limites que os observados nos animais de laboratório, sendo possível descobrir possíveis riscos nos humanos (AMARAL et al., 2007).

Segundo Porto e colaboradores (2013), o EEtOH e a FaDCM de *S. purpurea* apresentaram uma baixa toxicidade e a presença de substâncias potencialmente ativas, corroborando com os estudos de Meyer et al. (1982) que estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média (CL₅₀) de substâncias bioativas e extratos de plantas em meio salino com náuplios de *A. salina*.

Assim, valores abaixo de 500 µg/mL⁻¹ sugerem que o composto é tóxico, valores de CL₅₀ que variam entre 500 e 1000 de µg/mL⁻¹ denota-se moderada toxicidade e quando são encontrados valores acima de 1000 µg/mL⁻¹, estes, são considerados atóxicos.

Com base nesses resultados favoráveis e nas proposições de Parra et al. (2001), que sugerem a correlação com testes de toxicidade aguda oral em animais, deu-se continuidade aos estudos toxicológicos pré-clínicos *in vivo*.

O ensaio de toxicidade aguda é um dos principais testes com o qual é possível observar sinais de intoxicação. A Resolução N°14 (2010) dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e orienta que quando da não existência de estudos que comprovem a segurança pré-clínica, os mesmos deverão ser realizados seguindo os ensaios pré-clínicos de segurança e eficácia.

Estes ensaios foram preconizados pelo "Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos", publicado pela ANVISA na Resolução N° 90, de 16 de março de 2004.

Para Ruíz et al. (2005), as intoxicações ocorrem quase sempre em razão de quantidades ou de concentrações excessivas de determinadas plantas e extratos vegetais, do preparo e do uso inadequados e, principalmente, em virtude do uso de plantas com efeitos tóxicos. São comuns os casos em que se empregam somente uma ou mais partes da planta com fim medicinal, sendo outra parte considerada tóxica, por possuir substâncias com efeito tóxico agudo ou cumulativo no organismo.

Entretanto, o extrato etanólico obtido das folhas de *S. purpurea* administrado na dose de 2000 mg/kg apresentou baixa toxicidade e estes resultados permitiram a continuidade da pesquisa voltada para a atividade farmacológica dessa espécie frente a atividade gastroprotetora, de acordo com Porto *et al.* (2013).

Na avaliação do efeito gastroprotetor e com base na ausência de DL₅₀ para EEtOH-Sp, foi possível estabelecer com segurança as doses de 125, 250 e 500 mg/kg para o extrato e fase diclorometano. Essas doses foram selecionadas com base nos estudos realizados por Souza-Brito (1994) que sugerem que para estudos farmacológicos com extratos e derivados as doses não devam ultrapassar 1000 mg/kg.

Para avaliar o efeito gastroprotetor de *S. purpurea* foram utilizados modelos animais de indução de aguda úlceras por HCl/etanol, etanol absoluto, estresse por imobilização e frio e AINEs, bem como modelos de mecanismos de ação envolvidos na gastroproteção avaliando o papel do óxido nítrico e dos grupamento sulfidrílicos.

A investigação preliminar de uma possível atividade gastroprotetora das folhas de *Spondias purpurea* iniciou com a triagem farmacológica, utilizando como agente lesivo o etanol acidificado. Os resultados obtidos demonstraram que as amostras vegetais, inibiram as lesões gástricas provocadas por HCl/Etanol (Figuras 10 e 11).

Neste modelo, o etanol produz lesões necrotizantes por ação direta e o ácido clorídrico é responsável por potencializar danos graves na mucosa gástrica, reduzindo os fatores defensores, como a produção de muco e a secreção de bicarbonato (ALRASHDI et al., 2012). Entretanto, o EEtOH-Sp e a FaDCM-Sp exibiram a capacidade de proteger a mucosa gástrica contra estes danos agudos.

A fim de corroborar os resultados obtidos no ILU, os cortes histológicos revelaram a capacidade de *S. purpurea* de inibir o etanol acidificado na formação de lesões gástricas. O tratamento prévio com o EEtOH, FaDCM e lansoprazol se

mostrou eficaz no tratamento da úlcera, prevenindo o dano à mucosa e preservando o epitélio, quando comparados ao controle negativo e ao grupo Sham – que não recebeu tratamento algum. Foi observado um rompimento da região superficial das glândulas gástricas, seguido da perda de células epiteliais, bem como intensa formação de edema e infiltração celular (Figuras 12 e 13).

E por fim, realizou-se a determinação da concentração da proteína C reativa ultrasensível. A determinação é feita pelo método imunoturbidimétrico, ultraasensível, capaz de detectar as menores quantidades possíveis de PCR, que não sofre influência da alimentação nem variações circadianas significantes. Portanto, um método simples, fácil de aferir e de baixo custo (COPETTI; LUTZ, 2009).

Pertencente à família das pentraxinas e assim chamadas por serem formadas por cinco subunidades idênticas, a PCR é uma proteína de fase aguda, produzida pelo fígado em resposta às citocinas. Possui uma meia-vida plasmática curta, sendo responsável por ampliar a resposta imune, aumentando a lesão tecidual e participar na ativação do sistema complemento (JANEWAY et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2009).

A PCR permite fornecer informações sobre a ocorrência de danos teciduais e o monitoramento da recuperação da inflamação (CARVALHO et al. 2008b). De acordo com Henry (2006), as concentrações da proteína se elevam marcadamente sempre que houver lesão tecidual e é um indicativo precoce de complicações inflamatórias.

Na presente pesquisa, foi observada uma significativa diminuição dos níveis da PCR, sugerindo que as amostras vegetais de *S. purpurea* foram capazes de impedir que um processo inflamatório se desenvolvesse na mucosa gástrica (Tabela 6).

A partir destes resultados pôde se dar continuidade aos demais modelos de indução de úlceras e investigou-se a atividade gastroprotetora do EEtOH e FaDCM de *S. purpurea* frente ao modelo de etanol absoluto em ratos. A indução aguda de úlceras utilizando como agente lesivo o etanol é um modelo comum e o mais

empregado nos estudos relacionados à patogênese e terapêutica das doenças ulcerosas (OYAGI et al., 2010).

EEtOH-Sp e FaDCM-Sp (125, 250 e 500 mg/kg) inibiram significativamente o índice de lesão ulcerativa quando comparado ao controle negativo (Figuras 14 e 15), sugerindo um efeito gastroprotetor frente aos efeitos nocivos ocasionados pelo etanol, que atua de maneira multifatorial e ao ser metabolizado pelo corpo, libera radicais livres que danificam extensivamente a mucosa gástrica.

O etanol, de acordo com Oyagi e colaboradores (2010), promove erosão, esfoliação de células, aparecimento de petéquias hemorrágicas e ruptura da barreira de muco-bicarbonato, causando assim, inúmeros danos à membrana. Com isso, ocorre um aumento na permeabilidade vascular da mucosa, com consequente infiltração neutrofílica e liberação de substâncias vasoativas oriundas dos mastócitos (histamina), macrófagos e outras células sanguíneas.

Os níveis séricos da PCR, marcador da inflamação aguda, como supracitado também foram mensurados neste modelo e foi observada uma significativa diminuição das concentrações, como demonstra a Tabela 7.

Entretanto, as amostras não alteraram os parâmetros bioquímicos avaliados do suco gástrico, o pH e o volume do suco gástrico, quando comparadas ao grupo controle negativo (Tabela 8), sugerindo que a gastroproteção promovida neste modelo não esteja ligada a mecanismos antissecretórios. No caso do lansoprazol, houve um aumento considerável no pH e uma diminuição do volume gástrico como já esperado.

A peroxidação lipídica que ocorre no processo de ulceração gerado pelo etanol promove a ativação de neutrófilos, ocasionando um processo que está diretamente envolvido na indução dos danos teciduais e sendo uma importante fonte de mediadores inflamatórios.

Esses mediadores pró-oxidantes, como lipoxigenase, citocinas e radicais livres derivados do oxigênio são altamente citotóxicos (ABDULLA et al., 2010), produtos do desequilíbrio entre os fatores oxidantes e antioxidantes da mucosa e

desempenham um importante papel na fisiopatologia, provocando lesão vascular, necrose e formação de úlceras (RODRIGUEZ et al., 2007; NASSINI, 2010).

Os efeitos nocivos do álcool sobre mucosa gástrica são consequência da diminuição dos níveis de glutathione do estresse oxidativo intracelular, das alterações na permeabilidade da membrana e despolarização da membrana mitocondrial, levando à morte da célula (RODRIGUEZ et al., 2007; MEIRA-DE-FARIA et al., 2012) e *Spondias purpurea* pode estar envolvida com a estimulação da produção da barreira de muco-bicarbonato, aumento do fluxo sanguíneo, ou ainda com a atividade antioxidante, já que este é um modelo inespecífico (Figuras 16 e 17).

Dando continuidade, a presente pesquisa avaliou o efeito das amostras vegetais de *S. purpurea* em úlceras induzidas por estresse induzido por contensão e frio.

Este é um modelo experimental consolidado por sua reprodutibilidade e clinicamente relevante na indução de úlceras gástricas agudas. As lesões atingem de maneira difusa a mucosa do esôfago, estômago ou intestino, e muitas vezes ocorrem como resultado de eventos estressores tais como traumas, queimaduras, choque, sepse ou cirurgia (ALMEIDA et al., 2012; MORSY et al., 2012).

Os resultados obtidos neste experimento demonstraram que EEtOH e FaDCM em suas concentrações crescentes foram capazes de inibir as lesões gástricas (Figuras 18 e 19) provavelmente por impedir o aumento da secreção ácida gástrica e da atividade de pepsina, estimular a secreção de muco e inibir a hipóxia que reduz o fluxo sanguíneo local, como proposto por Morsy et al. (2012). Também foi observada uma exacerbada diferença nas concentrações da PCR neste caso, indicando a presença de um quadro inflamatório agudo (Tabela 9). Desta maneira, *S. purpurea* preserva os agentes protetores da mucosa, exercendo um efeito gastroprotetor.

Além dos efeitos supracitados, o estresse promove também a diminuição dos níveis de prostaglandinas que desempenham um papel importante na defesa (TANAKA et al., 2007).

As prostaglandinas derivadas da COX-1 contribuem de forma significativa para a manutenção de um gradiente de pH favorável na superfície da mucosa

(BAUMGARTNER et al., 2004) e a COX-2 promove a proliferação e migração de células epiteliais, a reepitelização e a reconstrução das glândulas gástricas, eventos essenciais durante o processo de reparo da úlcera gástrica (SCHMASSMANN, 2006; SCHUBERT; PEURA, 2008; ALMEIDA et al., 2012).

Em seguida, investigou-se a influência do EEtOH e da FaDCM de *Spondias purpurea* sobre a estimulação vagal, através do modelo de indução aguda de úlceras por AINEs (piroxicam).

O uso frequente de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais contribui para o desenvolvimento da úlcera gástrica e estes medicamentos são uma das classes mais utilizadas, representando cerca de 5% de todos os prescritos. A inibição da atividade da enzima ciclooxigenase (COX) é responsável por suas ações anti-inflamatórias, já que a enzima é determinante na síntese de prostaglandinas (PGs).

A COX-1 é constitutiva e produz as PGs responsáveis pela integridade da mucosa, a sua inibição acarreta o bloqueio da síntese de PGE₂, comprometendo um dos mecanismos de proteção e manutenção da integridade da mucosa gástrica. A COX-2 é induzida por estímulos inflamatórios e os AINEs seletivos (coxibes) têm menor risco de formação de úlceras que os não-seletivos, porém podem acarretar riscos como o aumento da probabilidade do infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

Neste protocolo foi possível observar que o EEtOH-Sp (125, 250 e 500 mg/kg) e a FaDCM-Sp (125, 250 e 500 mg/kg) reduziram significativamente as lesões gástrica geradas pelo piroxicam (Figuras 20 e 21).

Segundo Aburaya e colaboradores (2006), o tratamento das células da mucosa gástrica com AINEs a curto prazo induz necrose e a longo prazo induz apoptose, respectivamente. Assim, os resultados alcançados neste trabalho sugerem que *Spondias purpurea* atua por um mecanismo citoprotetor frente às lesões, exercendo atividade gastroprotetora, inibindo os mecanismos moleculares de lesões induzidas por piroxicam que envolvem o efeito citotóxico direto.

É importante destacar que o elevado consumo dos AINES está associado às complicações gastrointestinais e aproximadamente 15 a 30% dos usuários crônicos apresentam distúrbios gastrointestinais e sangramentos.

Estas drogas aumentam a expressão de moléculas de adesão intercelulares no endotélio vascular da mucosa gástrica, aumentando assim a aderência neutrofílica ao endotélio vascular, levando à liberação de radicais livres, gerando danos à mucosa gástrica. São capazes de produzir lesões tanto localmente como de forma sistêmica, exercem um efeito local ao atravessar a membrana plasmática e penetrar nas células epiteliais gástricas, causando dano intracelular e podem também causar lesão sistêmica pela diminuição da síntese de PGs da mucosa (BANSAL et al., 2009; MIZUSHIMA, 2010).

Dando continuidade à pesquisa e para a elucidação dos prováveis mecanismos de ação ligados à atividade gastroprotetora foi necessário eleger a melhor dose do extrato e da fase de *Spondias purpurea*.

Para tanto, foi escolhido o modelo de etanol, reprodutível e amplo, e a dose de 250 mg/kg para o extrato e para a fase. Assim, foram executados os modelos experimentais envolvendo a participação dos grupamentos sulfidrílicos e do óxido nítrico.

No protocolo experimental de participação do NO na proteção gástrica foi realizado o modelo agudo de úlcera induzida por etanol em ratos na ausência e na presença de L-NAME, um inibidor da enzima NOS.

O óxido nítrico é um mediador endógeno envolvido com os mecanismos de integridade da mucosa gástrica, importante na regulação do ácido, secreção alcalina e na regulação do fluxo sanguíneo. Além disto, participa do processo de cicatrização da úlcera e estimula fatores de crescimento que favorecem a angiogênese (WALLACE, 2008).

Contudo, os resultados apontaram uma redução significativa as lesões ulcerativas induzidas por etanol absoluto exercida pelas amostras vegetais (EEtOH-Sp e FaDCM-Sp), tanto na ausência quanto na presença de L-NAME, não havendo diferença significativa entre esses dois (Figuras 22 e 23). Isto sugere que o NO

provavelmente não está envolvido na gastroproteção promovida por *Spondias purpurea*.

Vale ressaltar também que embora o NO exerça um importante papel na manutenção da integridade da mucosa, Kobata et al. (2007) destacam que muitos estudos demonstram seu desempenho bifásico relacionado ao efeito ulcerogênico. Assim, o NO pode promover proteção ou ação pró-ulcerogênica, dependendo da isoenzima NOS ativada.

Por fim, realizou-se a investigação do envolvimento dos grupamentos SH com o emprego do N-etilmaleimida (NEM), um agente bloqueador dos grupamentos capaz de potencializar as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol (RASTOGI; PATNAIK; DIKSHIT, 1998, MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

Os grupamentos SH são responsáveis por aumentar a produção e manter a estabilidade do muco, através das pontes de dissulfeto, e estão envolvidos na manutenção da integridade gástrica, particularmente quando as espécies reativas de oxigênio estão envolvidas na formação danos teciduais (CHANDRANATH, BASTAK; SINGH, 2002).

A glutatona reduzida participa em muitos aspectos do metabolismo oxidativo, incluindo a neutralização de hidroperóxidos e a manutenção da condição fisiológica das proteínas dos grupamentos sulfidril (CHANDRANATH, BASTAK; SINGH, 2002; ALMEIDA et al., 2012).

Neste experimento o EEtOH (250 mg/kg, v.o.) e a FaDCM (250 mg/kg, v.o.) inibiram de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas por etanol absoluto, tanto na ausência quanto na presença de NEM, havendo diferença significativa entre os grupos pré-tratados com salina e com NEM (Figuras 24 e 25).

Desta maneira, é possível apontar que o efeito gastroprotetor de *S. purpurea* depende da produção ou presença dos compostos SHs, e de acordo com Al-Mofleh e colaboradores (2010), estes compostos antioxidantes são determinantes no tratamento da úlcera péptica.

Assim, *Spondias purpurea* apresentou efeito gastroprotetor por mecanismos citoprotetores e antioxidantes, envolvendo a participação dos grupamentos sulfidrílicos.

Conclusão



6 CONCLUSÃO

Spondias purpurea é uma espécie já utilizada na medicina popular no tratamento de diversas enfermidades, inclusive nas desordens gástricas, porém não há estudos científicos que comprovem tal aplicação. Este trabalho foi realizado para comprovar pré-clinicamente tal efeito.

Assim, realizou-se com os estudos relacionados à atividade gastroprotetora e a triagem farmacológica inicial revelou que o EEtOH e a FaDCM de *S. purpurea* nas doses testadas foram capazes de exercer um efeito protetor da mucosa gástrica, sendo, portanto, viável o estudo desta espécie vegetal.

Nos modelos de indução aguda de úlcera por etanol, estresse e AINEs, o EEtOH-Sp e a FaDCM-Sp também demonstraram relevante atividade gastroprotetora.

Diante destes resultados, foram investigados os prováveis mecanismos de ação exercidos por *S. purpurea* e foi observado que o efeito gastroprotetor promovido não depende da ação do óxido nítrico, entretanto, envolve a participação dos grupamentos sulfidrílicos.

Por fim, pode-se concluir que a espécie *S. purpurea* apresenta atividade gastroprotetora, corroborando com o uso da medicina tradicional, possivelmente relacionada aos mecanismos citoprotetores e antioxidantes, oriundos da presença dos metabólitos secundários polifenóis - terpenos e flavonoides, que desempenham papel fundamental na inibição dos radicais livres e no combate do processo inflamatório da mucosa gástrica.

Perspectivas



7 PERSPECTIVAS

- ✓ Pesquisar a proteção frente às lesões gástricas induzidas por ligadura do piloro e parâmetros bioquímicos do suco gástrico, após administração oral e intraduodenal do EEtOH-Sp e da FaDCM-Sp;
- ✓ Avaliar o efeito cicatrizante do EEtOH-Sp e da FaDCM-Sp por meio do modelo crônico de indução de úlceras por ácido acético e realizar análise histológica das amostras do estômago, buscando entender os fatores envolvidos no processo de cicatrização da úlcera;
- ✓ Determinar o efeito antiulcerogênico das amostras vegetais em modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina.

Referências



REFERÊNCIAS

ABAD, M. J.; BERMEJO, P.; CARRETERO, E.; MARTINEZ-ACITORES, C.; NOGUERA, B.; VILLAR, A. Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 55, p. 63-68, 1996.

ABDULLA, M. A.; AHMED, K. A.; AL-BAYATY, F. H.; MASOOD, Y. Gastroprotective effect of *Phyllanthus niruri* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 4, p. 226-230, 2010.

ABO, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S. Antimicrobial Potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. **Phytother. Res.** v. 13, p. 494-497, 1999.

ABURAYA, M.; TANAKA, K.I.; HOSHINO T.; TSUTSUMI, S.; SUZUKI, K.; MAKISE, M.; AKAGI, R.; MIZUSHIMA, T. Heme oxygenase-1 protects gastric mucosal cells against non-steroidal anti-inflammatory drugs. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 31, 2006.

ABURJAI, T. M; HUDIB, R; TAYYEM, M. YOUSEF; QISHAWI. M. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan: The ajloun heights region. **Journal Ethnopharmacol.** v. 110, p. 294-304, 2007.

ACCIOLY, M. P.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, F. C. M.; MORAIS, S. M.; MACHADO, L. K. A.; ALMEIDA, C. A.; ANDRADE JR., F.; CARDOSO, R. P. A. Leishmanicidal activity in vitro of *Musa paradisiaca* L. and *Spondias mombin* L. fractions. **Veterinary Parasitology**. v. 187, p. 79-84, 2012.

ACHARYYA, S.; DASH, G.; MONDAL, S.; DASH, S. K. Antioxidative and antimicrobial study of spondias mangifera willd root. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v. 2, n. 4, 2010.

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**. João Pessoa, v. 17, n. 1, 2007.

AKINMOLADUN, A. C.; OBUOTOR, E. M.; FAROMBI, E. O. Evaluation of Antioxidant and Free Radical Scavenging Capacities of Some Nigerian Indigenous Medicinal Plants. **Journal of Medicinal Food**. v. 13, n. 2, p. 444-451, 2010.

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 114, p. 325-354, 2007a.

ALBUQUERQUE, U. P.; OLIVEIRA, R. F. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 113, p. 156-170, 2007b.

ALMEIDA, A. B. A. A.; LUIZ-FERREIRA, A.; COLA, M.; MAGRI, L. DI P.; BATISTA, L. M. B.; PAIVA, J. A. P.; TRIGO, J. R.; SOUZA-BRITO, A. R. M. **Journal of Medicinal Food**. v. 15, n. 4, p. 378-383, 2012.

AL-MOFLEH, I. A. Spices, herbal xenobiotics and the stomach: Friends or foes? **World J. Gastroenterol.**, v. 16, p. 2710-2719, 2010.

ALQASOUMI, S; AL-SOHAIBANI, M; AL-HOWIRINY, T; AL-YAHYA, M; RAFATULLAH, S. Rocket "Eruca sativa": a salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. **World Journal of Gastroenterology**. v. 15, p. 1958-1965, 2009.

ALRASHDI, A. S.; SALAMA, S. M.; ALKIYUMI, S. S.; ABDULLA, M. A.; HADI, A. A. H.; ABDELWAHAB, S. I.; TAHA, M. M.; HUSSIANI, J.; ASYKIN, N. Mechanisms of Gastroprotective Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Jasminum sambac* against HCl/Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2012, p. 1-15, 2012.

AMARAL, D. G.; SCHARFMAN, H. E.; LAVENEX, P. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). **Prog. Brain Res.** 163,3–22, 2007.

AMBASTA, S.P. The Useful Plants of India. **CSIR Publication**. p. 918, 1992.

ARIF, M.; ZAMAN, K.; FAREED, S.; HUSSAIN, S. Antibacterial, antidiarrhoeal and ulcer-protective activity of methanolic extract of *Spondias mangifera* bark. **International Journal of Health Research**, v.1, n.4, p.177-182, 2008.

ARO, P; STORSKRUBB, T; RONKAINEN, J; BOLLING-STERNEVALD, E; ENGSTRAND, L; VIETH, M; STOLTE, M; TALLEY, N. J.; AGREUS, L. Peptic ulcer disease in a general adult population: the Kalixanda study: a random population based study. **American Journal of Epidemiology**. v. 163, p. 1025–34, 2006.

ASASE, A.; AKWETEY, G. A.; ACHEL, D. G. Ethnopharmacological use of herbal remedies for the treatment of malaria in the Dangme West District of Ghana. **J. Ethnopharmacol.** v. 129, p. 367-376, 2010.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; IWALEWA, E. O.; AKANMUB, M. A.; UKPONMWAN, O. E. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 103, p. 166–175, 2006.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; AKINSOMISOYE, O. S; UKPONMWAN, O. E. Medicinal and Economic Value of *Spondias Mombin*. **African Journal of Biomedical Research**. v. 11, p. 129 – 136, 2008.

BANSAL, R.; BANSAL, M., GUPTA, A. Fast way to study human anatomy and physiology. **Kalyani publishers**, 2008.

BANSAL, V. K.; GOYAL, S. K.; GOSWAMI, D. S.; SINGLA, S.; RAHAR, S.; KUMAR, S. Herbal approach to peptic ulcer disease- REVIEW. **Journal of Bioscience and Technology**. v. 1, n. 1, p. 52-58, 2009.

BARDI, D. A. A.; SARAH KHAN, M. A.; SABRI, S. Z.; KADIR, F. A.; MAHMOOD, A. A.; ZAHRA, A. A.; SUZY, S. M.; AL-HANHANA, N.; AL-MAGRAMI, A. "Antiulcerogenic activity of typhonium flagelliforme aqueous leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats". **Scientific Research and Essays**. v. 6, n. 15, p. 3232–3239, 2011.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*. v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BASHANDY, T.; GUILLEMINOT, J.; VERNOUX, T.; CAPARROS-RUIZ, D.; LJUNG, K.; MEYER, Y.; REICHHELD, J. P. Interplay between the NADP-linked thioredoxin and glutathione systems in *Arabidopsis* auxin signaling. **Plant Cell**. v. 22, p. 376–391, 2010.

BATISTA, L. M.; ALMEIDA, A. B. A.; MAGRI, L. P.; TOMA, W.; CALVO, T. C.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A. R. M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* SILVEIRA. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 328-332, 2004.

BAUMGARTNER, H. K.; STARODUB, O. T.; JOEHL, J. S.; TACKETT, L.; MONTROSE, M. H. Cyclooxygenase 1 is required for pH control at the mouse gastric surface. **Gut**. v. 53, p. 1751–1757, 2004.

BERNHARDT, E. Medicinal Plants of Costa Rica. **Costa Rica: Zona Tropical Publications**. 2008.

BERTLEFF, M. J.; LANGE, J. F. Perforated peptic ulcer disease: a review of history and treatment. **Digestive surgery**. v. 27, p. 161-169, 2010.

BIBITHA, B.; JISHA, V. K.; SALITHA, C. V.; MOHAN, S.; VALSA, A. K. Antibacterial activity of different plant extracts. **Indian J Microbiol**. v. 42, n.4, p. 361-363, 2002.

BJARNASON, I.; SCARPIGNATO, C.; TAKEUCHI, K.; RAINSFORD, K .D. Determinants of the shortterm gastric damage caused by NSAIDs in man. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v. 26, p. 95–106, 2007.

BLANDIZZI, C.; COLUCCI, M. T. R. FORNAI, M.; ANTONIOLI, L.; GHISU, N.; TACCAC, M. D. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 90–100, 2009.

BRASIL. ANVISA. **Resolução RDC nº. 14, de 31 de abril de 2010.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 abr. 2010.

BRASIL. **Nota técnica do comitê nacional de plantas medicinais e fitoterápicos a respeito do que foi veiculado sobre plantas medicinais e fitoterápicos na imprensa televisiva e escrita no último mês.** Acesso em 10 Julho 2010 Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>. 2010.

BRUNTON, L. L. In Goodman The Pharmacological Basis of Therapeutic's; Hardman, J. G., Limberd, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W., Goodman, A. G., Eds., 10th ed.; McGraw-Hill: New York, 2001; pp 1006–1019.

CALDAS-FILHO, M. R. D. Avaliação da atividade gastroprotetora de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek (CELASTRACEAE). Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2013.

CALDERON, A. I.; ANGERHOFER, C. K.; PEZZUTO, J. M.; FARNSWORTH, N. R.; FOSTER, R.; CONDIT, R.; GUPTA, M. P.; SOEJARTO, D. D. Forest plot as a tool to demonstrate the pharmaceutical potential of plants in a tropical forest of Panama. **Economic Botany**, v. 54, n. 3, p. 278-294, 2000.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL A, PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v.18, p. 314-319, 2008a.

CARVALHO, C. C. D.; RÊGO, E. W.; QUEQUE, M.; SOARES, P. C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Med. Vet.** v. 2, p. 1-8, 2008b.

CHANDRANATH, S.I., BASTAKI, S.M., SINGH, J.A. Comparative study on the activity of lansoprazole, omeprazole and PD-136450 on acidified ethanol and indomethacin-induced gastric lesions in the rat. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 29, p. 173–180, 2002.

CHETIA, B.; GOGOI, S. Antibacterial activity of the methanolic extract of stem bark of *Spondias pinnata*, *Moringa oleifera* and *Alstonia scholaris*. **Asian Journal of Traditional Medicines**. v. 6, n. 4, 2011.

COPETTI, C.E.; LUTZ, S.O. Correlation between changes in metabolic parameters (increased total cholesterol and fractions, triglycerides and C-reactive protein ultrasensitive) associated with risk of cardiovascular disease. **LAES&HAES**. v. 179, 2009.

CUYPERS, A.; PLUSQUIN, M.; REMANS, T.; JOZEFCAK, M.; KEUNEN, E.; GIELEN, H.; OPDENAKKER, K.; NAIR, A.R.; MUNTERS, E.; ARTOIS, T.J.; NAWROT, T.; VANGRONSVELD, J.; SMEETS K. Cadmium stress: An oxidative challenge. **Biometals**. v. 23, p. 927–940, 2010.

DADUANG, J.; VICHITPHAN, S.; DADUANG, S.; HONGSPRABHAS, P.; BOONSIRI, P. High phenolics and antioxidants of some tropical vegetables related to antibacterial and anticancer activities. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 5, n. 5, p. 608-615, 2011.

DAS, J.; MANNAN, A.; RAHMAN, M.; DINAR, A. M.; UDDIN, M. E.; KHAN, I.N.; HABIB, R.; HASAN, N. Chloroform and Ethanol Extract of *Spondias Pinnata* and its Different Pharmacological activity Like- Antioxidant, Cytotoxic, Antibacterial Potential and Phytochemical Screening through In-Vitro Method. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**. v. 2, n. 4, 2011.

DEY, I.; LEJEUNE, M.; CHADEE, K.; Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract. **British Journal of Pharmacology**. v. 149, p. 611–23, 2006.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica, 2a ed., Editora Unesp, p. 345, 2002.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytother. Res**. v. 21, p.308–323, 2007.

EMEKA. E.J. IWEALA AND FUNMILAYO D. OLUDARE. Hypoglycemic Effect, Biochemical and Histological Changes of *Spondias mombin* Linn. and *Parinari polyandra* Benth. Seeds Ethanolic Extracts in Alloxan-induced Diabetic Rats. **Journal of Pharmacology and Toxicology**. v. 6, n. 2, p. 101-112, 2011.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, p. 557–562, 2012.

FALCÃO, H. S. Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato etanólico bruto e fase clorofórmica obtidos das partes aéreas de *Praxelis clematidea* (Griseb.) R. M. King & H. Robinson em modelos animais. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, p. 113, João Pessoa, 2007.

FEHER, J. Quantitative Human Physiology: An introduction - **The stomach**. Editora Elsevier. v.1, p. 701-710, 2012.

FILARETOVA; L.; PODVIGINA, T.; BAGAEVA, T.; BOBRY SHEV, P.; TAKEUCHI, K. Gastroprotective Role of Glucocorticoid Hormones. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 104, p. 195 – 201, 2007.

FIORUCCI, S.; DISTRUTTI, E.; CIRINO, G.; WALLACE, J.L. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. **Gastroenterology**. v. 131, p. 259–271, 2006.

FIRN, R. D.; JONES, C. G. Natural products – a simple model to explain chemical diversity. **Nat. Prod. Rep.** v. 20, p. 382–391, 2003.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub. **Plant Physiology**. v. 155, p. 2–18, 2011.

FRED-JAIYESIMI, A.; KIO, A.; RICHARD, W. α -Amylase inhibitory effect of 3 β -olean-12-en-3-yl (9Z)-hexadec-9-enoate isolated from *Spondias mombin* leaf. **Food Chemistry**. v. 116, n. 1, p. 285–288, 2009.

FRY, C. Secretions of the salivary glands and stomach. **Surgery (Oxford)**. v. 27, p. 503-506, 2009.

GACHET, M. S.; LECARO, J. S.; KAISER, M.; BRUN, R.; NAVARRETE, H.; MUÑOZ, R. A.; Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 128, p. 184–197, 2010.

GAHUKAR, R. T. Use of indigenous plant products for management of pests and diseases of spices and condiments: Indian perspective. **J. Spices Arom.** v. 20, p. 1–8, 2011.

GBOLADE, A. A.; ADEYEMI, A. A. Anthelmintic activities of three medicinal plants from Nigeria. **Fitoterapia**. v. 79, p. 223–225, 2008.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. Principles of Pharmacology The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy. **Lippincott Williams & Wilkins**. p. 811-823, 2008.

GONÇALVES, J. L. S.; LOPES, R. C.; OLIVEIRA, D. B.; COSTA, S. S.; MIRANDA, M. M. F. S.; ROMANOS, M. T. V.; SANTOS, N. S. O.; WIGG, M. D. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 99 , p. 403–407, 2005.

GUERRERO, M. G. M. Obtencion y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora Salvadorena. 2.ed. San Salvador, El salvador: Ed. Universitaria, Universidad de El Salvador, 564p, 1994.

GUPTA, V. K.; ROY, A.; NIGAM, V. K.; MUKHERJEE, K. Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 4, n. 16, p. 1656-1661, 2010.

HAMANO, P. S.; MERCADANTE, A. Z. Composition of carotenoids from commercial products of caja (*Spondias lutea*). **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 14, n. 4, p. 335-343, 2001.

HAZRA, B.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 8, n. 63, 2008.

HENRY, C. R.; SATRAN, D.; LINDGREN, B.; ADKINSON, C.; NICHOLSON, C. I.; HENRY, T. D. Myocardial injury and long-term mortality following moderate to severe carbon monoxide poisoning. **The Journal of the American Medical Association**. v. 295, p. 398-402, 2006.

HIRUMA-LIMA, C. A.; BATISTA, L. M.; ALMEIDA, A. B. A.; MAGRI, L. P.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Antiulcerogenic action of ethanolic extract of the resin from *Virola surinamensis* Warb. (Myristicaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, p. 406–409, 2009.

HIRUMA-LIMA, C. A.; CALVO, T. R.; RODRIGUES, C. M.; ANDRADE, F. D. P.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. M. S. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: Effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 104, p. 215-224, 2006a.

HIRUMA-LIMA, C. A.; SANTOS, L. C.; KUSHIMA, H.; PELLIZZON, C. H.; SILVEIRA, G. G.; VASCONSELOS, P. C. P.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian “Cerrado” medicinal plant presents an important antiulcer activity. **Journal Ethnopharmacology**, v. 104, p. 207-214, 2006b.

IDOWU, O. A.; SONIRAN, O. T.; AJANA, O.; AWORINDE, D. O. Ethnobotanical survey of antimalarial plants used in Ogun State, Southwest Nigeria. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 4, n. 2, p. 055-060, 2010.

JAIN, K. S.; SHAH, A. K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S. M.; KALE, A.P.; JAGTAP, J. R.; BHOSALE, A. V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, p. 1181–1205, 2007.

JANEWAY, C. A. JR.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. J. *Imunologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

KAM, P.C.A.; SO, A. COX-3: Uncertainties and controversies. **Current Anaesthesia & Critical Care**. v. 20, p. 50–53, 2009.

KARAK, T.; BHAGAT, R. M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review. **Food Research International**. v. 43, p. 2234–2252, 2010.

KEAWSA-ARD, S.; LIAWRUANGRATH, B. Antimicrobial Activity of *Spondias pinnata* Kurz. **Pure and Applied Chemistry International Conference**. p. 428-429, 2009.

KLEIN-JUNIOR, L. C.; GANDOLFI, R. B.; SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; CECHINEL FILHO, V.; ANDRADE, S. F. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St Hillaire & Moquin (*Poligalaceae*). **Naunym-Schmiedberg's Archives of Pharmacology**. v. 381, p. 121–126, 2010.

KNETE, V.; EFFERTH, T. Cameroonian medicinal plants: pharmacology and derived natural products. **Frontiers in Pharmacology**. v. 1, p. 123 <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2010.00123>

KO, J. K. S.; CHO, C. H.; LAM, S. K. Adaptive cytoprotection through modulation of nitric oxide in ethanol-evoked gastritis. **World Journal of Gastroenterology**. v. 10, n. 17, p. 2503-8, 2004.

KOBATA, A.; KOTANI, T.; KOMATSU, Y.; AMAGASE, K.; KATO, S.; TAKEUCHI, K. Dual action of nitric oxide in the pathogenesis of ischemia/reperfusion-induced mucosal injury in mouse stomach. **Digestion**. v. 75, p. 188-197, 2007.

KOTANI, T.; KOBATA, A.; NAKAMURA, E.; AMAGASE, K.; TAKEUCHI, K. Roles of cyclooxygenase-2 and prostacyclin/IP receptors in mucosal defense against ischemia/reperfusion injury in mouse stomach. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 316, p. 547–555, 2006.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**. v. 135, p. 41–60, 2008.

LANAS, A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research & Therapy**, vol. 10, p. 1-6, 2008.

LAU, J. Y.; SUNG, J.; HILL, C.; HENDERSON, C.; HOWDEN, C. W.; METZ, D. C. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**. v. 84, p. 102-113, 2011.

LEVINE, R. J. A method for rapid production of stress ulcers in rats. In: C. J. PFEIFFER. Peptic Ulcer. **Munksgaard**, Copenhagen. p. 92-97, 1971.

LICHTENBERGER, F. J.; MONTAGUE, C. R.; HUNTER, M.; FRAMBACH, G.; MARSH, C. B. NAC and DTT promote TGF- β 1 monomer formation: demonstration of competitive binding. **Journal of Inflammation**. v. 3, n. 7, 2006.

LOPES, W. B., MORONI, F. T., BRANDEBURGO, M. I. H. e HAMAGUCHI, A. Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais. Disponível em: <www.propp.ufu.br/revistaeletronica/B/Desenvolvimento.PDF> Acesso em: 3 de julho de 2004.

LOYA, A. M.; GONZÁLEZ-STUART, A.; RIVERA, J. O. Prevalence of polypharmacy, polyherbacy, nutritional supplement use and potential product interactions among older adults living on the United States-Mexico border: a descriptive, questionnaire-based study. **Drugs Aging**. v. 26, n. 5, p. 423-36, 2009.

MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K. L.; MCCOLL, K. E. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**. v. 374, p. 1449–1461, 2009.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by mormodin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol induced gastric mucosal lesion in rats. **Life Sci.** v. 65, p. 27-32, 1999.

MEIRA-DE-FARIA, F.; ALMEIDA, A. C. A.; LUIZ-FERREIRA, A.; TAKAYAMA, C.; DUNDER, R. J.; SILVA, M. A.; SALVADOR, M. J.; ABDELNUR, P. V.; EBERLIN, M. N.; VILEGAS, W.; TOMA, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. **The Scientific World Journal.** v. 2012, p. 1-9, 2012.

MELO, J. G. Controle de qualidade e prioridades de conservação de plantas medicinais comercializadas no Brasil, Dissertação de Mestre em Ciências, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; JEPUTNAN, L. B.; JACOBSEN, N. D. E.; McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp lethality bioassay method. **Planta Medica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MILLS, J. C.; SHIVDASANI, R. A. Gastric epithelial stem cells. **Gastroenterology.** v. 140, p.412–424, 2011.

MITCHELL, S. A.; AHMAD, M. H. A Review of Medicinal Plant Research at the University of the West Indies, Jamaica, 1948–2001. **West Indian Medical Journal.** v. 55, n. 4, p. 243, 2006.

MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol induced gastric lesions in rats. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 33, p. 939–945, 1983.

MIZUSHIMA, N.; LEVINE, B. Autophagy in mammalian development and differentiation. **Nature Cell Biology.** v. 12, p. 823–830, 2010.

MOHAN, H., Text Book of Pathology. **Jaypee Brothers Medical Publishers.** Ltd., 2008.

MOHANTA, R. K.; ROUT, S. D.; SAHU, H. K. Ethnomedicinal plant resources of similpal biosphere reserve, Orissa, India. **Zoos' Print Journal.** v. 21, n. 8, p. 2372-2374, 2006.

MONCADA, S.; HIGGS, E. A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, p. S193–S201, 2006.

MONTENEGRO, C.A. Atividade gastroprotetora de *Xylopi* *langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) em modelos animais. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2011.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, T. Effects of the new antiulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric

mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 57, p. 495-505, 1991.

MORSY, M. A.; HEEBA, G. H.; ABDELWAHAB, S. A.; ROFAEIL, R. R. Protective effects of nebivolol against cold restraint stress-induced gastric ulcer in rats: Role of NO, HO-1, and COX-1,2. **Nitric Oxide**, v. 27, p. 117-122, 2012.

MOTA, K. S. L. Avaliação da atividade antiulcerogênica de *Maytenus obtusifolia* Mart. (Celastraceae) em modelos animais. Dissertação de mestrado, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), UFPB, João Pessoa, 2009.

MUHAMMAD, A.; RAHMAN, S.; KABIR, H.; KABIR, S.; HOSSAIN, K. Antibacterial and cytotoxic activities of *Spondias pinnata* (Linn. f.) Kuirz fruit extract. **Indian Journal of Natural Products and Resources**. v. 2, n. 2, p. 265-267, 2011.

MUKHERJEE, P. K.; VENKATESH, M.; GANTAIT, A. Ayurveda in modern medicine: development and modification of bioactivity. In: MANDER, L.; LIU, HUNGWEN. **Comprehensive natural products II**. v. 3.14, p. 479-507, 2010.

MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v. 30, p. 517–531, 2009.

MUTHU, C.; AYYANAR, M.; RAJA, N.; IGNACIMUTHU, S. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v. 2, n. 43, 2006.

NADEMBEGA, P.; BOUSSIMB, J.I.; NIKIEMAC, J.B.; POLI, F.; ANTOGNONI, F. Medicinal plants in Baskoure, Kourittenga Province, Burkina Faso: An ethnobotanical study. **J Ethnopharmacol**. v. 133, p. 378-395, 2011.

NASSINI, R.; ANDRÉ, E.; GAZZIERI, D.; DE SIENA, G.; ZANASI, A.; GEPPETTI, P.; MATERAZZI, S. A bicarbonate-alkaline mineral water protects from ethanol-induced hemorrhagic gastric lesions in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v. 33, p. 1319-1323, 2010.

NISHIO, H.; TERASHIMA, S.; NAKASHIMA, M.; AIHARA, E.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP2 subtype and prostacyclin IP receptor in decreased acid response in damaged stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**. v.58, p. 407–421, 2007.

OH, GI-SU; PAE, HYUN-OCK; LEE, BOK-SOO; KIM, BYEONG-NAM; KIM, JONG-MOON; KIM, HYUNG-RYONG; JEON, SEON BOK; JEON, WOO KYU; CHAE, HAN-JUNG; CHUNG, HUN-TAEG. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kb via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 41, p. 106–119, 2006.

OLIVEIRA, A. P.; SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN-JUNIOR, L. C.; COUTO, A. G.; BITTENCOURT, M. S.; CECHINEL-FILHO, V., FALONI DE ANDRADE, S. Gastroprotective activity of methanol extract and marrubiin obtained from leaves of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 63, p. 1230–1237, 2011.

O'NEIL, D. H. R; LEONARD, A. Gastric disorders:modifications of gastric content, antacids and drugs influencing gastric secretions and motility. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**. v. 13, n. 2, 2011.

ORRENIUS, S.; GOGVADZE, V.; ZHIVOTOVSKY, B. Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. v. 47, p. 143-83, 2007.

OYAGI, A.; OGAWA, K.; KAKINO, M.; HARA, H. Protective effects of a gastrointestinal agent containing Korean red ginseng on gastric ulcer models in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 10, n. 45, 2010.

PANDA, S. K.; PATRA, N.; SAHOO, G.; BASTIA, A. K.; DUTTA, S. K. Anti-diarrheal activities of medicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. **International Journal Med. Arom. Plants**. v. 2, n. 1, p. 123-134, 2012.

PARRA, A. L.; SILVA, R. Y.; GUERRA, I. S.; IGLESIAS, B. L. Estudo comparativo do ensaio de *Artemia salina* L. e a estimativa da dose letal média (DL50) em camundongos, para determinar a toxicidade oral aguda de extratos de plantas. **Phytomedicine**. v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PRABHA, T.; DORABABU, M.; GOEL, S.; AGARWAL, P.K.; SINGH, A.; JOSHI, V. K. GOEL, R. K. **Indian Journal of Experimental Biology**. v. 47, n. 08, p. 649-659, 2009.

PUSCAS, I.; PUSCAS, C.; COLTAU, M.; PASÇA, R.; TORRES, J.; MÁRQUEZ, M.; HERRERO, E.; FILLAT, O.; ORTIZ, J. A. Comparative study of the safety and efficacy of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxicam induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittelforschung**. v. 47, p. 568-572, 1997.

RAMAKRISHNAN, K.; SALINAS, R.C. Peptic ulcer disease. **Am Fam Physician**. v. 76, p. 1005-1012, 2007.

RASTOGI, L.; PATNAIK, G. K.; DIKSHIT, M. Free radicals and antioxidant status following pylorus ligation induced gastric mucosal injury in rats. **Pharmacological Research**. v. 38, n. 2, p. 125–132, 1998.

REGINATTO, F. H. **Estudos de Aspectos Técnicos e Legais Relacionados aos Medicamentos Fitoterápicos Visando sua Inserção nos Serviços Públicos de Saúde**. Material Didático do Curso de Gestão em Assistência Farmacêutica. EaD – UFSC/UNA-SUS. 2011.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, mar./abr. 2010.

RODRÍGUEZ, Z. B. Z.; ÁLVAREZ, R. G.; GUANCHE, D.; MERINO, N.; ROSALES, F. H.; CEPERO, S. M.; GONZÁLEZ, Y. A.; SCHULZ, S. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. **Mediators of Inflammation**, v. 2007, p. 01-06, 2007.

RUIZ, A. L. T. G.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. E.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, L. A. Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Rev Bras Farmacogn.** v. 15, p. 98-102, 2005.

SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN-JUNIOR, L. C.; NIERO, R.; DE ANDRADE, S. F. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela) a folk medicine plant, in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 130, p. 334–339, 2010.

SANTOS, V. L. Avaliação da atividade antiulcerogênica, antidiarréica e antiespasmódica do extrato etanólico bruto e fase acetato de etila obtidos da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* mart. (celastraceae) em modelos animais. Tese (doutorado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SATPATHY, G.; TYAGI, Y.K.; GUPTA, R.K. Preliminary evaluation of nutraceutical and therapeutic potential of raw *Spondias pinnata* K., an exotic fruit of India. **Food Research International.** v. 44, p. 2076-2087, 2011.

SCHMASSMANN, A.; ZOIDL, G.; PESKAR, B. M.; WASER, B.; SCHMASSMANN-SUHIJAR, D.; GEBBERS, J. O.; REUBI, J. C. Role of the different isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase during gastric ulcer healing in cyclooxygenase-1 and -2 knockout mice. **American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology.** v. 290, p. G747–G756, 2006.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology.** v. 27, p. 536–542, 2011.

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. Reviews in basic and clinical gastroenterology. **Gastroenterology**, v. 134, p.1842–1860, 2008.

SETH, C.S.; REMANS, T.; KEUNEN, E.; JOZEFCAK, M.; GIELEN, H.; OPDENAKKER, K.; WEYENS, N.; VANGRONSVELD, J.; CUYPERS, A. Phytoextraction of toxic metals: A central role for glutathione. **Plant Cell Environment.** v. 35, p.334–346, 2012.

SHEEN, E.; TRIADAFILOPOULOS, G. Adverse effects of long-term proton pump inhibitor therapy. **Digestive Diseases and Sciences.** v. 56, p. 931–950, 2011.

SHETTY, K; WAHLQVIST, M. L. A model for the role of proline-linked pentose phosphate pathway in phenolic phytochemical biosynthesis and mechanism of action for human health and environmental applications; A Review. **Asia Pacific J. Clinical Nutrition**. v. 13, p. 1-24, 2004.

SIKIRIC, P.; SEIWERTH, S.; GRABAREVIC, Z. The influence of a novel pentadecapeptide, BPC 157, on NG-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosa integrity and blood pressure. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 332, p. 23-33, 1997.

SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C., VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 4, p. 642-654, 2008.

SOUZA-BRITO, A. R. M. **Manual De Ensaio Toxicológicos *in vivo***. Campinas - SP: Editora UNICAMP, p. 122, 1994.

STENGEL, A.; GOEBEL, M.; WANG, L. X.; TACHE, Y. Ghrelin, des-acyl ghrelin and nesfatin-1 in gastric X/A-like cells: role as regulators of food intake and body weight. **Peptides**. v. 31, p. 357–369, 2010.

SZELENYI, I.; THIEMER, K. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. **Arch. Toxicol.**, v. 41, p. 99-105, 1978.

TAKEUCHI, K; TANAKA, A; KATO, S; AIHARA, E; AMAGASE, K. Effect of (S)-4-(1-(5-chloro-2-(4-fluorophenoxy)benzamido)ethyl) benzoic acid (CJ-42794), a selective antagonist of prostaglandin E receptor subtype 4, on ulcerogenic and healing responses in rat gastrointestinal mucosa. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 322, p. 903–912, 2007.

TANAKA, A.; HATAZAWA, R.; TAKAHIRA, Y.; IZUMI, N.; FILARETOVA, L.; TAKEUCHI, K. Preconditioning Stress Prevents Cold Restraint Stress-Induced Gastric Lesions in Rats: Roles of COX-1, COX-2, and PLA₂. **Dig. Dis. Sci**. v. 52, p. 478-487, 2007.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing: state of the art 2010. **Gastroenterologia Polska**. v. 17, n. 3, p. 171-179, 2010.

TEIXEIRA, D. A.; Sousa, C. F. P.; Pereira, G. L. H.; Maia, L. F. L.; Teixeira, F. H.; Lisita, C. L. F. Proteína C-reativa: associação entre inflamação e complicações pós-infarto agudo do miocárdio em idosos. *Rev. Bras. Clin. Med.*, v.7, p.24-26, 2009.

THORSEN, K.; GLOMSAKER, T. B.; VON MEER, A.; SOREIDE, K.; SOREIDE, J. A. Trends in diagnosis and surgical management of patients with perforated peptic ulcer. **Journal of Gastrointestinal Surgery**. v. 15, p. 1329-1335, 2011.

THORSEN, K.; SOREIDE, J.A.; KVALOY, J.T.; GLOMSAKER, T.; SOREIDE, K. Epidemiology of perforated peptic ulcer: Age-and gender-adjusted analysis of incidence and mortality. **World Journal of Gastroenterology**. v. 19, n. 3, p. 347-354, 2013.

TULASSAY, Z.; HERSNZENYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**. v. 24, p. 99–108, 2010.

UNIVERSITY OF MICHIGAN HEALTH SYSTEM. Peptic ulcer disease. Accessed Jul 4, 2007, at: <http://www.cme.med.umich.edu/pdf/guideline/PUD05.pdf>.

VEIGA-JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev Bras Farmacogn**. v. 18, p. 308-313, 2008.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 18, p. 464-471, 2008.

VOHRA, K.; GUPTA, V. K. *Murraya koenigii* (Linn.) *Spren* (Rutaceae): A precious Gift from the Nature. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**. v. 3, n. 1, p. 18-25, 2011.

WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? **Physiological Reviews**. v. 88, p. 1547–1565, 2008.

WIART, C. Medicinal plants of Asia and the Pacific. Taylor and Francis Group, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, p. 12, 2011.

YADIAH, O.; JOSHI, P.; OZA, B. Traditional knowledge of wild medicinal plants of Baria forest division, Dahod district, Gujarat state. **Indian For**. v. 137, p. 812–821, 2011.

ZANARDO, R. C.; BRANCALEONE, V.; DISTRUTTI, E.; FIORUCCI, S.; CIRINO, G.; WALLACE, J. L. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. **FASEB Journal**. v. 20, p. 2118–2120, 2006.

ZELICKSON, M. S.; BRONDER, C. M.; JOHNSON, B. L.; CAMUNAS, J. A.; SMITH, D. E.; RAWLINSON, D.; VON, S.; STONE, H. H.; TAYLOR, S. M. Helicobacter pylori is not the predominant etiology for peptic ulcers requiring operation. **Am Surg**. v. 77, p. 1054-1060, 2011.

ZHAO, C. M.; MARTINEZ, V.; PIQUERAS, L.; WANG, L.; TACHE, Y.; CHEN, D. Control of Gastric Acid Secretion in Somatostatin Receptor 2 Deficient Mice: Shift

from Endocrine/Paracrine to Neurocrine Pathways. **Endocrinology**. v. 149, n. 2, p. 498-505, 2008.

Anexo



ANEXO



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



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIDÃO

João Pessoa, 22 de fevereiro de 2013.

CEUA N° 0611/12

Ilmo(a). **Leônia Maria Batista**

Departamento **Ciências Farmacêuticas - CCS - UFPB**

Orientando(a) : **Cynthia Layse Ferreira de Almeida, (Mestrado)**

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba em sua reunião ordinária de **20/02/13** analisou e **APROVOU** a execução do projeto **Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato etanólico e da fase de Spondias purpurea L. (Anacardiaceae).**

Com previsão de empregar **140 Ratos SHR;**

- ANIMAIS

PROVÉM DO BIOTÉRIO Prof. Thomas George.

Para serem utilizados no período de **15/11/2012 a 30/03/2013**

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animal do CBiotec/UFPB

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – CBiotec
Centro de Biotecnologia – Universidade Federal da Paraíba
<https://sites.google.com/site/ceuacbiotec/> – ceua@lfpb.ufpb.br