



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LUANA MARIA DE QUEIROZ SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULA CONTENDO EXTRATO DE
Spondias Mombin L. (ANACARDIACEAE) E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE
GASTROPROTETORA**

**CAMPINA GRANDE
2023**

LUANA MARIA DE QUEIROZ SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULA CONTENDO EXTRATO DE
Spondias Mombin L. (ANACARDIACEAE) E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE
GASTROPROTETORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Obtenção e avaliação da atividade biológica de produtos naturais, sintéticos e biotecnológicos de interesse farmacêutico.

Orientadora: Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos

**CAMPINA GRANDE
2023**

É expressamente proibido 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 do trabalho.

S586d Silva, Luana Maria de Queiroz.
Desenvolvimento de micropartícula contendo extrato de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) e avaliação de atividade gastroprotetora [manuscrito] / Luana Maria de Queiroz Silva. - 2023.
70 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.
"Orientação : Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos, Departamento de Farmácia - CCBS."
1. Fitoterápicos. 2. Cajazeira. 3. Plantas naturais. I. Título
21. ed. CDD 615

LUANA MARIA DE QUEIROZ SILVA

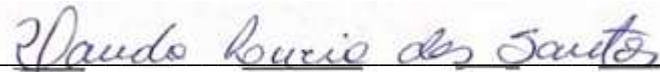
**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULA CONTENDO EXTRATO DE
Spondias Mombin L. (ANACARDIACEAE) E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE
GASTROPROTETORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

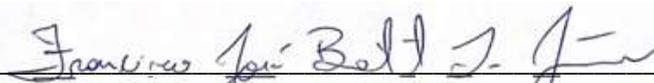
Área de concentração: Obtenção e avaliação da atividade biológica de produtos naturais, sintéticos e biotecnológicos de interesse farmacêutico.

Aprovada em 01/12/2023

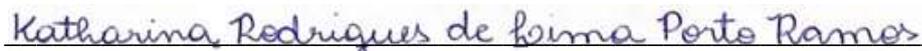
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Vanda Lucia dos Santos (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba



Prof. Dr. Francisco José Batista
Centro Universitário UNIFACISA



Profa. Dra. Katharina Rodrigues de Lima Porto Ramos
Universidade Estadual da Paraíba

Aos meus pais,
A “vovó” e “titia” (*in memoriam*),
Todo o meu amor e minha gratidão.
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Assim como todos os planos e projetos são inteiramente entregues nas mãos de Deus, pela intercessão de Nossa Senhora, este não poderia ser diferente. Quem como Deus? Tudo tem seu tempo e pra tudo um propósito d'Ele, um agradecimento por tudo que Ele fez e faz na minha vida.

Aos meus pais, Tenilza e Genildo, que nunca mediram esforços para me ver realizando meus sonhos, por nunca terem me deixado faltar nada, acreditando sempre em mim, fazendo o possível para me ver bem e por sempre me acolherem nos momentos que mais preciso. Tenho muita sorte por ter vocês.

Aos meus anjos da guarda, minha vó e minha tia, que sempre cuidaram tão bem de mim e hoje continuam cuidando lá do céu. Devolver vocês à Deus foi a coisa mais difícil que eu precisei fazer, mas me mostrou o tamanho da minha força, quando eu não imaginava que tinha. À vocês minha eterna gratidão e meu compromisso de me tornar sempre uma pessoa melhor.

Ao meu namorado Wellington, por todo amor, apoio, cumplicidade e compreensão nos dias mais difíceis, dividindo comigo momentos de alegria e sendo abrigo nos momentos em que o medo e a ansiedade falavam mais alto. Obrigada por se fazer tão presente, mesmo quando estamos distantes.

À minha orientadora Vanda Lucia, pelo acolhimento desde o princípio, por ter sido mais que uma orientadora, mas também amiga e muitas vezes uma mãe. Obrigada pelo incentivo, paciência, por te acredito em mim e me colocado pra cima nas muitas vezes que me achei incapaz, que um dia eu possa ser pelo menos metade da profissional e humana que a senhora é.

Professor Franzé e Katharina que gentilmente aceitaram fazer parte da banca. Franzé que é como um “pai científico”, sempre disposto a colaborar e contribuir de forma muito positiva com minha formação. Katharina, sua contribuição foi fundamental neste trabalho, agradeço a sua gentileza, disponibilidade e por transmitir tanto afeto, assim como o suporte durante as análises bioquímicas e hematológicas.

A equipe do Labenfarm, em especial Yasmin, que esteve comigo desde o início tornando-se também uma grande amiga, sou grata por todo o apoio prestado, assim como os momentos de distração dentro e fora da universidade. Lorena, por todo o apoio, transmitindo calma e mesmo nos momentos de desespero, sempre lembrando que ia dar tudo certo, e deu. Thássia por toda calma e paciência transmitida. Elaine, Alisson, Bárbara, Elizandro, Fabrícia, que estavam sempre dispostos a auxiliar, meu muito obrigada.

Aos que compartilharam a jornada de mestrado, onde juntos dividimos alegrias, tristezas, lamentações e muitas reclamações, mas que sempre estávamos dispostas a ouvir uns aos outros, a gente sempre se entendia. Jessé, Leda, Joyceana, Angélica, Giovana, Magna, Niedja e Ana Clara.

Aos meus amigos Thê, Heverton, a pequena Maria Helena, Humberto, Jéssica, Danyllo, Marcos, Higor e Jéssica Rodrigues, que entendiam minhas ausências e por diversos momentos foram abrigo, acolhida e distração. Emanuel, pelo cuidado de irmão e parceria de sempre. Karol, Gabriel e Thor, que me acolheram como família. E Valéria, pelos momentos compartilhados.

Aos professores do PPGCF, por todos os ensinamentos. Ao secretário Thiago, pela amizade, paciência e disponibilidade de sempre.

Ao LABDEM, pelo espaço cedido durante as análises.

Aos professores Cassiano, Lennon e Denise do laboratório de histopatologia e imuno-histoquímica no departamento de Odontologia, pelo suporte durante as análises histopatológicas.

A equipe do biotério da UEPB, onde foram realizados os ensaios farmacológicos, que estavam sempre dispostos a auxiliar com muita responsabilidade e descontração.

A FAPESQ pelo apoio financeiro e suporte técnico concedido.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram com esse trabalho, meu muito obrigada!

RESUMO

A úlcera gástrica é considerada a doença gastrointestinal mais predominante, podendo ocorrer em cerca de 10% da população mundial. O tratamento comumente utilizado vem apresentando muitos efeitos adversos. Esses fatores vêm estimulando a pesquisa com plantas medicinais como uma alternativa para novos medicamentos eficazes e com menos efeitos adversos. Considerando a gama de substâncias bioativas encontradas nas plantas, a *Spondias Mombin* L., uma espécie nativa do Brasil, encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste, apresenta atividades farmacológicas já elucidadas como antiinflamatória, analgésica, antioxidante e antiulcerogênica. Para garantir os efeitos das substâncias bioativas das plantas medicinais, as micropartículas são utilizadas de forma a encapsular os compostos bioativos, mantendo sua atividade farmacológica e melhorando sua absorção no organismo. Com isso, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a droga vegetal obtida das folhas de *Spondias mombin* e avaliar a atividade gastroprotetora do extrato incorporado na forma de micropartícula, bem como seu potencial toxicológico em doses repetidas. Foi realizada a caracterização do material vegetal de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010). A partir da caracterização, foi obtido o extrato hidroalcolico, em seguida, o extrato foi encapsulado na forma de micropartícula utilizando a quitosana como biopolímero carreador. A atividade gastroprotetora do extrato e da micropartícula foi avaliada pelo modelo de úlcera induzida por etanol. No estudo da toxicidade em doses repetidas por 28 dias, os animais receberam diariamente o extrato nas doses de 250mg.kg⁻¹ e 500 mg.kg⁻¹. A partir dos testes realizados, os parâmetros de densidade aparente e compactada, intumescência, pH, dessecação, teor de cinzas e cinzas insolúveis em ácido avaliados no controle de qualidade da droga vegetal de *Spondias mombin* encontram-se de acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira com isso, a droga vegetal do presente estudo apresenta viabilidade para produção de extrato e posterior desenvolvimento da formulação farmacêutica. O extrato apresentou um rendimento de 27,10%. A micropartícula obtida apresentou um rendimento de 54,11%. Utilizando o modelo de úlcera induzida por etanol, foi verificado que em relação ao controle negativo, o extrato na dose de 500 mg.kg⁻¹ e a micropartícula também na mesma dose, apresentaram atividade de inibição de úlcera de 65,52% e 51,73 %, respectivamente. Em relação ao estudo da toxicidade em doses repetidas por 28 dias, não houve alterações significativa do peso dos animais, bem como animais não tiveram alterações significativas no peso, os órgãos não apresentaram alterações macroscópicas nem em seu peso, também não foram encontradas alterações bioquímicas e hematológicas. Dessa forma,

foi comprovado a segurança do uso do extrato em doses repetidas, bem como sua atividade gastroprotetora, mantendo também seu potencial farmacológico na forma de micropartícula, o qual apresentou um perfil de liberação controlada para veiculação do extrato.

Palavras-chave: produtos naturais; fitoterápicos; cajazeira; úlcera.

ABSTRACT

Gastric ulcers are considered the most predominant gastrointestinal disease, occurring in around 10% of the world's population. The commonly used treatment has presented many adverse effects. These factors have been stimulating research into medicinal plants as an alternative to new effective medicines with fewer adverse effects. Considering the range of bioactive substances found in plants, *Spondias Mombin* L., a species native to Brazil, found mainly in the North and Northeast regions, has already elucidated pharmacological activities such as anti-inflammatory, analgesic, antioxidant and antiulcerogenic. To guarantee the effects of bioactive substances from medicinal plants, microparticles are used to encapsulate bioactive compounds, maintaining their pharmacological activity and improving their absorption in the body. Therefore, the objective of this work was to characterize the plant drug obtained from *Spondias mombin* leaves and evaluate the gastroprotective activity of the extract incorporated in microparticle form, as well as its toxicological potential in repeated doses. The characterization of the plant material was carried out in accordance with the Brazilian Pharmacopoeia (2010). From the characterization, the hydroalcoholic extract was obtained, then the extract was encapsulated in the form of microparticles using chitosan as a carrier biopolymer. The gastroprotective activity of the extract and microparticle was evaluated using the ethanol-induced ulcer model. In the toxicity study in repeated doses for 28 days, the animals received the extract daily at doses of 250mg.kg⁻¹ and 500 mg.kg⁻¹. From the tests carried out, the parameters of apparent and compacted density, swelling, pH, desiccation, ash content and acid-insoluble ash evaluated in the quality control of the plant drug *Spondias mombin* are in accordance with the limits established by the Pharmacopoeia Brazilian with this, the plant drug in the present study presents feasibility for extract production and subsequent development of the pharmaceutical formulation. The extract showed a yield of 27.10%. The microparticle obtained showed a yield of 54.11%. Using the ethanol-induced ulcer model, it was verified that in relation to the negative control, the extract at a dose of 500 mg.kg⁻¹ and the microparticle also at the same dose, presented ulcer inhibition activity of 65.52% and 51.73%, respectively. In relation to the study of toxicity in repeated doses for 28 days, there were no significant changes in the weight of the animals, as well as the animals did not have significant changes in weight, the organs did not present macroscopic changes or in their weight, nor were any biochemical and hematological. In this way, the safety of using the extract in repeated doses was proven, as well as its gastroprotective activity, while also maintaining its pharmacological

potential in the form of microparticles, which presented a controlled release profile for delivery of the extract.

Keywords: natural products; phytotherapeutics; cajazeira; ulcer.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs - anti-inflamatórios não esteroides

ALT - alanina aminotransferase

AMPc - adenosina monofosfato cíclico

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST - aspartato aminotransferase

CCK-2 - colecistocina 2

CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média

CL- - Cloreto

COX – ciclooxigenase

COX 1 – ciclooxigenase 1

COX 2 – ciclooxigenase 2

ECS – enterocromafins

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

EROs – Espécies reativas de oxigênio

H⁺ - Hidrogênio

H⁺K⁺ ATPase – Bomba de Prótons

HCO₃⁻ - Bicarbonato

HCL - ácido clorídrico

HDC - enzima histidina-descarboxilase

HCM - hemoglobina corpuscular média

IBPs – Inibidores de bomba de Prótons

IFAV - Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal

ILU – Índice de lesão ulcerativa

K⁺ - Potássio

LAC - Laboratório de Análises Clínicas

LD- Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

Na⁺ - Sódio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PG - prostaglandinas

PLC - fosfolipase C

PLGA - ácido lático e ácido glicólico poli D, L-lactídeo-co-glicolídeo

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

SNA - sistema nervoso autônomo

SNE - sistema nervoso entérico

SNP - sistema nervoso parassimpático

SNS - sistema nervoso simpático

TGI – Trato gastrointestinal

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba

UV-Vis - Ultravioleta-visível

VCM - volume corpuscular médio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do Trato Gastrointestinal	19
Figura 2 - Mecanismos de secreção do HCl	21
Figura 3 - Lesão na parede do estômago causada pela úlcera gástrica	20
Figura 4 - Árvore da espécie <i>Spondias mombin</i>	26
Figura 5 - Representação das Micropartículas nas formas de Microcápsulas e Microesferas	29
Figura 6 - Esquema operacional de secagem com <i>Spray Dryer</i>	29
Figura 7 - Etapas de pesagem e secagem do material vegetal.....	38
Figura 8: Folhas secas e após o processo de moagem.....	39
Figura 9- Tamanhos de partículas obtidos a partir da análise granulométrica da droga vegetal.....	40
Figura 10 - Caracterização físico-química da droga vegetal de <i>Spondias mombin</i>	41
Figura 11 - Extrato de <i>Spondias mombin</i> obtido por rotaevaporação	47
Figura 12- Processo de trituração do extrato de <i>Spondias mombin</i>	48
Figura 13- Curva de calibração obtida para determinação de flavonoides totais.....	49
Figura 14- Micropartícula obtida do extrato de <i>Spondias mombin</i>	50
Figura 15- Abertura dos estômagos para análise de úlcera formada.....	56
Figura 16- Resultados da avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de <i>Spondias mombin</i> e da Micropartícula, utilizando o modelo de indução de úlcera por etanol	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise granulométrica da droga vegetal de <i>Spondias mombin</i>	39
Tabela 2 - Características físico-químicas da droga vegetal de <i>Spondias mombin</i>	40
Tabela 3 - Densidade aparente obtida nos diferentes tamanhos de partículas.....	41
Tabela 4 - Densidade compactada obtida nos diferentes tamanhos de partículas	42
Tabela 5 - Perda de dessecação obtida nos diferentes tamanhos de partículas	42
Tabela 6 - Determinação de pH obtido nos diferentes tamanhos de partículas.....	43
Tabela 7 - Teor de cinzas totais obtidos em diferentes tamanhos de partículas.....	43
Tabela 8 - Teor de cinzas insolúveis em ácido obtidas em diferentes tamanhos de partícula..	44
Tabela 9 - Índice de intumescência obtida nos diferentes tamanhos de partículas.....	45
Tabela 10 - Efeito do tratamento com extrato de <i>Spondias mombin</i> na massa corporal dos camundongos durante os 28 dias de tratamento	51
Tabela 11 - Massa relativa dos órgãos de camundongos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de <i>Spondias mombin</i>	52
Tabela 12 - Avaliação dos parâmetros bioquímicos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de <i>Spondias mombin</i>	53
Tabela 13 - Avaliação dos parâmetros hematológicos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de <i>Spondias mombin</i>	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivo Geral.....	18
2.2	Objetivos Específicos.....	18
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
3.1	Trato Gastrointestinal.....	19
3.2	Fisiologia da Secreção Gástrica.....	20
3.3	Úlcera Gástrica.....	22
3.4	Tratamento convencional da Úlcera Gástrica.....	24
3.5	Plantas Medicinais.....	25
3.6	Spondias Mombim.....	26
3.7	Caracterização de Droga Vegetal.....	27
3.8	Micropartículas poliméricas como sistema de liberação de fármacos.....	29
4	METODOLOGIA.....	32
4.1	Coleta e preparação do material vegetal.....	32
4.2	Controle de Qualidade da droga vegetal.....	32
4.2.1	<i>Tamanho médio de partícula</i>	32
4.2.2	<i>Densidade aparente</i>	33
4.2.3	<i>Densidade compactada</i>	33
4.2.4	<i>Perda por dessecação</i>	33
4.2.5	<i>Determinação do pH</i>	34
4.2.6	<i>Determinação de Cinzas totais</i>	34
4.2.7	<i>Cinzas insolúveis em ácido</i>	34
4.2.8	<i>Índice de Intumescência</i>	34
4.3	Preparação do Extrato.....	35
4.4	Quantificação de Flavonoides Totais.....	35
4.5	Produção de micropartículas.....	36
4.5.1	<i>Rendimento de Micropartículas obtidas</i>	36
4.6	Testes in vivo.....	36
4.6.1	<i>Avaliação de toxicidade de doses repetidas por 28 dias</i>	36
4.6.2	<i>Avaliação da atividade gastroprotetora</i>	37
4.7	Análise Estatística.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1	Caracterização da droga vegetal.....	38
5.1.1	<i>Tamanho médio de partícula</i>	39
5.2	Controle de qualidade da droga vegetal.....	41
5.2.1	<i>Densidade aparente</i>	42
5.2.2	<i>Densidade compactada</i>	42
5.2.3	<i>Densidade compactada</i>	42
5.2.4	<i>pH</i>	43
5.2.5	<i>Cinzas Totais</i>	44

5.2.6	<i>Cinzas Insolúveis em Ácido</i>	44
5.2.7	<i>Intumescência</i>	45
5.3	Produção de Extrato Hidroalcoólico	46
5.3.1	<i>Rendimento de Micropartículas obtidas</i>	47
5.4	Quantificação de Flavonoides Totais	48
5.5	Produção de Micropartículas	49
5.6	Testes in vivo	49
5.6.1	Avaliação de toxicidade de doses repetidas por 28 dias do extrato de Spondias mombin	49
5.6.2	<i>Avaliação da atividade gastroprotetora</i>	56
6	CONCLUSÃO	60
	REFERENCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

A úlcera péptica é uma lesão da submucosa do tubo digestivo podendo ser gástrica ou duodenal. Em casos de pacientes que apresentam quadro mais acentuados podem surgir complicações como sangramento gastrointestinal, perfuração e, casos mais raros, obstrução da saída gástrica, quando o inchaço dos tecidos inflamados pela úlcera bloqueia a passagem de saída do estômago ou estreitam o duodeno (Scally *et al.*, 2018).

A progressão da úlcera péptica se deve a uma série de fatores agressivos como: tabagismo, estresse, uso excessivo de álcool e dieta inadequada. Além disso, sua ocorrência se dá principalmente pela infecção por *Helicobacter pylori* e o uso recorrente de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Estima-se que a úlcera gástrica afeta cerca de 10% da população mundial, podendo 1% resultar em câncer, o que pela Organização Mundial da Saúde (OMS) se tornam um problema de saúde pública (De Carvalho Vale *et al.*, 2023; Dornelas *et al.*, 2023; Traoré *et al.*, 2021).

O tratamento convencional da úlcera gástrica consiste no uso de fármacos antissecretores incluindo antagonistas dos receptores H₂ da histamina, fármacos antimuscarínicos que agem na inibição da secreção gástrica, inibidores de bomba de prótons (IBPs) e uma nova classe de bloqueador competitivo do potássio: o Vonoprazan (Brandão *et al.*, 2019; Laine *et al.*, 2023)

Os inibidores de bomba de prótons são atualmente os fármacos mais utilizados no tratamento de úlcera gástrica, no entanto, seu uso prolongado pode acarretar em efeitos adversos, assim como recorrência de úlcera. Com isso, os produtos naturais surgem como uma alternativa para diminuir os efeitos adversos, auxiliando no tratamento de úlcera (Zanotelli *et al.*, 2020).

As plantas medicinais fornecem substâncias bioativas, que vem sendo utilizadas na indústria farmacêutica para desenvolvimento de novos medicamentos. Essas substâncias são denominadas de metabólitos secundários. Suas funções biológicas ainda não são totalmente definidas, com isso, podem apresentar tanto efeitos terapêuticos como tóxicos para a saúde humana. Com isso, faz-se necessário, realizar estudos que priorizam qualidade e segurança desses produtos, associando conhecimentos com base nas ações farmacológicas e toxicológicas (Costa, 2018).

A *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajazeira, vem sendo estudada por nosso grupo, com potencial aplicação como fonte de fitoderivados de uso terapêutico para problemas gástricos. É uma espécie nativa no Brasil encontrada principalmente

nas regiões do Norte e Nordeste. Suas folhas apresentam compostos como quercetina, que pertence à classe dos flavonoides, demonstrando uma opção terapêutica contra diversas enfermidades. (Brito, 2018; Silva, 2021). Estudos comprovam a eficácia o uso do extrato de *Spondias mombin* para atividade antiinflamatória e analgésica (Nila *et al.*, 2023), cicatrizante (Agbaje; Charles, 2022), antioxidante (Oladimeji *et al.*, 2022), antiulcerogênica (Araruna *et al.*, 2021) e ansiolítica (Dos Santos Sampaio *et al.*, 2018).

As técnicas de microencapsulação são aplicadas objetivando-se manter os compostos bioativos, protegendo-os da umidade, oxigênio, luz, entre outros fatores externos, possibilitando um melhor controle de liberação, solubilidade e biodisponibilidade (Calderón-Oliver; Ponce-Alquicira, 2022).Dentre os sistemas de encapsulamento de compostos bioativos, as micropartículas poliméricas permitem proteção do material encapsulado de forma a manter sua concentração farmacológica necessária, melhorando a absorção no organismo (Camargo *et al.*, 2023).

Portando, o objetivo do trabalho foi desenvolver uma micropartícula, incorporando o extrato *Spondias mombin* na perspectiva de utilizar um produto natural promissor na atividade farmacológica gastroprotetora, justificando também a avaliação toxicológica *in vivo* do extrato quando utilizado em doses diárias repetidas, visto que, o grupo de estudo já realizou sua atividade toxicológica aguda e atividades *in vitro* do extrato microencapsulado da espécie em estudo já foram elucidadas, como por exemplo, a atividade antioxidante (De Moura *et al.*, 2022; Maria *et al.*, 2022).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar a droga vegetal obtida das folhas de *Spondias mombin* e avaliar a atividade gastroprotetora do extrato incorporado na forma de micropartícula, bem como seu potencial toxicológico em doses repetidas.

2.2 Objetivos Específicos

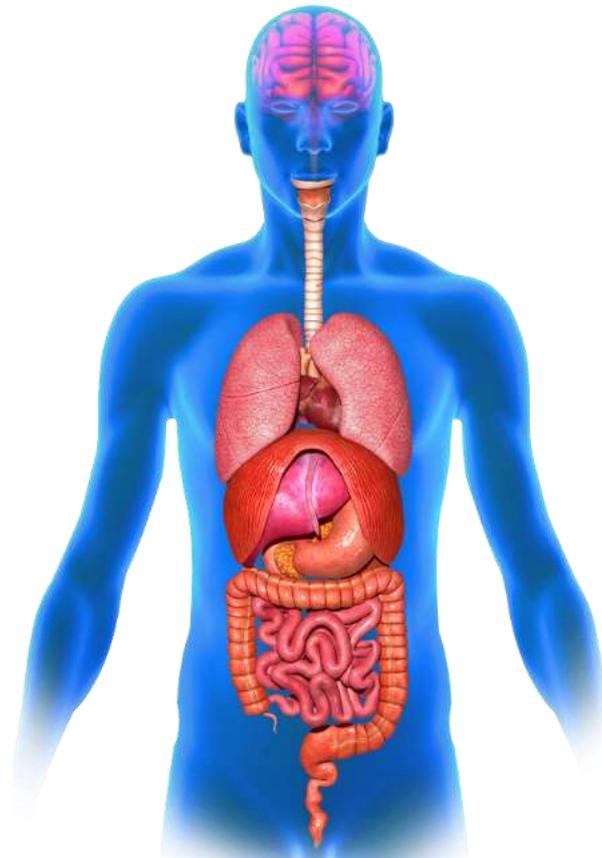
- a) Caracterizar a droga vegetal das folhas de *Spondias mombin* por meio dos testes: granulometria, pH, determinação de densidade, teor de cinzas totais, de cinzas insolúveis em ácido e índice de intumescência;
- b) Obter o extrato hidroalcoólico das folhas de *Spondias mombin* L;
- c) Determinar o conteúdo de flavonoides totais presentes no extrato;
- d) Avaliar a toxicidade *in vivo* de doses repetidas do extrato;
- e) Incorporar o extrato obtido na forma de micropartícula;
- f) Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico incorporado na micropartícula obtida utilizando modelos *in vivo*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Trato Gastrointestinal

O trato gastrointestinal (TGI), representado na figura 1 é responsável pela digestão e absorção de moléculas nutrientes ingeridas. Constituído pela cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e ânus, além de órgãos glandulares como fígado, vesícula biliar e pâncreas. É envolvido com as seguintes camadas: mucosa, submucosa, muscular (fibras lisas e longitudinais) e serosa, as quais desempenham as funções de secreção gástrica, expulsão de fezes, formação da bile e suprimento de água, eletrólitos e nutrientes para o organismo, sendo controladas por um sistema neuro-hormonal (Carvalho, 2017; Martins, 2013).

Figura 1 - Representação do Trato Gastrointestinal



Fonte: Brazzini, 2022. Disponível em:< <https://brazzini.pe/radiologia-intervencionista/tratamientos-no-vasculares/>>

O sistema nervoso autônomo (SNA) e o sistema nervoso entérico (SNE), que é uma divisão do SNA, são responsáveis pelo controle neural do TGI. Eles trabalham de maneira integrada de forma que os neurônios do SNE são atingidos por axônios de neurônios sensoriais

extrínsecos originados no sistema nervoso simpático (SNS) ou sistema nervoso parassimpático (SNP). Três tipos de plexos ganglionares são encontrados ao longo do TGI: plexo mucoso e plexo submucoso (responsáveis pelas atividades secreção e absorção) e plexo mioentérico (responsável pela atividade peristáltica) (Carvalho, 2017).

O estômago produz ácido gástrico, que é utilizado para facilitar a digestão de proteínas e absorção de ferro, cálcio e vitamina B12 além de impedir a entrada de bactérias no organismo. Quando os mecanismos de secreção do ácido gástrico estão desregulados, o volume e a acidez aumentam desproporcionalmente, prejudicando as defesas da mucosa gástrica, levando a formação de úlcera duodenal, úlcera gástrica e doença do refluxo gastresofágico (Ferreira *et al.*, 2016).

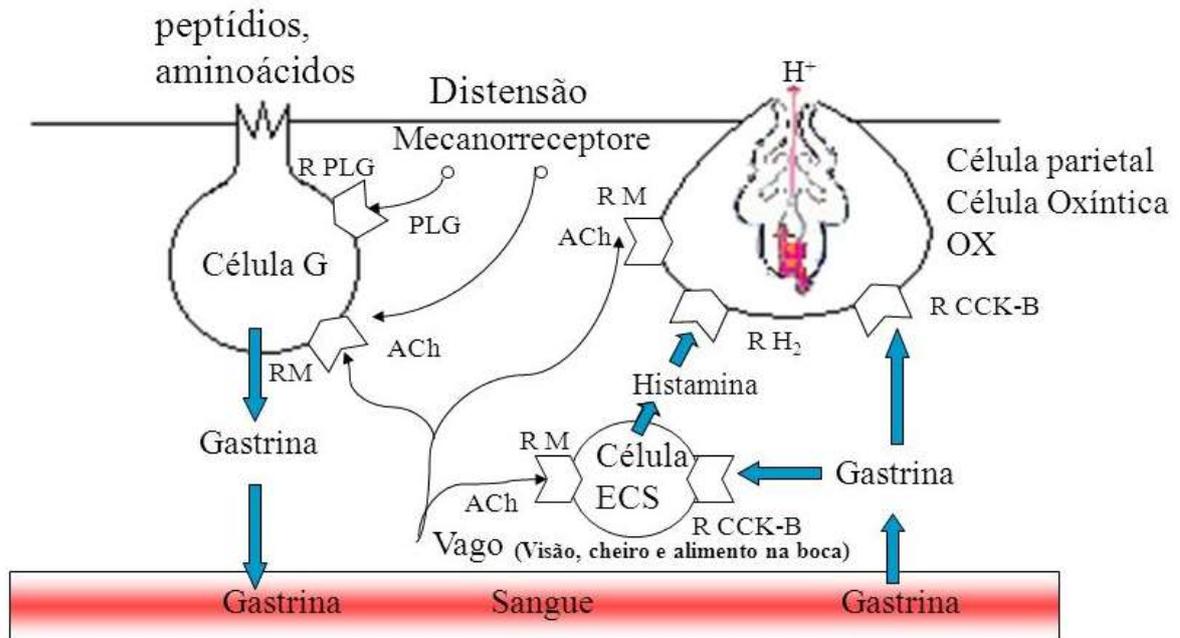
As doenças que acometem o trato gastrointestinal vêm atingindo grande parte da população, gerando impactos negativos na qualidade de vida. De acordo com Lombardo (2021), ainda que apresentem um baixo índice de morbidade, doenças como dispepsia, refluxo gastresofágico e úlceras pépticas podem resultar em diversas limitações no dia a dia devido aos sintomas que apresentam como: dor epigástrica, desconforto pós-prandial, azia, pirose retroesternal, disfagia, eructação, regurgitação, náuseas e vômitos.

3.2 Fisiologia da Secreção Gástrica

A produção de ácido gástrico é importante para digestão de alimentos, absorção de ferro e eliminação de patógenos. A secreção gástrica, quando desregulada, pode causar prejuízos à integridade da mucosa gástrica, com isso, é importante manter um equilíbrio entre a secreção ácida e os mecanismos de proteção da mucosa (Yao; Smolka, 2019)

Este processo é realizado no estômago, o HCl presente realiza a secreção de H⁺ pelas células parietais por meio da ativação da H⁺K⁺ ATPase, denominada bomba de prótons, localizada na membrana luminal da célula. A secreção gástrica de HCl pode ser regulada por três vias: Acetilcolina pela via neural, histamina pela via parácrina e gastrina pela via endócrina. Esses mediadores interagem com receptores acoplados a proteína Gs que ativam a adenilato ciclase no caso da histamina e proteína Gq que aumenta as concentrações de cálcio intracelular no caso das vias gastrina e acetilcolina (Libanez Bessa *et al.*, 2016). A figura 2 ilustra as três vias de secreção do HCl.

Figura 2 - Mecanismos de secreção do HCl



RM: receptor muscarínico, PLG: peptídeo liberador de gastrina, ACh: acetilcolina, R CCK-B: receptor de colecistocinina B, R H₂: receptor H₂ de histamina, ECS: enterocromafim-símiles

Fonte: Rang *et al.*, 2012.

A via de secreção de HCl liberada pela via da acetilcolina ocorre por meio de estímulos no nervo VAGO (olfato, visão, paladar, mastigação), a acetilcolina liberada pelos neurônios vagais interage com os receptores muscarínicos M₃, expressos nas células parietais, G e enterocromafins (ECS). Esses receptores são acoplados a proteína Gq/11, induzindo a formação de inositol 1,4,5-trifosfato e diacilglicerol via fosfolipase C (PLC), favorecendo o aumento de cálcio intracelular fundamental na secreção de gastrina e histamina pelas células G e ECS para a ativação da cascata de proteínas quinases, resultando na ativação da H⁺, K⁺-ATPase que secreta H⁺ em troca de K⁺, resultando na secreção ácida gástrica (Ramsay; Carr, 2011; Rang *et al.*, 2012).

A via de secreção da gastrina é estimulada por meio dos receptores de colecistocina 2 (CCK-2) localizados na célula parietal, que atuam de forma direta. Esses receptores são acoplados a proteína Gq, induzindo o aumento de cálcio intracelular via fosfolipase C, ocasionando a fusão das vesículas contendo a H⁺, K⁺-ATPase com a membrana apical das células parietais (Schubert, 2010).

A via de secreção da histamina ocorre quando esta se liga aos receptores H₂ acoplado a proteína Gs nas células parietais e desencadeia uma cascata de eventos, o qual resulta no aumento dos níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). A histamina

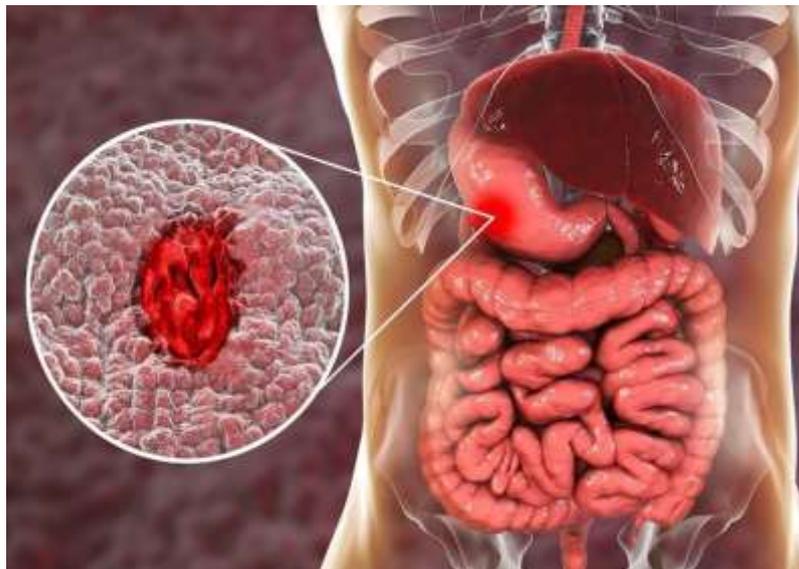
estimula ainda, a secreção gástrica de ácido de maneira indireta ao inibir a secreção de somatostatina pelas células D localizadas no antro gástrico e por estimular a liberação de gastrina pelas células G (Libanez Bessa *et al.*, 2016).

Em condições normais, o ácido clorídrico (HCl) e as espécies reativas de oxigênio (EROs) estão equilibradas com os fatores de proteção da mucosa gástrica, como a barreira muco-bicarbonato e as enzimas antioxidantes. Porém, quando há uma alteração nesse equilíbrio a sobrecarga luminal acomete a mucosa gástrica, desencadeando a úlcera (Silva, 2019).

3.3 Úlcera Gástrica

De acordo com os estudos relacionados as disfunções do trato gastrointestinal, a úlcera péptica é definida como uma doença multifatorial, crônica, desencadeada pelo desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e os fatores agressores da mucosa, onde as lesões são causadas pela ação lesiva do ácido clorídrico e da pepsina presentes no estômago e duodeno, como mostra a figura 3. As lesões na parede da mucosa podem se estender para as paredes mais profundas por meio da camada muscular, podendo destruir os componentes dos tecidos epitelial e conectivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos (Mazzolin, 2013; Tamashiro Filho *et al.*, 2012).

Figura 3 - Lesão na parede do estômago causada pela úlcera gástrica



Fonte: What Foods Are Healthy For The Ulcer? - Bullfrag.

A úlcera pode ser apresentada como úlcera péptica, quando ocorre em sítios expostos à secreção de ácido clorídrico e pepsina, ocorre com maior frequência no estômago e duodeno, podendo também acometer o esôfago. Na maioria das vezes apresenta-se como uma lesão oval ou arredondada com diâmetro que varia de 0,5 a 2,0 cm. De acordo com sua profundidade e intensidade a úlcera pode ser classificada em superficial, quando localizada na submucosa; profunda, quando atinge a lâmina própria e perfurante quando ultrapassa todas as camadas da parede, podendo atingir órgãos vizinhos como pâncreas e fígado. Em geral, a úlcera gástrica apresenta dimensões maiores que a úlcera duodenal (Libanez Bessa *et al.*, 2016)

A úlcera gástrica é estimada como a doença gastrointestinal mais predominante e pode acometer pelo menos 10% da população mundial, em decorrência do estilo de vida atual onde observa-se um consumo excessivo de bebidas alcoólicas, uso exacerbado de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), além de altos níveis de estresse (Lemos *et al.*, 2015).

As origens das lesões gástricas relacionadas a ingestão de álcool são originadas por fatores que incluem o estresse oxidativo, danos ao DNA e diminuição do conteúdo total de glutathione nas células da mucosa gástrica, o que ocasiona necrose e hemorragia no tecido, aumentando o fluxo de Na^+ e H^+ no lúmen e estimula a secreção de histamina, pepsina e íons H^+ levando assim, a formação de úlcera (Takayama *et al.*, 2011).

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) inibem a síntese de prostaglandinas (PG), mediante inibição das enzimas ciclooxigenase1 (COX-1) e ciclooxigenase2 (COX-2), desencadeando subgrupos de anti-inflamatórios seletivos e não seletivos para COX-2. A COX-1 converte o ácido araquidônico em prostaglandinas, responsável por funções protetoras da mucosa gástrica e homeostasia, enquanto a COX-2 está envolvida na produção de prostaglandinas que induz estímulos inflamatórios (Romaine; Loureiro; Da Silva, 2021)

As prostaglandinas (PG) auxiliam a proteção da mucosa, inibem a secreção de ácido gástrico, aumentam seu fluxo sanguíneo e promovem secreção do muco protetor. Durante uma resposta inflamatória a produção de PG aumenta antes do recrutamento de leucócitos e da infiltração de células imunológicas. Assim, a produção de PG depende da atividade das enzimas COX-1 e a COX-2 e no caso do uso crônico dos AINEs, ocorre a inibição das enzimas COX-1 e COX-2, que impedem a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas e causam desequilíbrio e redução de todas as defesas contra a secreção ácida, dificultam o reparo tecidual e a neutralizam do ácido clorídrico no trato gastrointestinal, o que acarreta na formação de úlcera (Elias, 2022).

A sintomatologia da úlcera gástrica é caracterizada pelo desconforto epigástrico, queimação, dores intensas e contínuas. Pode apresentar também náuseas, vômitos, desconforto gastrointestinal, além de perda de peso (Nieto, 2012).

3.4 Tratamento convencional da Úlcera Gástrica

O tratamento convencional de úlcera gástrica dispõe de duas classes de fármacos: redutores da secreção gástrica (seja por inibição ou neutralização) e os protetores de mucosa. Os fármacos que agem na redução da secreção gástrica são os antagonistas dos receptores H_2 que suprimem a secreção de HCl promovida pela histamina. Antiácidos neutralizam a acidez no estômago. Os inibidores da bomba de prótons bloqueiam a via comum final da secreção de HCl. Recentemente uma nova terapia vem apresentando uma inibição ainda mais intensa do ácido gástrico que são os inibidores de bomba de potássio (Araruna 2016; Laine *et al.*, 2023)

A outra classe de fármacos utilizados são os que estimulam os mecanismos protetores da mucosa. O sucralfato que se liga ionicamente às proteínas nas lesões formando uma barreira física, os análogos de prostaglandinas que estimulam a secreção de muco e bicarbonato e os compostos de bismuto que criam uma camada de proteção na úlcera, protegendo contra o excesso de HCl (Paiva *et al.*, 2021; Serrano-Román *et al.*, 2023)

Os antiácidos neutralizam o ácido estomacal. Os mais utilizados são os sais de magnésio, alumínio, bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio que atuam elevando de forma rápida o pH intragástrico. Porém, são pouco utilizados para terapia primária de acidez gástrica por apresentar efeitos adversos como: diarreia, prisão de ventre, assim como interferência na absorção de outros fármacos (Rang *et al.*, 2012).

Os antagonistas dos receptores H_2 foram a primeira classe de medicamentos utilizados no tratamento de úlcera, tendo destaque a cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina. Esses fármacos inibem de forma seletiva a secreção de ácido gástrico, bloqueando competitiva e reversivelmente a ligação da histamina aos receptores H_2 das células parietais, reduzindo assim a secreção gástrica. No entanto, apresentam efeitos adversos que podem interferir na absorção de outros fármacos (Silva *et al.*, 2022).

Os Inibidores de Bomba de Prótons (IBPs) surgiram por volta de 1980, com a finalidade de reduzir a secreção ácida gástrica, minimizar a acidez estomacal e evitar os danos a mucosa local (Rosa *et al.*, 2023). Representam a classe de medicamentos mais prescrita no tratamento de úlcera pois bloqueiam a etapa final da secreção ácida e produzem uma supressão ácida mais eficaz do que os antagonistas H_2 (Jorge *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, observa-se um aumento exacerbado na prescrição dos IBPs, bem como, seu uso prolongado, o qual pode acarretar o surgimento de efeitos adversos mais graves aos pacientes como náuseas, vômitos, dores abdominais além do risco de ulceração do trato gastrointestinal (Morschel; Mafra; Eduardo, 2018; Ribeiro *et al.*, 2023).

Nesse sentido, estudos recentes evidenciam uma nova classe de medicamentos chamada de bloqueadores ácidos competitivos de potássio: o Vonoprazan, possibilita inibição competitiva da ligação de íons de potássio a H⁺K⁺-ATPase na etapa final de secreção ácida em células parietais gástricas. Uma das vantagens do Vonoprazan é o seu tempo de meia-vida mais longo, com isso, não apresenta restrição no momento da administração como os inibidores de bomba de prótons, além de ligarem-se a bomba de prótons ativa e inativa, o que torna uma inibição mais potente que os IBPs (Brandão *et al.*, 2019; Laine *et al.*, 2023).

Devido à alta incidência de efeitos colaterais provocados por estes medicamentos, faz-se necessário a busca por novos agentes antiulcerogênicos tão eficazes e seguros quanto os medicamentos já conhecidos (Braz; Oliveira; Viana, 2013)

3.5 Plantas Medicinais

O uso de plantas medicinais é considerado uma das práticas mais antigas utilizadas pela população, onde os compostos de origem vegetal são utilizados como matéria prima na produção de medicamentos (Salmerón-Manzano; Garrido-Cardenas; Manzano-Agugliaro, 2020). O Brasil é um país que oferece uma grande biodiversidade vegetal, em especial a Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro que vem sendo um ambiente atrativo para estudo de desenvolvimento de novos fitoterápicos, por apresentar uma diversidade de plantas potencialmente bioativas (Chacon *et al.*, 2021)

A OMS define as plantas medicinais como sendo espécies vegetais utilizadas na medicina popular como uma alternativa para recuperação da saúde, onde seus benefícios terapêuticos são atribuídos de acordo com a presença de constituintes bioativos nos quais, muitos, são empregados no desenvolvimento e produção de medicamentos (Brasil, 2006).

Os constituintes presentes na planta não estão distribuídos de maneira uniforme, em grande parte, estão em maior concentração em algumas partes da planta do que em outras, por exemplo nas folhas, raízes, flores, caule. Com isso, é importante utilizar parte da planta a qual apresente as maiores de fitoquímicos bioativos (Wenzig, 2015).

Mazzolin (2013) relata que muitos estudos envolvem plantas que apresentam potencial sobre o estresse oxidativo presente em diversas patologias do trato gastrointestinal. Dessa

forma, os produtos naturais representam uma fonte promissora de novas moléculas farmacologicamente ativas no tratamento e prevenção de doenças do trato gastrointestinal.

O Nordeste brasileiro é caracterizado pelo bioma caatinga, apresentando-se como uma região promissora para a indústria farmacêutica visto que dispõe de uma diversidade de plantas com propriedades medicinais. É nesse contexto, que a *Spondias mombin* é o objeto deste estudo.

3.6 *Spondias Mombim*

A *Spondias mombin* L. é uma espécie pertencente à família Anacardiaceae. Nativa no Brasil, encontrada principalmente nas regiões do Norte e Nordeste. É uma árvore frutífera, podendo ultrapassar 20m de altura e 60-75cm de diâmetro no tronco, apresentando casca grossa. As folhas tem cerca de 20-45cm de comprimento, que caem em sua maioria em época de floração. O fruto é uma drupa amarela, ovoide, aromática com tamanho de 3-4cm de comprimento e até 2,5 cm de largura (Clementino, 2014).

Figura 4 - Árvore da espécie *Spondias mombin*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

É popularmente chamado de cajá, taperebá, cajá verdadeiro e cajá-mirim. O fruto despertou o interesse dos pesquisadores por apresentar um alto potencial antioxidante e um alto teor de bioativos. As folhas são usadas para o tratamento de doenças inflamatórias e gastrointestinais (Bailão *et al.*, 2015; Brito, 2019).

As folhas e flores são utilizadas na medicina popular na forma de chás e infusões como anti-inflamatórios e analgésicos, contra dores e desconfortos estomacais (Maduka *et al.*, 2014). Estudos prévios realizados por demonstraram que o extrato etanólico bruto da espécie *Spondias mombin* L apresenta atividade gastroprotetora significativa, tornando-se relevante na produção de um novo medicamento fitoterápico.

Estudos fitoquímicos preliminares descrevem a presença de diversas classes de metabólitos secundários presentes na espécie, sendo a maioria investigados nos extratos obtidos das folhas, seguido dos frutos e ainda que pouco relatados nas cascas do caule e flores. Os principais compostos identificados são flavonoides, fenólicos e taninos (Siqueira, 2021).

Os flavonoides são o grupo de metabólitos secundários mais encontrados nos produtos vegetais, uma maior relevância nos estudos farmacológicos (Panche; Diwan; Chandra, 2016). Estudos *in vivo* e *in vitro* já revelaram suas atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais, anticancerígenas e neuroprotetoras, atribuídas a sua capacidade de sequestrar os radicais livres, evitando o estresse oxidativo que desencadeia todos os distúrbios citados acima (Cavalcante, 2022).

Apesar do avanço do uso de plantas medicinais para fins terapêuticos, não significa necessariamente que venham tornar-se fitoterápicos disponíveis comercialmente. Isso se deve ao fato de que utilização de plantas normalmente não apresenta padronização. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento e caracterização da mesma, de forma que garanta as especificações de qualidade e critérios de eficácia e segurança do material (Brandão *et al.*, 2016)

3.7 Caracterização de Droga Vegetal

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26 de 13/05/2014 publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são definidos como medicamentos produzidos a partir do uso exclusivo de matérias-primas ativas vegetais com eficácia e segurança, com isso, torna-se necessária a padronização da droga vegetal onde o teor de seus princípios ativos é estabelecido dentro de critérios de qualidade (Brasil, 2014).

A etapa inicial dos estudos com plantas medicinais envolve a coleta e correta identificação da espécie, incluindo preparação da espécie e depósito em herbário. Os metabólitos secundários são os principais compostos que contribuem para a atividade farmacológica dos produtos naturais, com isso, é importante realizar a coleta no tempo correto, respeitando os horários e a época ideal, afim de obter-se a classe de substâncias que se pretende extrair em maior quantidade (Correia *et al.*, 2023).

Atualmente têm-se observado um aumento no uso de plantas medicinais pela população em geral, assim como o aumento de pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de fitoterápicos. O procedimento inicial realizado para controle de qualidade de plantas medicinais é a caracterização do Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal (IFAV). Visando o fortalecimento da atenção básica, no Brasil, a fitoterapia é classificada como uma prática integrativa e complementar do Sistema Único de Saúde em atendimento à Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (Lombardo, 2021; Sushma *et al.*, 2011).

Após a etapa de coleta e identificação, os processos de secagem e moagem são de fundamental importância, evitando a contaminação microbiológica pela presença de umidade do material, melhorando assim, o processo extrativo. O processo utilizado para secagem, influencia no rendimento dos compostos bioativos, mantendo assim sua atividade biológica (Fernandes, 2017).

Afim de produzir medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinais, a matéria-prima é submetida a processos até a forma de extrato, no qual permite uma maior concentração do princípio ativo, além de representar custo relativamente baixo. No entanto, afim de evitar a deterioração de substâncias químicas, contaminação microbiológica e garantir a estabilidade do material, uma alternativa é a retirada parcial ou total do solvente, produzindo assim, extrato seco, também chamado Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal (IFAV) (Lopes *et al.*, 2020).

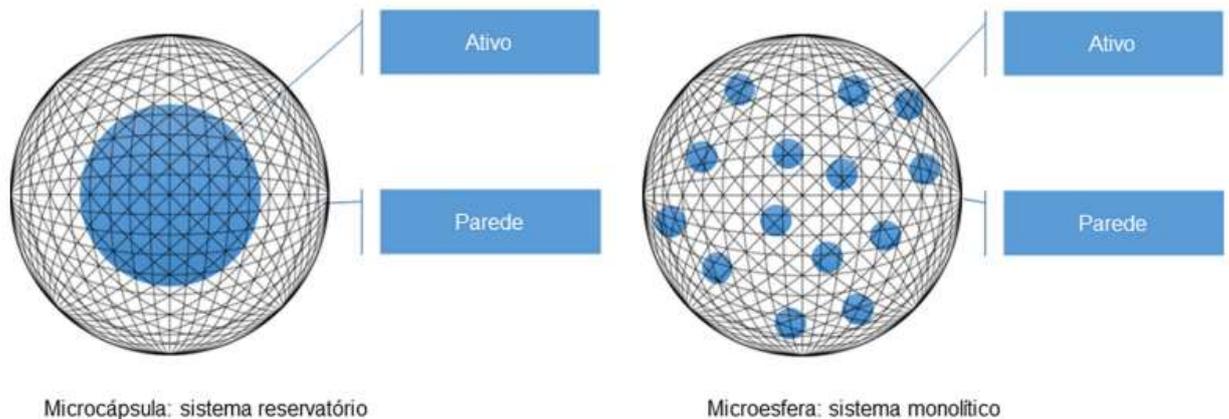
Para extração dos compostos bioativos das espécies vegetais, são utilizados solventes orgânicos. Apesar de apresentarem eficiência na extração, solventes como metanol, hexano, clorofórmio e acetona apresentam algumas restrições por serem inflamáveis, tóxicos e altamente nocivos ao meio ambiente. Nesse sentido, a Química verde foi uma descoberta promissora nos últimos anos, pois revelou solventes que oferece menor impacto tanto para o meio ambiente bem como para o operador, tendo como destaque a água e o etanol que são considerados os mais clássicos (Carvalho, 2023).

3.8 Micropartículas poliméricas como sistema de liberação de fármacos

As micropartículas são desenvolvidas utilizando matrizes poliméricas biodegradáveis que apresenta propriedades que possibilita liberação controlada, melhorando assim aplicações da administração de medicamentos e outras aplicações no campo farmacêutico. Além disso, são utilizadas em sistemas tópicos de liberação de fármacos devido a sua capacidade de proteger os princípios ativos da degradação (Liang *et al.*, 2017; Prajapati *et al.*, 2019).

Apresenta diâmetro médio entre 1 e 1000 μm e são divididas em dois tipos de estruturas: microesferas e microcápsulas. As microesferas são definidas como sendo um sistema onde o princípio ativo fica em uma matriz, presa entre polímeros sem um envoltório. Diferente das microcápsulas, que apresenta um sistema reservatório, onde o princípio ativo é concentrado no núcleo, enquanto o polímero envolve o material (Brito, 2019). A figura 5 representa a estrutura das partículas microencapsuladas na forma de microcápsulas e microesferas:

Figura 5 - Representação das Micropartículas nas formas de Microcápsulas e Microesferas



Fonte: Pereira *et al.*, 2018

Entre os biopolímeros utilizados para produção de micropartículas, destacam-se os poliésteres alifáticos, formados por unidades monoméricas de ácido lático e ácido glicólico poli D, L-lactídeo-co-glicolídeo (PLGA) que em geral, são polímeros biocompatíveis e biodegradáveis (Peniche *et al.*, 2017).

Dentre os biopolímeros mais utilizados, a quitosana tem destaque pela sua baixa toxicidade e por ser um polímero que responde a pH ácido é bastante utilizada como carreador no tratamento de patologias que acidificam os tecidos como as inflamações, devido sua

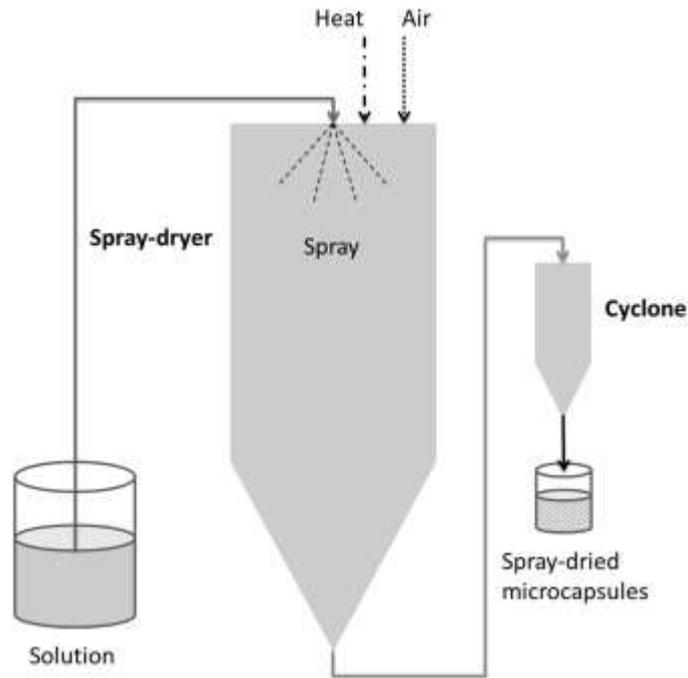
capacidade de acelerar a cicatrização ao mediar efeitos inflamatórios, ativando as células do sistema imune (Barros, 2018).

Lyra (2016) destaca algumas vantagens do uso de micropartículas poliméricas em sistemas de liberação modificada de fármacos: proteção de reações de degradação como oxidação e hidrólise, proteção de substâncias instáveis ou sensíveis ao ambiente, aumento da biodisponibilidade e solubilidade do fármaco, modulação da liberação, obtendo assim uma liberação prolongada, retardada e sítio-específica do fármaco.

Entre os métodos mais comuns para a produção de micropartículas, destacam-se a dupla emulsão e coacervação. No entanto, são processos que apresentam algumas limitações. O processo de coacervação, pode apresentar formação de aglomerados de grandes diâmetros, o que pode atrapalhar a produção em larga escala. Já o método de dupla emulsão torna-se inviável pois realizado em muitas etapas, necessita de um controle de temperatura e viscosidade, além de utilizar uma grande quantidade de solventes orgânicos (Silva, 2017).

A secagem por atomização (*spray drying*) é a técnica mais antiga de encapsulamento, utilizada principalmente nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Envolve as etapas de atomização, formação da gotícula, evaporação da água e separação do produto seco/úmido. É uma operação aplicável a materiais sensíveis e resistentes ao calor, sendo considerada também uma operação econômica, flexível, contínua e controlada automaticamente. (Alencar, 2020; Estevinho *et al.* 2013). A figura 6 ilustra um esquema operacional do processo de secagem por atomização.

Figura 6 - Esquema operacional de secagem com *Spray Dryer*



Fonte: Estevinho *et al.* (2013)

O material a ser encapsulado encontra-se na forma líquida juntamente do polímero, nos quais podem estar dispersos na forma de solução, dispersão ou suspensão. Normalmente, é realizado um processo de agitação, antes da secagem do material, para que os solutos se mantenham homogêneos no líquido para que as partículas obtidas também sejam homogêneas. Ao final do processo, o pó proporciona estabilidade física, química e microbiológica do material formado (Gelfuso *et al.*, 2009; Veiga, 2019).

A partir dos resultados já obtidos por nosso grupo de estudo em relação a atividade gastroprotetora do extrato de *S. mombin* e elencando a potencialidade da aplicação de sistemas microparticulados como carreadores para derivados vegetais, esse estudo realizou o desenvolvimento de uma micropartícula contendo o extrato de *S. mombin*, avaliando sua atividade gastroprotetora, bem como a toxicidade do extrato utilizando a dosagem em 28 dias repetitivos.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta e preparação do material vegetal

As folhas de *Spondias Mombin* foram coletadas em Março/2021 no município de Matinhas, localizado na região semiárida da Paraíba, com geolocalização 7°06'20"S 35°46'36"W. A excisata foi preparada e identificada no herbário Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM), da Universidade Estadual da Paraíba, sob o número 003238.

Após a coleta, as folhas foram lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 2%, o excesso de água após a lavagem foi retirado com papel toalha, resultando 1561,37g de folhas para secagem. O material vegetal foi desidratado em estufa de circulação de ar (TECNAL modelo TE-394/2 MP) com temperatura controlada (30°C) até peso constante e pulverizado utilizando moinho de quatro facas móveis e quatro fixas, modelo SL31 - Marca Solab. Após o processamento, a droga vegetal foi armazenada em frasco de polietileno branco fosco.

4.2 Controle de Qualidade da droga vegetal

O controle de qualidade da droga vegetal foi determinado por meio de testes de controle de qualidade de acordo com os testes adaptados da Farmacopeia Brasileira (2010). Foram realizados ensaios físico-químicos de determinação da granulometria dos pós, determinação da perda por dessecação, determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido, densidade aparente e compactada, índice de intumescência e determinação do pH.

4.2.1 Tamanho médio de partícula

Uma alíquota de 25 g foi submetida à peneira granulométrica da marca Bertel (Caieiras, São Paulo, Brasil) com vibração de intensidade 4, durante 15 minutos em velocidade média. Foram utilizadas malhas com aberturas de 710, 355, 180, 150, 75 e 38 µm. Em seguida, foi calculado o tamanho médio das partículas em função da distribuição das massas nos tamises.

$$\% \text{ Retida no tamis} = (P1 / P2) \times 100$$

Onde: P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas);

100 = Fator de porcentagem

A droga vegetal obtida nestas diferentes granulometrias foi acondicionada separadamente em frascos de polietileno branco fosco, nomeados de SM01 a SM06 (SM01, SM02, SM03, SM04, SM05 e SM06), seguindo a ordem decrescente de tamanho de partículas, onde a partícula SM01 é a de maior tamanho e a SM06 de menor, e armazenados em temperatura ambiente, em média 25 °C sob abrigo de luz e umidade.

4.2.2 Densidade aparente

Amostras de 10 g (n=3) da droga vegetal total e de cada tamanho de partícula obtido foram pesadas, transferidas para provetas de 50 mL nas quais foram avaliados o volume ocupado. O cálculo da densidade é realizado utilizando a razão massa/volume. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3 Densidade compactada

Amostras de 10 g (n=3) da droga vegetal total e de cada tamanho de partícula obtido transferidas para provetas de 50 mL e submetidas a 1250 batidas em superfície plana, para posterior avaliação do volume ocupado pela droga vegetal. O cálculo da densidade foi realizado utilizando a razão massa/volume. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4 Perda por dessecação

Amostras de 1 g (n=3) da droga vegetal total e de cada tamanho de partícula obtido foram transferidas para um pesa-filtro previamente dessecado durante 30 minutos com tampa. As amostras foram distribuídas de forma mais uniforme possível contendo a amostra pesada e submetidas ao aquecimento em estufa a 110 °C por 5 horas. Em seguida o material foi pesado e verificado o percentual de perda. As análises foram realizadas em triplicata. A perda por dessecação é obtida por meio do seguinte cálculo:

$$\text{Perda por dessecação (\%)} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100$$

Onde: P_a = peso da amostra;

P_u = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação;

P_s = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação

4.2.5 Determinação do pH

Foi preparada uma infusão a 1% (n=3) da droga vegetal total e de cada tamanho de partícula. Após o resfriamento, o pH foi determinado em um potenciômetro previamente calibrado da marca Gehaka, modelo PG 1800. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6 Determinação de Cinzas totais

Para determinação de cinzas totais em um cadinho previamente tarado, foi pesado 3,0 g da droga vegetal total e de cada tamanho de partícula, distribuídas uniformemente, sendo incinerados, aumentando-se gradativamente a temperatura até o máximo de 600 ± 25 °C, até que todo o carbono tenha sido removido. A amostra foi resfriada em dessecador e pesada. As análises foram realizadas em triplicata. A porcentagem de cinzas totais é calculada em relação ao peso da droga vegetal, segundo a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Cinzas totais} = \frac{Pr - Pv}{Pa} \times 100$$

Onde: Pr = peso do cadinho + resíduo da amostra;

Pv = peso do cadinho vazio;

Pa = peso da amostra.

4.2.7 Cinzas insolúveis em ácido

As cinzas totais obtidas na etapa anterior foram aquecidas à ebulição por 5 minutos. Após secagem, o material foi filtrado em papel isento de cinzas e calcinado (500 °C) por 4 horas. Após resfriamento, o material foi pesado e as cinzas insolúveis em ácido são calculadas. As análises foram realizadas em triplicata. A porcentagem de cinzas insolúveis será calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ Cinzas insolúveis} = \frac{Pr - Pv}{Pa} \times 100$$

Onde: Pr = peso do cadinho + resíduo da amostra;

Pv = peso do cadinho vazio;

Pa = peso da amostra

4.2.8 Índice de Intumescência

Foi adicionado 1 g da droga vegetal (n=3) em uma proveta e acrescida com 25 mL de água destilada. A proveta foi agitada a cada 10 min por 1 hora, permanecendo em repouso por

3 horas. A diferença entre o volume ocupado pela droga no início e no final do teste forneceu a intumescência.

4.3 Preparação do Extrato

O extrato hidroalcolólico foi obtido por meio de extração por maceração. No total, foram utilizadas 236,14g de droga vegetal, a qual foi adicionada em um Becker juntamente do solvente. Utilizando a metodologia realizada por Araruna (2016) a proporção utilizada foi de 20g de droga vegetal para 100 mL de álcool etílico a 70% (v/v), a qual foi submetido à extração pelo método de maceração durante o período de 72 horas. Ao término da extração, o extrato foi filtrado e submetido a um processo de concentração em rotaevaporador. Em seguida, o extrato foi vertido em placas de petri e submetido à secagem em estufa à temperatura de 40°C durante o período de 72 horas. Por fim, o extrato foi triturado à forma de pó e armazenado.

4.4 Quantificação de Flavonoides Totais

A presença de flavonoides totais presentes no extrato foi determinada por meio de espectrofotometria. Os comprimentos de onda foram escolhidos a partir de registros descritos em metodologias de referência com comprimento de onda de maior absorbância para flavonoides totais.

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 3 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, de quercetina, analisadas no espectrofotômetro, para a leitura da absorbância em 415 nm. As leituras das amostras do extrato vegetal foram realizadas na presença de soluções do cloreto de alumínio relacionando os valores de absorbância encontrados com a concentração de flavonoides da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

Foram distribuídas em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de AlCl_3 2% (p/v), em seguida 1,5 mL de solução metanólica do extrato. Os tubos ficaram em repouso por 10 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). As medidas foram obtidas no comprimento de onda de 415 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorbância espectral, obtida através da curva de calibração. Os valores são expressos em equivalentes de quercetina.

4.5 Produção de micropartículas

Com base no método de Quintão (2016), as micropartículas foram produzidas por meio de *spray drying*. Inicialmente, 5g de quitosana foi dissolvida em solução aquosa com 1 % (v / v) de ácido acético, em seguida, foi incorporado 15g de extrato. Como adjuvante de secagem, foi utilizado 11,3g de Aerosil. A solução foi deixada sob agitação em agitador magnético pelo período de 24 horas. A solução final foi submetida ao *spray dryer* em um fluxo de 6 ml / minuto, com um bico atomizador pressurizado de 1,0 mm de diâmetro, com ar de atomização a 30 L / minuto. O fluxo de ar quente de secagem foi utilizado com a temperatura de 140 °C e de saída do ar ~ 98 °C.

4.5.1 Rendimento de Micropartículas obtidas

O rendimento do processo de obtenção das micropartículas obtidas foi calculado por meio da razão entre a massa seca obtida de micropartículas e a soma dos componentes utilizados na sua composição, de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{Q_f}{Q_i}$$

Onde: Q_f = Quantidade de micropartículas obtidas

Q_i = Quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação

4.6 Testes *in vivo*

4.6.1 Avaliação de toxicidade de doses repetidas por 28 dias

A avaliação dos efeitos toxicológicos de doses repetidas do extrato hidroalcolico de *S. mombin* foi realizada de acordo com a Diretriz 407 da OECD. Os animais foram divididos em seis grupos (três grupos com 6 machos e três grupos com 6 fêmeas). Os animais foram tratados diariamente via oral com o extrato em dosagem já utilizada pelo grupo de estudo (250 e 500 mg.kg⁻¹) e o grupo controle recebeu o veículo (10 mL.kg⁻¹ de solução salina). Durante o teste, os animais foram observados diariamente e pesados semanalmente para ajuste da dose caso necessário. Após a exposição, os camundongos foram anestesiados para que fosse realizada a coleta de sangue por punção cardíaca para determinação de parâmetros hematológicos e bioquímicos.

As análises bioquímicas e hematológicas foram realizadas com a colaboração do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) da UEPB.

Após a coleta do sangue, os animais foram eutanasiados e removidos os órgãos de interesse (coração, baço, fígado, rins e estômago) o qual foram pesados, identificados e armazenados em potes coletores com Formol a 10% para prosseguir com as análises macroscópicas e histopatológicas.

4.6.2 Avaliação da atividade gastroprotetora

Para a comprovação do potencial terapêutico da formulação obtida, foi realizada a indução de úlcera gástrica em camundongos machos e fêmeas. Após jejum de 4 horas, os animais foram tratados oralmente com salina, lansoprazol (30mg.kg⁻¹), o extrato (250 e 500 mg.kg⁻¹) e a micropartícula (250 e 500 mg.kg⁻¹). Sessenta minutos após os tratamentos foi administrado etanol absoluto (0,2 mL/animal v.o), conforme descrito por Morimoto *et al.*, (1991). Uma hora após a administração do agente necrotizante, os animais foram eutanasiados e os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura e fotografados para determinação da área da lesão ulcerativa utilizando o Software ImageJ.

4.7 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média e analisados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e teste T de Student ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da droga vegetal

A caracterização da droga vegetal é um requisito determinado no controle de qualidade de fitoterápicos, de forma que, garantem a segurança e eficácia de medicamentos (Gutiérrez, 2021). O uso de folhas na medicina popular está relacionado a sua facilidade de manuseio bem como seu baixo custo, com isso, avaliar as propriedades e substâncias presentes nas mesmas, contribui para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas (Aleluia *et al.*, 2017).

A partir da análise visual das folhas coletadas (Figura 7), foi possível constatar características como coloração verde vibrante, tamanho foliar médio e odor agradável. Em seguida, as folhas foram distribuídas em bandejas para secagem em estufa de circulação de ar para melhor favorecer o processo de desidratação de maneira uniforme como apresentado na figura 8.

Figura 7 - Etapas de pesagem e secagem do material vegetal



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Legenda: (A) Folhas de *Spondias Mombin*; (B) Distribuição das folhas em bandejas; (C) Folhas distribuídas antes do processo de secagem; (D) Processo de secagem das folhas em estufa de circulação de ar.

Após o processo de secagem, as folhas apresentaram uma mudança na coloração, a qual observou-se uma coloração verde clara, característico do processo de secagem da planta. As

folhas foram preparadas para serem trituradas, permitindo uma melhor uniformidade no tamanho das partículas, sendo reduzidas a forma de pó, como demonstrado na figura 10. A perda de massa foi de 66,26%, obtendo-se após trituração rendimento final de 526,71g da droga vegetal, o que corrobora com os resultados de Barbosa e Santos (2021).

Figura 8: Folhas secas e após o processo de moagem



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Legenda: (A) Folhas após o processo de secagem; (B) Resultado final da droga vegetal.

Essas etapas de pré-extração que envolvem a coleta, lavagem, secagem em estufa e a etapa de moagem, são de fundamental importância, e esta última favorece o aumento do contato superficial entre amostras e solventes no processo de extração (Gori *et al.*, 2021).

5.1.1 Tamanho médio de partícula

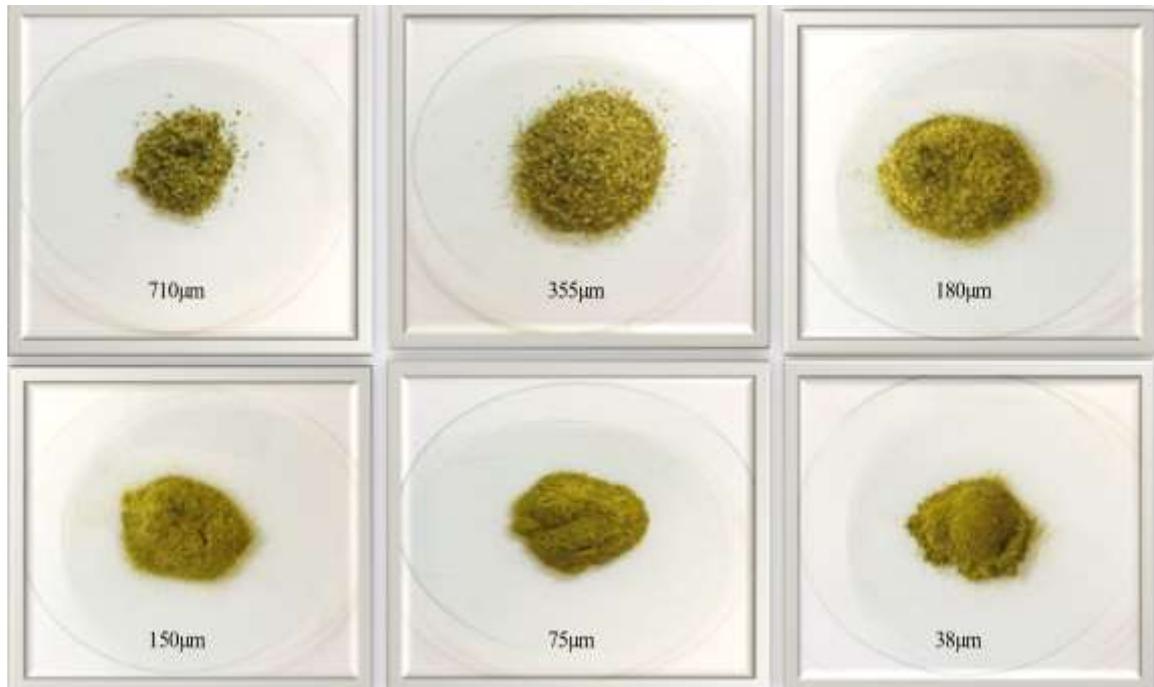
Após a análise granulométrica, apresentada na tabela 1, constatou-se que a maior retenção de pó ocorreu nas malhas 75 μ m (32,93%) e 180 μ m (32,15%). De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019) o pó é classificado como semifino, pois suas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 355 μ m e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μ m.

Tabela 1 – Análise granulométrica da droga vegetal de *Spondias Mombin*

Tamis (μm)	Massa retida(g)	% Retida
710	0,44	1,80
355	5,23	21,39
180	7,86	32,15
150	2,27	9,28
75	8,05	32,93
38	0,59	2,41
Coletor	0,01	0,04

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Os diferentes tamanhos de partículas podem ser observados na figura 9.

Figura 9- Tamanhos de partículas obtidos a partir da análise granulométrica da droga vegetal

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

A granulometria é uma importante etapa para a caracterização de droga vegetal afim de permitir a determinação da superfície de contato para a interação com solventes utilizados na obtenção de extratos (Baby *et al.*, 2005). Afim de obter-se informações relevantes para desenvolvimentos de formulações futuramente, também foi realizada a análise de cada parâmetro descrito para cada tamanho de partícula, o tamanho de partícula SB06 não foi utilizado na caracterização devido rendimento insuficiente.

5.2 Controle de qualidade da droga vegetal

Os resultados dos testes físico-químicos de caracterização da droga vegetal das folhas de *Spondias mombin* encontra-se dispostos na tabela 2.

Tabela 2- Características físico-químicas da droga vegetal de *Spondias Mombin*

Testes	Média ± Desvio padrão
Densidade Aparente	0,3303 ± 0,0127
Densidade Compactada	0,4320 ± 0,0056
Intumescência	1,3 ± 0,75
pH	3,99 ± 0,02
Dessecação	10,13 ± 0,12
Cinzas (%)	6,24 ± 0,08
Cinzas Insolúveis em Ácido (%)	1,45 ± 0,14

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

A figura 10 demonstra os testes físico químicos realizados a partir da droga vegetal de *Spondias Mombin*.

Figura 10 - Caracterização físico-química da droga vegetal de *Spondias Mombin*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Legenda: (A) Densidade aparente da droga vegetal; (B) Densidade compactada da droga vegetal; (C) Teste de intumescimento da droga vegetal; (D) Teste de perda de dessecação da droga vegetal; (E) Determinação de pH da droga vegetal.

5.2.1 Densidade aparente

A avaliação da densidade aparente em droga vegetal é estabelecida pela RDC n. 14/2010 ANVISA, a qual permite a manipulação correta na produção de fitoterápicos como cápsulas e comprimidos, por exemplo. Os valores médios da densidade aparente de cada partícula e da droga vegetal total se encontram na tabela 3.

Tabela 3- Densidade aparente obtida nos diferentes tamanhos de partículas

Partícula	Densidade aparente (g/ml)
SM 01	0,2041 ± 0,0005
SM 02	0,2036 ± 0,0022
SM 03	0,2512 ± 0,0041
SM 04	0,2599 ± 0,0047
SM 05	0,2632 ± 0,0038
Droga vegetal total	0,3303± 0,0127

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

A Farmacopeia Brasileira (2010) não define valores para a Densidade aparente, no entanto, é um dos testes aplicados a drogas vegetais. Os resultados apresentaram uma variação de 0,2041 g/mL dos tamanhos de partícula SM 01 e SM02 e de 0,2632g/mL do tamanho de partícula SM 05.

O maior valor de densidade aparente foi encontrado na avaliação da droga vegetal total, apresentando um valor de 0,3303 g/mL. Esse resultado se assemelha ao encontrado por Fernandes (2017), o qual apresenta a densidade aparente da droga vegetal de *Spondias dulcis* Forts (cajarana) de 0,37g/ml para a droga vegetal total.

5.2.2 Densidade compactada

A densidade compactada não apresenta valores de referência na Farmacopeia Brasileira (2010), no entanto, é uma caracterização para fins de controle de qualidade. A densidade compactada é influenciada pela forma e o tamanho que as partículas apresentam quando submetidas as batidas. Nossos resultados mostram que à medida que o tamanho de partícula aumenta, aumenta também o valor de sua densidade compactada, como apresentado na tabela 4.

Tabela 4- Densidade compactada obtida nos diferentes tamanhos de partículas

Partícula	Densidade Compactada (g/ml)
SM 01	0,2503 ± 0,0003
SM 02	0,2777 ± 0,0073
SM 03	0,3336 ± 0,0164
SM 04	0,3603 ± 0,0045
SM 05	0,4003 ± 0,0200
Droga vegetal total	0,4320±00056

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

O maior tamanho de partícula SM 05 apresentou o valor de densidade compactada (0,4003 g/ml) e o menor tamanho de partícula SM 01 o valor de 0,2503 g/ml. A droga vegetal total apresentou o maior valor (0,4320 g/ml), podendo ser justificada pelos diferentes tamanhos de partículas dispostos, sendo assim, à medida que o tamanho de partícula é menor, área superficial muda, e maior é sua densidade.

5.2.3 Perda por dessecação

De acordo com os valores de referência da Farmacopeia Brasileira (2010), o teor de água para drogas vegetais encontra-se entre 6 e 15% (tabela 5), com isso, observa-se que tanto o valor obtido da dessecação utilizando a droga vegetal total, quanto nos tamanhos de cada partícula obtida encontram-se dentro das especificações, indicando um padrão de qualidade.

Tabela 5- Perda de dessecação obtida nos diferentes tamanhos de partículas

Partícula	Dessecação (%)
SM 01	10,58±0,09
SM 02	10,64±0,12
SM 03	9,95±0,10
SM 04	10,37±0,30
SM 05	9,66±0,34
Droga vegetal total	10,13±0,12

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

O excesso de umidade presente numa droga vegetal pode aumentar o risco de contaminações microbiológicas e possíveis ações enzimáticas, como indica Alvarenga *et al* (2017) em seu trabalho utilizando folhas de *Cymbopogon citratus* (DC).

5.2.4 pH

O pH do da droga vegetal de *S. mombin* apresentou uma variação entre 4,52 a 4,67 entre os tamanhos de partícula e de 3,99 na avaliação da droga vegetal total, como mostrado na tabela 6.

Os valores encontrados indicam que a droga vegetal apresenta propriedades ácidas, que estão relacionadas a sua composição química.

Tabela 6 - Determinação de pH obtido nos diferentes tamanhos de partículas

Partícula	pH
SM 01	4,66±0,04
SM 02	4,67±0,01
SM 03	4,62±0,01
SM 04	4,52±0,03
SM 05	4,62±0,03
Droga vegetal total	3,99±0,02

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

Em estudo realizado por Fernandes (2017) a caracterização de droga vegetal da espécie *Spondias dulcis* também apresentou caráter ácido, o que sugere a presença de metabólitos ácidos em sua composição, bem como os resultados apresentados por Cordeiro (2019) o qual obteve pH de 2,95 do extrato hidroetanólico de *Spondias mombin*.

5.2.5 Cinzas Totais

A determinação de Cinzas totais possibilita averiguar impurezas inorgânicas não-voláteis que podem estar em contato com o material vegetal possibilitando contaminar o mesmo. Os resultados da determinação das cinzas totais das partículas de *S. mombin* estão dispostos na tabela 7.

Tabela 7- Teor de cinzas totais obtidos em diferentes tamanhos de partículas

Partícula	Cinzas Totais (%)
SM 01	5,26±0,01
SM02	5,50±0,05
SM03	5,93±0,05
SM04	6,48±0,03
SM05	6,96±0,04
Droga vegetal total	6,24±0,08

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

De acordo com a farmacopeia brasileira (2019) os valores os teores de cinzas devem estar entre 3 e 15%, com isso, é possível verificar que os valores obtidos encontram-se dentro das especificações sendo o menor teor de cinzas observado no maior tamanho de partícula (5,26±0,01) e o maior teor de cinzas no menor tamanho de partícula (6,96±0,04), a análise realizada com a droga vegetal total apresentou um valor de (6,24 ±0,08) o que apresenta um valor médio em relação a análise de cada tamanho de particulado.

5.2.6 Cinzas Insolúveis em Ácido

As cinzas insolúveis em ácido indicam a presença de sílica nas drogas vegetais, sendo 3% o valor máximo permitido de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019). Os valores de cinzas insolúveis em ácido apresentaram uma variação entre 0,81 e 1,54 demonstrado na tabela 8. O valor de cinzas insolúveis em ácido referente a droga vegetal total foi de 1,45. Com isso, observa-se que os resultados se encontram dentro dos limites estabelecidos, indicando uma reduzida taxa de contaminação por sílica.

Tabela 8- Teor de cinzas insolúveis em ácido obtidas em diferentes tamanhos de partícula

Partícula	Insolúveis em Ácido (%)
SM 01	0,89±0,23
SM 02	0,81±0,07
SM 03	1,04±0,11
SM 04	1,49±0,05
SM 05	1,54±0,06
Droga vegetal total	1,45±0,14

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

Os parâmetros avaliados no controle de qualidade da droga vegetal de *Spondias mombin*, de acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira indicaram resultados satisfatórios, com isso, a droga vegetal do presente estudo apresenta viabilidade para produção de extrato e posterior desenvolvimento da formulação farmacêutica.

5.2.7 Intumescência

O índice de intumescência corresponde a medida do volume ocupado pelo intumescimento de 1g da droga, pela adição de água ou outro agente intumescente, sob condições definidas. Na tabela 9 estão os resultados obtidos pela análise de intumescência de cada tamanho de partícula e da droga vegetal total.

Tabela 9- Índice de intumescência obtida nos diferentes tamanhos de partículas

Partícula	Intumescência
SM 01	1 ± 0,57
SM 02	0 ± 0,57
SM 03	1 ± 0,54
SM 04	0 ± 0
SM 05	1 ± 1,52
Droga vegetal total	1,3±0,75

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados da Pesquisa expressos como média ± desvio padrão (n=3) (2023)

A intumescência foi baixa, o que indica a presença de pequenas quantidades de mucilagens e pectinas. Valores altos de intumescência indicam que essas substâncias aumentam seu volume quando entram em contato com solvente (Pietroluongo, *et al.*, 2021).

Silva (2016) realizou o teste de intumescência da droga vegetal total de *Spondias mombin*, obtendo $2,3 \pm 0,1$ mL, indicando que uma massa de 10 g de droga vegetal iria absorver cerca de 23,1 mL de água. Com isso, relatou que utilizar para extração um volume inferior ao volume de intumescimento, a recuperação do extrato pode ser prejudicada.

O teste de intumescência indica a capacidade de absorção do pó quando em contato com o sistema solvente, podendo influenciar na preparação dos extratos, sendo um parâmetro bastante utilizado em escala industrial auxiliando em processos extrativos na determinação do volume de solvente a ser adicionado durante a extração e nas dimensões do recipiente extrator a ser utilizado (Nóbrega, 2017).

Os parâmetros da droga vegetal total apresentaram semelhança aos valores encontrados nos diferentes tamanhos de partículas obtidos, dessa forma, podemos utilizar a droga vegetal em seu tamanho de partícula total, bem como, utilizar um tamanho em particular. Prosseguimos o estudo utilizando a droga vegetal em seu tamanho total de partícula.

5.3 Produção de Extrato Hidroalcoólico

Diante da variedade de técnicas que podem ser utilizadas nos processos extrativos, a maceração é uma técnica bastante utilizada por apresentar baixo custo operacional e energético, de fácil acesso, independe do uso de equipamentos, além de garantir as características dos compostos bioativos, garantindo sua estabilidade e biodisponibilidade (Pereira, 2021).

Após o processo de rotaevaporação, o extrato ainda apresentava consistência pastosa, dessa forma, foi vertido em placa de petri (Figura 11) e submetido a estufa para retirada do excesso de umidade em temperatura relativamente baixa para que não houvesse perda dos constituintes do extrato. Por fim, o extrato já seco foi triturado (Figura 12) para facilitar sua manipulação para os testes a serem realizados. Utilizamos 236,14g de droga vegetal e 1180,7ml de solvente. Após o processo de maceração, rotaevaporação e trituração do extrato seco, o rendimento total foi de 64g de extrato.

Figura 11 - Extrato de *Spondias mombin* obtido por rotaevaporação



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

O rendimento do extrato pode ser obtido por meio da razão entre a massa de extrato obtida e a massa de material vegetal utilizado. Dessa forma, o extrato apresenta um rendimento

de 27,10%, corroborando com os resultados de Cristofoli (2017), que realizou a extração hidroalcolica da folha de *Spondias Mombin* por meio de Soxleht e Ultrassom e obteve um rendimento de 23,5 e 30,5 respectivamente.

Figura 12- Processo de trituração do extrato de *Spondias mombin*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023)

Legenda: (A) Extrato de *Spondias mombin* após a secagem em rotaevaporador;
(B) Extrato de *Spondias mombin* seco e triturado

Gori *et al.* (2021) ressalta que a maceração é um método bastante conveniente o qual apresenta pouco consumo de energia, não apresenta efeito prejudicial sobre compostos termossensíveis, pode ser aplicada em larga escala, podendo ser utilizada em pequenas e médias empresas e em países em desenvolvimento.

Dal Santo *et al.* (2021) avaliaram o potencial do extrato hexânico da folha de cajazeira utilizando o método de extração por maceração para a atividade ansiolítica e antioxidante utilizando o modelo zebrafish demonstrando assim, efeito neuroprotetor.

Bossou e colaboradores (2020) avaliaram as atividades antioxidante e antibacteriana do extrato hidroalcolico das folhas de *Spondias mombin* também pelo método de maceração, observando-se a presença de metabólitos secundários como compostos fenólicos, flavonoides e taninos.

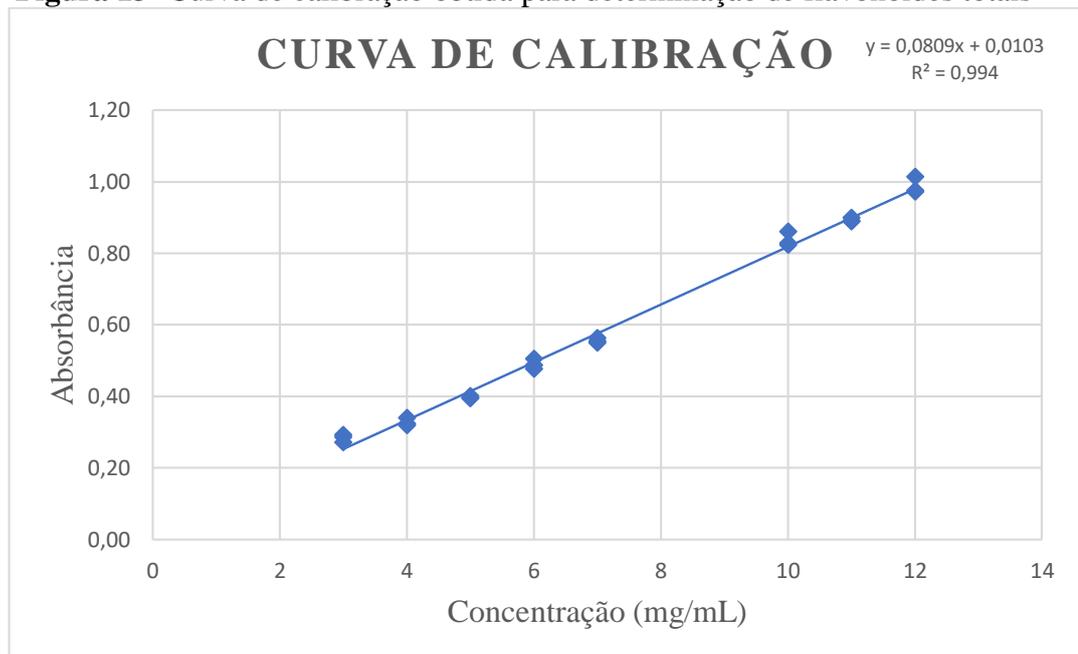
5.4 Quantificação de Flavonoides Totais

A espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) é um método de operação simples e de custo relativamente baixo bastante utilizado para a determinação de flavonoides. O método consiste em uma reação colorimétrica com cloreto de alumínio ($AlCl_3$)

para evitar a sobreposição dos compostos fenólicos que absorvem na mesma região, minimizando assim a baixa seletividade do método (Souza, 2017).

A quantificação de flavonoides do extrato foi realizada utilizando quercetina como padrão externo para a construção da curva padrão. A linearidade foi determinada através da construção da curva da solução padrão nas concentrações entre 3 e 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A curva obtida demonstra que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do marcador na amostra. A equação da reta dos dados obtidos para quercetina apresentaram o coeficiente de correlação (R^2) de 0,994, observado na Figura 13. Após o cálculo pela equação da reta foram obtidos valores de flavonoides totais para o extrato.

Figura 13- Curva de calibração obtida para determinação de flavonoides totais



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

A partir dos valores da curva de calibração foram estimados os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD). Os valores de LQ e LD foram 0,2798 e 0,0923 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. O valor de flavonoides totais foi obtido pela leitura em espectro UV-Vis e o uso do padrão quercetina, o resultado equivale a 2,996 mg de flavonoides/g de extrato.

5.5 Produção de Micropartículas

O rendimento do processo de obtenção das micropartículas foi calculado, resultando em 54,11%. A figura 14 ilustra a micropartícula formada ao final do processo.

Figura 14-Micropartícula obtida do extrato de *Spondias mombin*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

O rendimento do processo de secagem obtido foi superior ao rendimento realizado por Quintão (2016). Uma possível explicação é embasada no uso de Aerosil como adjuvante de secagem. Na metodologia utilizada, o autor observou que parte da solução de quitosana com o extrato permaneceram aderidas ao longo do equipamento, visto que, uma das propriedades da quitosana é sua capacidade de formar um filme com muita facilidade quando seca em superfície lisa.

De acordo com Borges *et al* (2020), os extratos vegetais apresentam uma grande quantidade de açúcares de baixo peso molecular em sua composição. O adjuvante de secagem é caracterizado por apresentar alto peso molecular e baixa viscosidade. Com isso, durante a secagem por pulverização, evita a aderência da solução no equipamento, mantendo as propriedades de interesse nas amostras.

Os flavonoides são metabolizados no intestino e seus metabólitos são transportados para o fígado, onde podem ser transportados para as células-alvo, reentrando na circulação entero-hepática por meio da excreção biliar. Em casos que os flavonoides não sofrerem absorção no intestino e chegam ao cólon podem ser degradados pela microbiota e serem reabsorvidos (Thilakarathna; Rupasinghe, 2013).

Sua biodisponibilidade deve ser aumentada para melhorar sua atividade farmacêutica. Para isso, tem se utilizado técnicas como: formulação de micropartículas e nanopartículas,

vesículas lipossomais, dispersões sólidas, as quais conferem os flavonoides ou extratos vegetais diretamente no local de ação (Al-khayri *et al.*, 2022).

Araruna (2016) realizou a secagem do extrato com o adjuvante de secagem aerossil o que demonstrou baixos níveis de degradação dos constituintes fitoquímicos, comprovando assim, que o uso do aerossil auxilia no processo de secagem sem alterar a atividade farmacológica da solução.

5.6 Testes in vivo

5.6.1 Avaliação de toxicidade de doses repetidas por 28 dias do extrato de *Spondias mombin*

Considerando que o grupo de estudo já realizou a avaliação de toxicidade aguda, demonstrando que o extrato não provocou mortalidade dos animais na dosagem letal média de 2000mg.kg⁻¹ comprovado por Araruna (2016), o estudo de toxicidade por dose repetida, visa determinar os efeitos da exposição diária repetida durante o período de 28 dias (toxicidade subaguda) mediante dosagem também já utilizada pelo grupo de pesquisa.

O estudo de Toxicidade de doses repetidas possibilita realizar uma observação por um tempo prolongado se o produto testado apresenta efeitos adversos. Estes sinais de toxicidade são definidos a partir da redução da massa corporal dos animais experimentais, além de fatores como a alteração da massa relativa dos órgãos, alterações hematológicas e bioquímicas sanguíneas (Nonnenmacher *et al.*, 2022).

No presente estudo, o grupo controle e os grupos de tratamento mantiveram uma média de consumo de água e ração, bem como demonstraram ganho de peso dentro do esperado para o seu tempo de vida. A tabela 10 expressa os valores relacionados ao peso dos animais no início de tratamento e ao final, após os 28 dias de administração do extrato de *Spondias mombin*.

Tabela 10- Efeito do tratamento com extrato de *Spondias mombin* na massa corporal dos camundongos durante os 28 dias de tratamento

Dias		Controle	E250 mg.kg ⁻¹	E500 mg.kg ⁻¹
1	Machos	26,33±1,63	23,80±0,83	21,17±1,17
	Fêmeas	19,00±1,89	19,67±1,03	18,83±0,75
9	Machos	26,33±0,81	25,00±0,71	
	Fêmeas	19,33±1,21	20,00±0,89	21,00±1,26 19,17±1,16
16	Machos	26,67±1,03	25,20±0,84	22,00±1,26
	Fêmeas	19,67±1,63	20,00±1,09	19,00±0,89
23	Machos	27,83±1,16	26,00±1,28	22,83±1,24
	Fêmeas	21,00±1,89	21,00±1,09	20,00±1,09
28	Machos	28,33±1,86	26,60±1,14	23,33±1,34
	Fêmeas	22,00±1,54	21,67±1,03	20,83±0,98

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023. Valores são expressos em média ± desvio padrão da média, n = 6. **p<0,01, *p<0,1 significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey).

A avaliação da massa corporal é um indicativo de efeitos adversos que possam estar aliados a ingestão de algum produto químico presente na substância administrada. De acordo com estudos realizados por Günzel e Jahn (1997), a avaliação da massa corporal dos animais é um forte indicador da toxicidade de uma substância, devido a grande maioria das respostas do aumento ou não de massa corporal estarem ligados por exemplo a uma depressão decorrente a rejeição alimentar, em alguns casos, evidenciando também a redução no tempo de vida.

Os efeitos não significativos observados na massa corporal dos animais nas doses de 250mg.kg⁻¹ e 500mg.kg⁻¹ durante os 28 dias de administração oral indica que os animais tiveram um crescimento saudável. De acordo com Adewale *et al* (2016), animais que perdem 10% da massa corporal inicial podem não sobreviver, indicando assim, efeitos colaterais adversos.

Assim como alterações na massa corporal dos animais, alterações na massa dos órgãos são indicativos de toxicidade, visto que, quando o produto é ingerido, pode causar alterações em órgãos importantes como rins, fígado, baço, estômago, coração e até cérebro devido as suas diversas funções corporais. Ao final do tratamento, no 28º dia, após a eutanásia e coleta de sangue, os órgãos dos animais foram retirados para avaliação de alterações macroscópicas e a massa dos órgãos, conforme demonstrado na tabela 11.

Tabela 11- Massa relativa dos órgãos de camundongos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de *Spondias mombin*

Órgão		Salina	E250 mg.kg ⁻¹	E500 mg.kg ⁻¹
Fígado	Machos	5,499±0,29	5,295±0,30	5,641±0,43
	Fêmeas	5,510±0,63	5,452±0,38	5,058±0,58
Rim Direito	Machos	0,837±0,15	0,851±0,15	0,896±0,08
	Fêmeas	0,834±0,17	1,246±0,28**	0,937±0,09
Rim Esquerdo	Machos	0,612±0,05	0,827±0,19	0,631±0,19
	Fêmeas	0,837±0,15	0,851±0,15	0,896±0,08
Baço	Machos	0,455±0,09	0,454±0,07	0,473±0,11
	Fêmeas	0,612±0,05	0,825±0,12	0,630±0,19
Coração	Machos	0,540±0,13	0,495±0,06	0,540±0,06
	Fêmeas	0,586±0,09	0,907±0,31*	0,624±0,14
Estômago	Machos	1,757±0,18	2,022±0,23	1,870±0,32
	Fêmeas	1,776±0,35	2,300±0,45	1,969±0,69

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Valores são expressos em média ± desvio padrão da média, n = 6. **p<0,01, *p<0,1 significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey).

Não houve alterações macroscópicas nem diferença estatística significativa nos órgãos tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados. Apesar da pequena diferença observada na massa do rim direito, os resultados bioquímicos que serão apresentados a seguir não revelam alterações de creatinina e ureia, bem como a pequena diferença observada na massa do coração não revela alterações do AST dos resultados bioquímicos, dessa forma, constatamos que não houve alterações relevantes nos órgãos, esse estudo será mais aprofundado a partir das análises histológicas que serão realizados posteriormente.

Estudos indicam que os parâmetros bioquímicos e hematológicos são indicadores confiáveis para determinação de substâncias tóxicas devido à alta sensibilidade do sistema hematopoiético para compostos tóxicos (Kharchoufa *et al.*, 2020). Os parâmetros bioquímicos dos animais após tratamento por 28 dias consecutivos, estão dispostos na tabela 12.

Tabela 12- Avaliação dos parâmetros bioquímicos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de *Spondias mombin*

Bioquímica			
	Salina	E250 mg.kg ⁻¹	E500 mg.kg ⁻¹
Ácido úrico (mg/dL)	8,22 ± 1,96	7,34 ± 1,94	9,44 ± 2,75
Colesterol total (mg/dL)	145,30 ± 20,39	138,20 ± 10,56	139,90 ± 14,72
Creatinina (mg/dL)	0,411 ± 0,09	0,345 ± 0,08	0,390 ± 0,07
Glicose (mg/dL)	208,40 ± 64,56	193,80 ± 34,17	207,80 ± 38,17
AST (mg/dL)	64,00 ± 22,93	54,78 ± 16,77	74,14 ± 15,31
ALT (mg/dL)	20,38 ± 7,32	18,25 ± 2,91	26,86 ± 8,20
HDL (mg/dL)	71,22 ± 13,80	65,36 ± 12,97	73,40 ± 13,07
Triglicerídeos (mg/dL)	176,20 ± 32,04	202,80 ± 73,37	183,60 ± 64,64
Uréia (mg/dL)	31,75 ± 6,13	26,67 ± 8,88	30,20 ± 6,80

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Valores são expressos em média ± desvio padrão da média, n = 6. **p<0,01, *p<0,1 significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey)

O ácido úrico, creatinina e a ureia são indicadores da função renal, sendo assim, caso estes parâmetros não estejam em níveis adequados, pode indicar problemas renais (Luiz *et al.*, 2021). Os resultados deste estudo demonstram que o extrato não apresentou alteração nesses parâmetros, sendo assim, não interferiu na capacidade renal de excreção.

Também não houve diferença estatística em relação ao perfil lipídico, no entanto, uma pequena redução no nível de colesterol total dos grupos tratados em relação ao grupo controle foi observada. Essa redução não foi observada no nível de triglicerídeos, o que pode sugerir estudos mais aprofundados relacionados a atividade hipolipemiante do extrato, por exemplo.

Tratando-se do perfil glicêmico, observou-se uma pequena redução no índice de glicose, ainda que não represente diferença estatística, dos grupos tratados em relação ao grupo controle, corroborando com o trabalho realizado por Gobinath (2022), onde realizou o tratamento com o extrato de *Spondias mombin* nas doses de 125 mg.kg⁻¹, 250 mg.kg⁻¹ e 500mg.kg⁻¹ e reverteu de forma significativa os níveis elevados de glicose no sangue.

Como descrito por Ferraz (2022), a Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são enzimas atuantes no metabolismo de aminoácidos dos hepatócitos. Quando ocorre lesão no fígado, estas enzimas extravasam para a corrente sanguínea, podendo ser mensuradas, sendo a ALT mais frequente para indicar obstrução do ducto biliar.

Como não foi observada diferença estatística nos níveis de AST e ALT no presente estudo, podemos sugerir que o extrato de *S. mombin* não causa danos hepático, mesmo após 28 dias de administração diária.

O sangue é o principal meio de transporte de nutrientes do corpo. A análise de parâmetros de seus componentes como: Leucócitos, hemácias, plaquetas e hemoglobina após uma exposição por um período prolongado permitem identificar efeitos adversos ao sistema imunológico (Awotundea *et al.*, 2019). Os parâmetros hematológicos estão dispostos na tabela 13.

Tabela 13- Avaliação dos parâmetros hematológicos ao final do tratamento por 28 dias com o extrato de *Spondias mombin*

Hemograma			
Hemácias (milhões/mm³)	8,93 ± 0,35	8,68 ± 0,84	8,11 ± 1,23
Hemoglobina(g%)	13,25 ± 0,59	12,70 ± 0,61	12,70 ± 0,65
Hematócrito (%)	44,41 ± 1,87	41,95 ± 2,66	40,57 ± 5,92
VCM (u³)	29,84 ± 0,67	30,31 ± 0,93	30,26 ± 1,16
HCM (uug)	14,84 ± 0,58	14,69 ± 0,88	15,16 ± 0,94
CHCM (g%)	49,75 ± 1,65	48,50 ± 2,13	50,08 ± 2,07
Plaquetas (10³/mm³)	1335 ± 175,1	1290 ± 222,1	1255 ± 165,9
Leucócitos (10³/mm³)	4,49 ± 1,01	3,92 ± 1,28	4,06 ± 1,13
Segmentados (%)	12,63 ± 2,26	13,67 ± 3,32	11,63 ± 3,02
Linfócitos (%)	81,88 ± 5,22	81,17 ± 4,79	83,71 ± 4,53
Monócitos (%)	3,42 ± 0,97	4,16 ± 1,32	3,71 ± 1,60
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,00	0,83 ± 0,40	1,14 ± 0,37

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Valores são expressos em média ± desvio padrão da média, n = 6. **p<0,01, *p<0,1 significativamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey)

Em geral, os parâmetros hematológicos nos animais dos grupos de tratamento em ambas concentrações foram semelhantes ao grupo controle, não apresentando diferença significativa nos parâmetros avaliados.

De acordo com Loha *et al* (2019), a evidência de uma diminuição significativa na contagem de hemácias ou aumento significativo na contagem de leucócitos indicam que a substância apresenta toxicidade podendo causar anemia ou outras anormalidades.

A taxa de produção de hemácias demonstra a capacidade de transporte de oxigênio do sangue e quantidade de oxigênio entregue aos tecidos, como definido por Awotundea (2019). No presente estudo, observa-se que a taxa de produção de hemácias foi preservada com administração do extrato.

Da Silva *et al* (2022) define que a avaliação na contagem de plaquetas é de fundamental importância, visto que, defeitos de coagulação sanguínea levam a hemorragia, assim como a coagulação excessiva que pode resultar em trombose, entre outras doenças hemorrágicas. Não

foram observadas diferenças estatísticas no parâmetro analisado, ainda que, os grupos tratados apresentaram pequena redução em relação ao grupo controle.

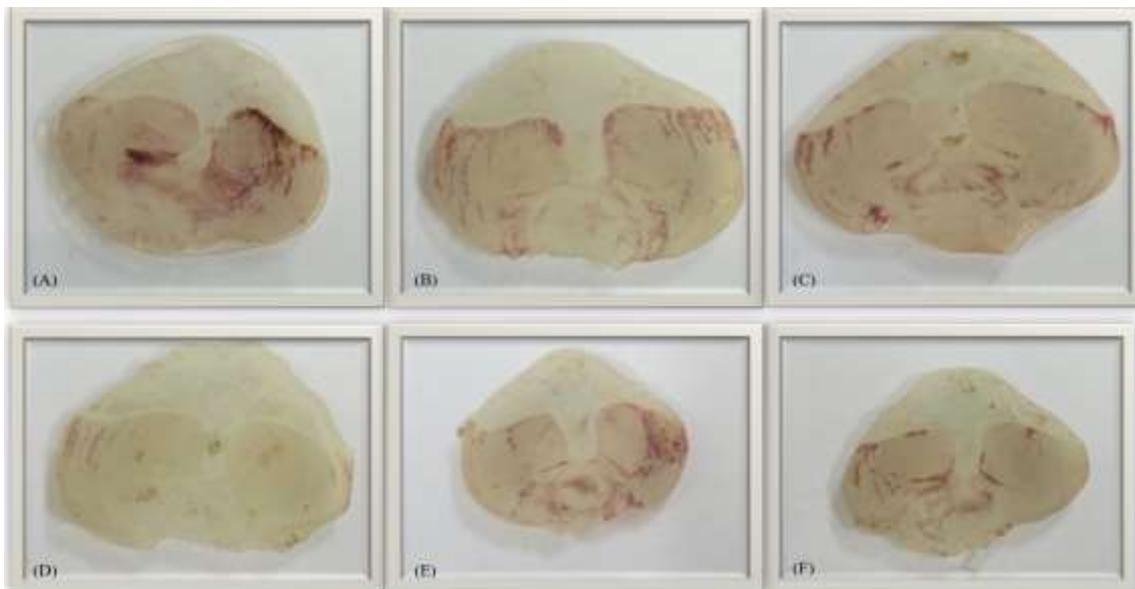
Em geral, no presente estudo, os parâmetros hematológicos dos grupos tratados não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle, indicando segurança de uso do extrato.

O estudo de doses repetidas utilizando o extrato hidroalcoólico de *Spondias mombin* nas doses de 250 mg.kg⁻¹ e 500 mg.kg⁻¹ não demonstrou toxicidade nos parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados. Os estudos histopatológicos não ficaram prontos ainda a tempo de serem apresentados, porém será realizada uma análise nos mesmos. Ainda assim, podemos inferir a segurança do uso do extrato em diferentes formas farmacêuticas.

5.6.2 Avaliação da atividade gastroprotetora

A avaliação da atividade gastroprotetora de um fármaco ou de um produto vegetal pode ser realizada por meio de indução de úlcera utilizando modelos animais. Essa indução é realizada utilizando agentes nocivos a mucosa gástrica por diferentes metodologias. Na figura 15, podemos observar uma representação dos estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, para determinação do ILU (Índice de lesão ulcerativa).

Figura 15- Abertura dos estômagos para análise de úlcera formada



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

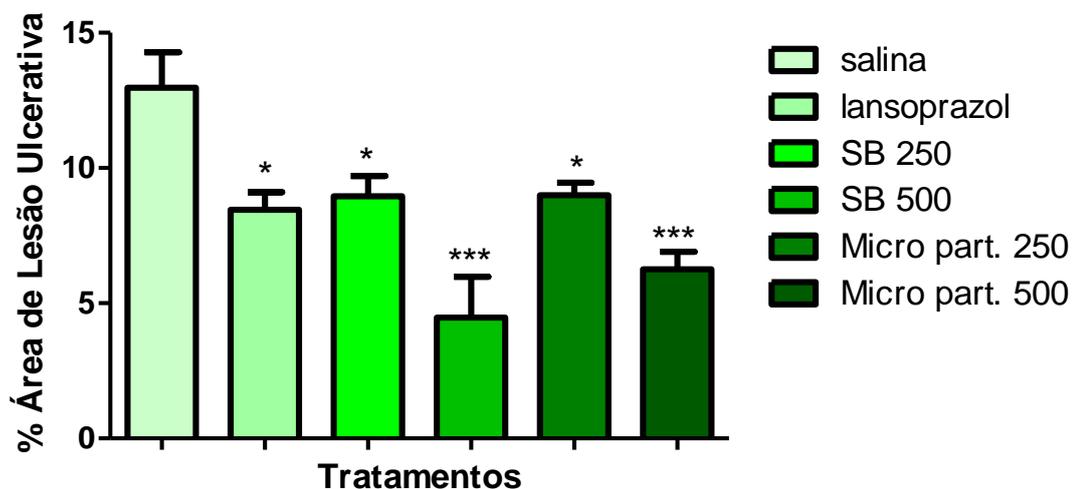
Legenda: (A) Estômago tratado com solução salina; (B) Estômago tratado com lansoprazol; (C) Estômago tratado com extrato na dosagem de 250 mg.kg⁻¹; (D) Estômago tratado com extrato na dosagem de 500 mg.kg⁻¹; (E) Estômago tratado com micropartícula na dosagem de 250 mg.kg⁻¹; (F) Estômago tratado com micropartícula na dosagem de 500 mg.kg⁻¹

O grupo que não recebeu tratamento apresentou uma extensão maior de danos da mucosa gástrica, caracterizado por lesões visualizadas macroscopicamente (Figura 15A). Os grupos pré-tratados com o extrato na dose de 500 mg.kg⁻¹ (Figura 15D) e com a micropartícula também na dose de 500 mg.kg⁻¹ (Figura 15F) apresentaram redução nos danos mucosos. O tratamento com lansoprazol (Figura 15B) apresentou lesões semelhantes aos grupos tratados com extrato (Figura 15C) e micropartícula na dose de 250 mg.kg⁻¹(Figura 15E).

Entre os modelos experimentais de úlcera gástrica utilizados, o modelo da administração de etanol em camundongos é bastante utilizado para investigação da patogênese da doença, pois possibilita a ruptura dos vasos sanguíneos, sangramento, esfoliação das células subepiteliais e geração de espécies reativas de oxigênio ocasionando assim, um grave processo inflamatório (Shimoyama *et al.*, 2013).

O etanol absoluto é considerado um agente necrotizante no modelo de indução de úlcera, leva ao desenvolvimento de inflamação e rupturas hemorrágicas que proporciona aumento significativo de radicais livres (Ayaz *et al.*, 2022). Para realizar a avaliação quantitativa dos danos, as áreas ulceradas foram determinadas por meio do software ImageJ. Os resultados obtidos graficamente estão dispostos na figura 16.

Figura 16- Resultados da avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de *Spondias Mombin* e da Micropartícula, utilizando o modelo de indução de úlcera por etanol



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Dados expressos em média ± desvio padrão da média (n = 6)

A porcentagem de inibição de úlcera foram as seguintes: 38,81% no Lansoprazol; 30,96% do extrato na dose de 250 mg kg⁻¹; 65,52 no extrato de 500 mg.kg⁻¹; 30,66 na

micropartícula na dose de 250 mg.kg^{-1} e $51,73$ na micropartícula com a dose de 500 mg.kg^{-1} . Nenhum dos grupos analisados apresentaram diferença estatística.

Foi observada uma menor porcentagem de inibição de úlcera na micropartícula em relação ao extrato em ambas concentrações. Com isso, calculamos o percentual de extrato presente na micropartícula verificando-se que a micropartícula na dosagem de 250 mg.kg^{-1} apresentou 88,89% de extrato e a micropartícula na dosagem de 500 mg.kg^{-1} apresentou 88,38% de extrato.

Essa redução refletiu na dosagem administrada. Sendo assim, considerando a porcentagem de extrato presente na micropartícula, avaliamos que a dosagem final corresponde a $222,22 \text{ mg.kg}^{-1}$ para o grupo 250 mg.kg^{-1} e de $441,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ para o grupo de 500 mg.kg^{-1} .

Essa diminuição também é justificada devido ao grau de hidrofobicidade dos polímeros no processo de liberação. De acordo com estudos realizados por Pedro (2017), indicando que o número de cadeias hidrofóbicas presentes na estrutura da quitosana pode formar agregados mais densos e com interações mais fortes, ocasionando o processo de liberação em duas etapas: durante as primeiras horas a liberação ocorre de forma abrupta e na segunda etapa a liberação se dá de forma sustentada ao longo do tempo.

A inibição de formação de úlcera do extrato nas doses de 250 mg.kg^{-1} e 500 mg.kg^{-1} corroboram com os resultados de Araruna (2016), a qual obteve inibição de 42 e 60% utilizando extrato nas mesmas dosagens.

Alves *et al.* (2016) utilizaram o extrato hexânico das cascas dos frutos de *Spondias mombin* em seus estudos com Ratos Wistar utilizando também o modelo de indução de úlcera por etanol. Os autores utilizaram o extrato nas dosagem de 100 e 200 mg/kg, a qual apresentaram porcentagem de inibição e 78,97% e 82,97%, em relação ao grupo controle.

A quitosana apresenta propriedades cicatrizante, hemostática, antimicrobiana, angiogênica e analgésica, como relatado por Fernandes *et al* (2020). Foi observado que a micropartícula manteve a atividade gastroprotetora presente no extrato, ainda que, apresentando atividade um pouco reduzida em relação ao tratamento apenas com o extrato. Os mecanismos que influenciaram nessa redução de atividade estão aliados a liberação controlada em dosagens menores, como já elencado por Barros (2022) utilizando-se de nanopartículas para liberação modificada de fármacos.

Assim como proposto por Jaferník *et al* (2023), a grande quantidade de grupos funcionais reativos na estrutura da quitosana como os grupos amino e hidroxila, refletem no seu peso molecular, bem como no seu grau de desacetilação. Sendo assim, os valores do grau de

desacetilação são refletidos no sistema de liberação de fármacos de maneira inversamente proporcional, ou seja, quanto maior o grau de desacetilação, mais lenta sua degradação, apresentando assim, um tempo de liberação também mais lento. Com isso, é possível justificar a atividade gastroprotetora da micropartícula reduzida em relação ao extrato.

Brito *et al.* (2022) realizou microencapsulação do extrato da casca do fruto de *Spondias mombin* também utilizando a quitosana como biopolímero e em sua avaliação por meio de fotomicrografias geradas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) identificou um aspecto de superfície lisa das micropartículas formadas, concluindo que apesar de garantir estabilidade ao produto, proporciona redução na interação com o ar, podendo interferir na liberação.

Machado (2020) associa o potencial antioxidante das folhas de *Spondias mombin* em modelos animais através da estimulação da enzima superóxido dismutase, bem como a produção de mucina e elevação do pH nos animais com danos gástricos, observando a diminuição de lesões crônicas causadas pela úlcera gástrica e a atividade anti *Helicobacter pylori*.

Esses resultados comprovam a eficácia de plantas desse gênero na atividade gastroprotetora, além disso, a produção de micropartículas apresenta um grande potencial de sistema de liberação controlada, melhorando assim, sua biodisponibilidade no organismo.

6 CONCLUSÃO

- Os resultados confirmaram que a micropartícula obtida conseguiu preservar de maneira satisfatória as características do extrato das folhas de *Spondias mombin*.
- Os parâmetros avaliados no controle de qualidade da droga vegetal de *Spondias mombin* estão de acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, indicando a aceitabilidade da droga vegetal também para estudos posteriores de formulações farmacêutica.
- Para obtenção do extrato, o método escolhido apresentou baixo custo, eficácia e segurança, garantindo a estabilidade dos flavonoides e eficiência do processo.
- A avaliação da administração em doses repetidas durante 28 dias não apresentou toxicidade em camundongos machos ou fêmeas, os órgãos não apresentaram alterações macroscópicas nem no peso, também não foram encontradas alterações bioquímicas e hematológicas, comprovando a segurança do uso do extrato em doses repetidas.
- O extrato e a micropartícula apresentaram atividade gastroprotetora apresentaram resultados promissores, ainda assim, estudos relativos à liberação da micropartícula precisam ser elucidados para garantir maior eficácia e segurança de uso.
- De acordo com os resultados obtidos da investigação da atividade gastroprotetora do extrato e micropartícula obtida de *Spondias mombin*, assim como seu uso em doses repetidas, propõem-se as seguintes perspectivas para complementar esse estudo:
 - Realizar a caracterização fitoquímica e a identificação dos principais marcadores fitoquímicos por CLAE;
 - Quantificar os compostos fenólicos presentes na micropartícula obtida, bem como estudos de morfologia e estabilidade da mesma;
 - Realizar estudos de liberação da micropartícula;
 - Estudos de tratamento a longo prazo, incluindo ensaios de toxicidade subcrônico (90 dias)

REFERÊNCIAS

AGBAJE, E. O.; CHARLES, O. O. *Spondias mombin* Linn. (Anacardiaceae) Essential Oil Ointment Enhances Healing of Excision Wounds in Rats. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 11, n. 4, p. 224–232, 15 ago. 2022.

ADEWALE, O.B.; ONASANYA, A.; ANADOZIE, E. O. Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Crassocephalum rubens* leaves in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.188, n.153-158, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.003>.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia brasileira**. 5. ed. Brasília, DF: ANVISA: Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 546 p. v.1.

ALELUIA, C. M.; PROCÓPIO, C. V.; OLIVEIRA, M. T. G.; *et al.* Fitoterápicos na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 27, n. 2, p. 126-134, 2017.

ALENCAR, D.D.O. **MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIMLIMÃO (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) POR SPRAY DRYING**. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2020.

AL-KHAYRI, J.M.; SAHANA, G.R.; NAGELLA, P.; JOSÉ, B.V.; ALESSA, F.M.; AL-MSSALLEM, M.Q. Flavonoides como potenciais moléculas anti-inflamatórias: uma revisão. **Moléculas**. 2022, 27, 2901. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>.

ALVARENGA, J. C.; ANDRADE, H. B.; BITTENCOURT, W. J. M.; BRANDÃO, G. C.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. Controle de qualidade de drogas vegetais a base de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae) obtidas no comércio de Lavras e Belo Horizonte-MG. **Rev. Bras. Pl. Med.**, São Paulo, v.19, n.1, p.31-36, 2017.

ALVES, M.R.T.; CARTAXO, H.B.; PROCÓPIO, J.V.V. *et al.* Evaluation of the gastroprotective activity of the hexane extract of the fruit peels of *Spondias mombin* L. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. e24811830848, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i8.30848.

ARARUNA, M. E. C. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO NEBULIZADO DE *Spondias mombin* E DE UMA FORMULAÇÃO OBTIDA A PARTIR DESSE EXTRATO**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

ARARUNA, M. E. *et al.* Tablet of *spondias mombin* l. Developed from nebulized extract prevents gastric ulcers in mice via cytoprotective and antisecretory effects. **Molecules**, v. 26, n. 6, 12 mar. 2021.

AYAZ, A.; JAMIL, Q.; HUSSAIN, M. *et al.* Antioxidant and Gastroprotective Activity of *Suaeda fruticosa* Forssk. Ex J.F.Gmel. **Molecules**. v.27, n.14, 4368, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27144368>.

AWOTUNDEA, O.S.; ADEWOYEB, S.O.; DHANABAL, P.S.; HAWUMBA, J. Subacute toxicity study of aqueous root extract of *Terminalia schimperiana* in male Wistar rats. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 825-832, 2019.

BABY, A. R.; MACIEL, C. P. M.; SALGADO-SANTOS, I. M. N.; DIAS, T. C. S.; KANECO, T. M.; CONSIGLIERI, V. O.; VELASCO, M. V. R. Uso de extratos de plantas em produtos cosméticos. **Cosmetics e Toiletries**, Carol Stream, v. 17, p. 79–82, 2005.

BAILÃO, E. F. L. C.; DEVILLA, I. A.; CONCEIÇÃO, E.C.; BORGES, L.L. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 10, p.23760-23783, 9 out. 2015. DOI: 10.3390/ijms161023760. PMID: 26473827; PMCID: PMC4632725.

BARBOSA, Y.V. SANTOS, V.L. Caracterização da droga vegetal produzida a partir das folhas de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). In: Encontro de Iniciação Científica da UEPB/CNPq, 26., Campina Grande. **Resumos [...]** Campina Grande, 2021.

BARROS, E.L. **PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA PARA LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS**. Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Sustentabilidade) - Universidade Federal de São Paulo, Diadema, 2018.

BORGES, C.M.D.; SILVA, E.A.; CAMPANHA, R.B. *et al.* Preservação de substâncias bioativas em extrato da casca da semente do algodão durante a secagem por spray-dryer com uso de agentes carreadores. In: ENCONTRO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA EMBRAPA AGROENERGIA, 6., 2020, Brasília, DF. **Anais[...]** Brasília, DF: Embrapa, 2020.

BOSSOU, A. F. A. D.; SOTON, A.S.D.; ATINDEHOU, M. *et al.* Evaluation of Antiradical and Antibacterial Activities of Hydroethanolic Extract of *Spondias mombin* Leaves from Benin. **IOSR Journal Of Pharmacy**, v. 10, ed. 1, p. 11-16, 2020.

BRANDÃO, D. O. *et al.* Model Analytical Development for Physical, Chemical, and Biological Characterization of Momordica charantia Vegetable Drug. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2016, 2016.

BRANDÃO, L.B.; BARBALHO, A.P.; DE OLIVEIRA, A.R. *et al.* Aspectos atuais no tratamento da Doença Ulcerosa Péptica. **Revista de Saúde**, v. 10, n. 1Sup, p. 03-07, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Política Nacional De Práticas Integrativas E Complementares No Sus. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder executivo, Brasília, DF, 2006.

BRAZ, D.C.; OLIVEIRA, L.R.S.; VIANA, A.F.S.C. Antiulcerogenic activity of aqueous extract from *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.15 n.1, 2013.

BRAZZINI, 2022. Disponível em: < <https://brazzini.pe/radiologia-intervencionista/tratamientos-no-vasculares/>>. Acesso em: 04 de Setembro de 2023.

BRITO, G. O. **Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá (*Spondias mombin* L.)**. Monografia (Graduação em Farmácia). Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia. Brasília, 2019.

BRITO, S. A. **Avaliação da atividade antiulcerogênica das folhas e frutos de *Spondias mombin* L. (ANACARDIACEAE)**. 2018. 134f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

CALDERÓN-OLIVER, M.; PONCE-ALQUICIRA, E. The Role of Microencapsulation in Food Application. **Molecules MDPI**, 1 mar. 2022.

CAMARGO, G. DOS A. *et al.* Desenvolvimento e caracterização de micropartículas poliméricas contendo extrato de *Ruta graveolens* L. para veiculação em formulação de xampu infantil. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 1, p. e17812139094, 7 jan. 2023.

CARVALHO, A.S. **USO DE SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS NA EXTRAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Miconia albicans* (SW.) TRIANA**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias Ambientais) - Universidade Federal do Sul da Bahia, Instituto Federal da Bahia, Porto Seguro, 2023.

CARVALHO, L. M. **Perfil leucocitário sistêmico e lesões no trato gastrointestinal de camundongos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma cruzi* por via oral**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto). Ouro Preto, 2017.

CAVALCANTE, F.E.P. **ATIVIDADE BIOLÓGICA DE PLANTAS DO GÊNERO *SPONDIAS* (ANACARDIACEAE): UMA REVISÃO**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

CHACON, D. S.; TORRES, T. M.; SILVA, I. B., *et al.* *Erythrina velutina* Willd. alkaloids: Piecing biosynthesis together from transcriptome analysis and metabolite profiling of seeds and leaves. **Journal of Advanced Research**, Cairo, v.34, p. 123–136, 2021.

CLEMENTINO, E.L.C. **AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS E ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Spondias mombin* L. e *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillett**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

CORDEIRO, T. O. **Efeito do extrato da folha de *spondias mombin* sobre a superfície de dentes humanos - um estudo in vitro**. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019. su, 9(7), 22251–22266. <https://doi.org/10.34117/bjdv9n7-075>.

COSTA, R.J.O. **Perfil fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. e avaliação da sua atividade toxicológica, antitumoral e antibacteriana**.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

CRISTOFOLI, N.L. **OBTENÇÃO DE EXTRATOS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DA FOLHA DA CAJAZEIRA (*Spondias mombin*)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

DAGLIA, M. Polyphenols as antimicrobial agentes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 174-181, 2012.

DAL SANTO, G.; DE VERAS, B. O.; RICO, E.; *et al.* Hexane fraction from *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) prevents behavioral and oxidative status changes on model of Parkinson's disease in zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 241, p. 108953, 2021.

DA SILVA, A.R. VASCONCELOS, A.R.R. SILVA, S.P. *et al.* Acute toxicity and genotoxicity assessment of PgTeL, a lectin from pomegranate sarcotesta, in mice. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 301-308, 2022.

DE CARVALHO VALE, L. *et al.* Gastroprotection of Riparin III in the Acute Model of Ethanol-Induced Gastric Lesion in Mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 33, n. 5, p. 1041–1051, 1 out. 2023.

DE MOURA, N. P. *et al.* Optimization of microencapsulation of yellow mombin juice by spray drying using a central composite rotatable design and powder physicochemical properties. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 42, 2022.

DORNELAS, A. J. S. *et al.* A incidência de úlcera péptica em usuários crônicos de anti-inflamatórios não esteroides. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 23, n. 3, p. e12007, 10 mar. 2023.

DOS SANTOS SAMPAIO, T. I. *et al.* Leaves of *Spondias mombin* L. a traditional anxiolytic and antidepressant: Pharmacological evaluation on zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 563–578, 5 out. 2018.

ELIAS, D. R. **ÚLCERA PEPTICA POR USO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Medicina) – Centro Universitário UNIFAG, Manhuaçu, 2022.

ESTEVINHO, B.N.; ROCHA, F.; SANTOS, L. ALVES, A. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A review. **Trends in Food Science & Technology**, 31, p. 138-155, 2013.

FERRAZ, A.C. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEPATOPROTETORA, ANTIOXIDANTE, ANTIINFLAMATÓRIA E ANTIVIRAL DA SILIMARINA EM CAMUNDONGOS BALB/c INFECTADOS COM O VÍRUS MAYARO**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto – MG, 2022.

FERNANDES, F.H.A. **ESTUDO QUÍMICO-FARMACOLÓGICO E DESENVOLVIMENTO GALÊNICO DE *Spondias Dulcis* FORST.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2017.

FERREIRA, M. R. N.; NOBREZA, N. D.; SOUSA, J. A. Estudo comparativo dos inibidores da bomba de prótons no tratamento de úlceras gástricas induzidas por etanol em *Mus musculus*. **Revista Interdisciplinar**. v. 9, n. 4, p. 12-19, 2016.

FERNANDES, I.M.M.; LIMA, E.P.N.; SANTOS, B.F.F. *et al* Híbridos de Quitosana/Argila para Encapsulamento e Liberação Controlada do Fármaco Dexametasona. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 14, n. 3, p. 130-139, 2020.

GELFUSO, G.M. **Desenvolvimento de sistemas de liberação para a administração tópica passiva e iontoforética do Minoxidil no tratamento da alopecia androgênica.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto – SP, 2009.

GOBINATH, R. GOBINATH, R.; PARASURAMAN, S. *et al*. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effects of Methanolic Extract of Leaves of *Spondias mombin* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 13, ed. 870399, 2022.

GORI, A. BOUCHERLE, B.; REY, A. *et al*. Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. **Fitoterapia**, v. 148, p. 104798, 2021.

GÜNZEL, P.K.H.; JAHN, A.I. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment? **Reproductive Toxicology**, 1997.

GUTIÉRREZ, I.E.M.; SOUZA, L.M.C.; MAGALHÃES, A.O.; PERALTA, E.D.; OLIVEIRA, L.M.; LUCCHESI, A.M. Caracterização da droga vegetal e atividade antioxidante de *Ageratum conyzoides* L. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.7, n.8, p. 78766-78781, 2021.

JAFERNIK, K.; LADNIAK, A.; Blicharska, E. *et al* Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems—A review. **Molecules**, v.28, 1963, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28041963>

JORGE, C. JUNA, C.; CARLOS, P. *et al*. Indicações Terapêuticas e Profiláticas de Uso de Inibidores da Bomba de Prótons e Prescrição Inadequada. **Medicina Interna**, v. 29, n. 1, p. 8-12, 2022.

KHARCHOUFA, L.; BOUHRIM, M.; BENCHEIKH, N. *et al* Acute and Subacute Toxicity Studies of the Aqueous Extract from *Haloxylon scoparium* Pomel (*Hammada scoparia* (Pomel)) by Oral Administration in Rodents. **Biomed Research International**, v.20, p.11, 2020. DOI: 10.1155/2020/4020647.

LAINE, L. *et al.* Vonoprazan Versus Lansoprazole for Healing and Maintenance of Healing of Erosive Esophagitis: A Randomized Trial. **Gastroenterology**, v. 164, n. 1, p. 61–71, 1 jan. 2023.

LEMOS, M. *et al.* *Copaifera langsdorffii*: Evaluation of potential gastroprotective of extract and isolated compounds obtained from leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 238–245, 1 maio 2015.

LIANG, J. *et al.* Applications of chitosan nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of tea polyphenols: A review. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 69, p.286-292, 2017.

LIBANEZ BESSA, L. *et al.* **FUNDAMENTOS DA FISIOPATOLOGIA DA ÚLCERA PÉPTICA E DO CÂNCER GÁSTRICO**. Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica. São Paulo: Blucher, p. 731-750, 2016

LOMBARDO, M. Fitoterápicos na atenção básica de problemas gastrointestinais. **Revista Ciência e Saúde On-line**, v. 6, n. 1, 2021

LOHA, M.; MULU, A.; ABAY, S.M. *et al.* Acute and subacute toxicity of methanol extract of *Syzygium guineense* leaves on the histology of the liver and kidney and biochemical compositions of blood in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

LOPES, D. C. D. X. P. *et al.* Critical parameters for the development of standardized dry herbal extracts obtained by *spray-drying*: from research to manufacturing reality. **Infarma - Pharmaceutical Sciences**, v. 32, n. 4, p. 391–403, 2020.

LUIZ, C.G.G.; FORTUNA, G.M.; HENNEBERG, R. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda e subaguda do extrato de frutos de *Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC em ratos. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 7, 2021.

NILA, T. S. *et al.* An Assessment of Analgesic & Anti-inflammatory Activity *Spondias mombin* and Mapping of Variation of Potency under the Light Geographical Contrast Based Phenomenon. **Asian Journal of Advanced Research and Reports**, p. 1–7, 25 jan. 2023.

MACHADO, J.C.B. **Estudo de formulação e viabilidade de comprimidos contendo elevado teor de extrato seco por aspersão das folhas de *Spondias Mombin* e avaliação da atividade antifúngica**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020.

MADUKA, H.C.C.; OKPOGBA, A.N.; UGWU, C.E. *et al.* Phytochemical, antioxidant and microbial inhibitory effects of *Spondias mombin* leaf and stem bark extracts. **J. Pharm Biol Sci**. v.9, n. 2, p. 14–17, 2014.

MARIA, A. C. B. *et al.* *Spondias mombin* L.: An Updated Monograph. **Pharmacognosy Reviews**, v. 16, n. 31, p. 45–61, 20 fev. 2022.

MARTINS, A.O.B.P.B. **Identificação Do Perfil Químico E Avaliação Das Atividades Antioxidante, Gastroprotetora, Cicatrizante E Antimicrobiana Do Extrato Hidroalcoólico Das Cascas De *Astronium Fraxinifolium Schott Ex. Spreng.(Gonçalavo)***. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional do Cariri, 2013.

MAZZOLIN, L. P. **Avaliação da atividade antioxidante de *Qualea parviflora* sobre a doença inflamatória intestinal e a úlcera gástrica induzidas em roedores**. 2013. 60 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2013.

MICROALGAS EM CAMUNDONGOS. *In*: Simpósio Sul de Gestão e Conservação Ambiental, 9., 2016, Erechim. **Anais [...]**. Erechim: 2016. p.247-251.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S. SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **The Japanese Journal of Pharmacology**. 57, 495-505, 1991.

MORSCHER, C. F.; MAFRA, D.; EDUARDO, J. C. C. The relationship between proton pump inhibitors and renal disease. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 42, p.301-306, 2018.

NÓBREGA, A. B. **OBTENÇÃO DE UM INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO VEGETAL A PARTIR DE FOLHAS DE *Eugenia florida DC* PARA O DESENVOLVIMENTO DE UM ANTITUMORAL**. 2017. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.

NONNENMACHER, J. L.; BRENDA, M.; MATTHIENSEN, A.; MICHELON, W.; DIEFENTHAELER, H.S.; ROGINSKI, A.C.; CAMERA, F.D.M.; ROMAN, S.S. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE SUBCRÔNICA DO EXTRATO DE**

OLADIMEJI, O. S; AWOTE, O. K; IGBALAYE, J. O. Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Spondias mombin* (IYEYE) Fed to Female Albino Rats on Hormonal Indices, Lipid Profile and Enzymatic Antioxidant Activity. **Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 8, ed. 3, p. 17-29, 2022.

OLADIMEJI, O. S. *et al.* Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Spondias mombin* (IYEYE) Fed to Female Albino Rats on Hormonal Indices, Lipid Profile and Enzymatic Antioxidant Activity. **IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry (IOSR-JBB)**, v. 8, n. 3, p. 17–29, 2022.

OLIVER, M.C.; ALQUICIRA, E.P. The Role of Microencapsulation in Food Application. **Molecules** v.27 (5), 1499, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27051499>

OLIVEIRA, G.O.D.; REIS, A.C.; FERREIRA, E.A.; VILELA JUNQUEIRA, N.T. *et al.* Perfil de Compostos Fenólicos por UPLC-MS/MS e Encapsulação com Quitosana de Extrato da Casca de *Spondias mombin* L. do Hotspot Cerrado – Brasil. **Molecules**. 2022, 27, 2382. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27082382>

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.

PAIVA, A. DE A. *et al.* Possível relação entre o uso de inibidores de bomba de prótons e neoplasias. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e530101523310, 2 dez. 2021.

PEDRO, R.O. **Desenvolvimento de Sistemas Anfílicos Baseados em Derivados de Quitosana para Transporte e Liberação Sustentada de Fármacos**. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 2017.

PENICHE, C.J.; PENICHE, I.H.; SÁEZ, N.B.; ACOSTA, I.N. PENICHE, C.A. Planejamento de uma formulação parenteral para liberação prolongada de risperidona baseada em um sistema de gelificação *in situ*. **Revista Cubana de Pesquisa Biomédica**. v.36, n.1, 2017.

PEREIRA, A.K.C. *et.al.* Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.21, 2018.

PEREIRA, V.S. **EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE CAJAZEIRA (Spondias mombin L.) UTILIZANDO ÁGUA PRESSURIZADA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Recife, 2021.

PIETROLUONGO, M.; DA SILVA, A. R.; FULY, A. L. *et al.* Potencial de extratos aquosos dos frutos de *Clusia fluminensis* em neutralizar efeitos locais causados por veneno de *Bothrops jararaca*. **Rev. Virtual Quim.**, v. 13, n. 5, 2021.

PRAJAPATI, S. K. *et al.* Biodegradable polymers and constructs: A novel approach in drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 120, p. 109191, 2019.

RAMSAY, P. T.; CARR, A. **Gastric acid and digestive physiology**. **Surgical Clinics of North America**, out. 2011.

RANG, H. *et al.* M. Rang and Dale's Pharmacology. **Elsevier**, Rio de Janeiro, v.5, p. 237-245, 2012.

RIBEIRO, L.M.; FERNANDES, L.S.; PAGUNG, L.S.; QUEIROZ, L.L.; BARBOZA, K.R.M. Profile evaluation of chronic users of proton pump inhibitors. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 23, n. 2, p. e11580-e11580, 2023.

ROSA, I. R.; SANTOS, F. A. C.; BERNARDO, P. A. V. *et al.* Avaliação da prevalência de prescrição de fármacos inibidores de bomba de prótons em um ambulatório escola em Belém do Pará. **Brazilian Journal of Health Review**, 6(4), 18294–18306, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n4-331>.

ROMAINE, A. P.; LOUREIRO, F. F.; DA SILVA, F. V. M. Reações adversas no uso de Anti-inflamatório não esteroidais (AINES) no Brasil: uma revisão sistemática / Adverse

reactions to nonsteroidal Anti-Inflammatory drugs (NSAIDS) in Brazil: a systematic review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 54653–54661, 2 jun. 2021.

SALMERÓN-MANZANO, S.; GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide research trends on medicinal plant. **International Journal Environmental Research Public Health**, v. 17, n. 10, p. 3376, May. 2020.

SCALLY, B. *et al.* Effects of gastroprotectant drugs for the prevention and treatment of peptic ulcer disease and its complications: a meta-analysis of randomised trials. **The Lancet Gastroenterology and Hepatology**, v. 3, n. 4, p. 231–241, 1 abr. 2018.

SERRANO-ROMÁN, J. *et al.* Anti-ulcerogenic Properties of *Sphaeralcea angustifolia* on Gastric Ulcer in Mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 33, n. 4, p. 863–869, 1 ago. 2023.

SCHUBERT, M.L. Gastric secretion. **Curr Opin in Gastroenterology**, London, v.26, p. 598-603, 2010.

SHIMOYAMA, A.T.; SANTIN, J.R.; MACHADO, I.D.; OLIVEIRA E SILVA, A.M.; Atividade antiulcerogênica de clorogênico ácido em diferentes modelos de úlcera gástrica. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.**, 386(1):5-14, 2013.

SILVA, A.R. ALVES, R.R.V.; SILVA, S.P. Avaliação de toxicidade aguda e genotoxicidade de PgTeL, uma lectina de sarcotesta de romã, em ratos

SILVA, B.P. **MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO OBTIDAS POR *SPRAY DRYING* PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE INDOMETACINA**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

SILVA, D. M. **EFEITO DA ALANTOÍNA SOBRE A ÚLCERA GÁSTRICA: ESTUDO DO MECANISMO GASTROPROTETOR**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Biologia, Goiânia, 2019.

SILVA, G.S. **ABORDAGEM METABOLÔMICA BASEADA EM RMN PARA ESTUDO DE CASCAS E FOLHAS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE *Spondias mombin***. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

SILVA, M. R.; MANZOTTI, G. A.; SCHEID, S. S.; *Monteverdia ilicifolia*: um protetor gástrico. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama. v. 26, n. 3, p. 1248-1266, 2022.

SILVA, T.S.J. **DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DO EXTRATO PADRONIZADO DE *Spondias mombin* (CAJAZEIRA): ATIVIDADES ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTI-HERPES DO EXTRATO E DA GERANIINA**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Departamento de Farmácia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

SIQUEIRA, E.M.S. **Avaliação do teor de geranina como marcador de um derivado vegetal de *Spondias mombin* L. e do seu potencial efeito anti-herpético.** Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal- RN, 2021.

SOUZA, J.A.L. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CROMATOGRÁFICA DE DROGAS VEGETAIS DE USO TRADICIONAL NO NORDESTE BRASILEIRO.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SUSHMA, G.; DEBNATH, S.; KUMAR, C. S.; CHANDU, A. N. Quality and regulatory affairs of herbal drugs: a world-wide review. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 5, p. 389-396, oct. 2011.

TAKAYAMA, C.; FARIA, F.M.; ALMEIDA, A.C.A. *et al.*, Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 135, p. 147–155, 2011.

TAMASHIRO FILHO, P.; OLAITAN, B, S.; ALMEIDA, D. A. T.; LIMA, J. C. S.; MARSON-ASCÊNCIO P. G.; DONIZETI ASCÊNCIO, S.; RIOS-SANTOS, F.; MARTINS, D. T. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.(Lytraceae) in experimental animals. **Journal of ethnopharmacology**, New York, v. 144, n. 3, p. 497-505, 2012.

THILAKARATHNA, S. H.; RUPASINGHE, H. P. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. **Nutrients**, v. 5, n. 9, p. 3367-3387, 2013.

TRAORÉ, O. *et al.* The clinical and endoscopic aspects of peptic ulcers secondary to the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs of various origins. **Pan African Medical Journal**, v. 38, 2021.

VEIGA, R.D.S.D.; BUZANELLO, R.A.S.; CORSO, M.P. Essential oils microencapsulated obtained by *spray* drying: a review. **Journal of Essential Oil Research**, v.31, n.6, p.457-473, 2019.

WENZIG, E.P.; BAUER, R. A relevância da farmacognosia na pesquisa farmacológica de medicamentos fitoterápicos. **Epilepsia e Comportamento**, v. 52 p.344-362, 2015.

ZANOTELLI, P., LOCATELI, G., VECCHIA, C.D. *et al.* Gastroprotective Potential of the Hydroalcoholic Extract from *Jacaranda puberula* in Mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 30, 838–843 ,2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00117-2>

YAO, X.; SMOLKA, A. J. **Gastric Parietal Cell Physiology and *Helicobacter pylori*–Induced Disease.** **Gastroenterology** W.B. Saunders, 1 jun. 2019.