



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
LINHA DE PESQUISA: OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
DE PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS DE INTERESSE FARMACÊUTICO

RENATA DE ALENCAR FALCÃO

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E
GASTROPROTETORA DE *SPONDIA TUBEROSA* ARRUDA (ANACARDIACEAE)
EM MODELOS EXPERIMENTAIS.

CAMPINA GRANDE – PB

2014

RENATA DE ALENCAR FALCÃO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E
GASTROPROTETORA DE *SPONDIA TUBEROSA* ARRUDA (ANACARDIACEAE)
EM MODELOS EXPERIMENTAIS.**

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

ORIENTADORA: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões

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

CAMPINA GRANDE – PB

2014

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

F181a Falcão, Renata de Alencar.
Avaliação das atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora de *Spondia tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) em modelos experimentais [manuscrito] / Renata de Alencar Falcão. - 2014.
91 p. : il. color.

Digitado.
Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.
"Orientação: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões, Departamento de Farmácia".

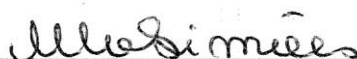
1. *Spondia tuberosa*. 2. Atividade antinociceptiva. 3. Atividade anti-inflamatória. 4. Atividade gastroprotetora. I.
Título. 21. ed. CDD 615.321

RENATA DE ALENCAR FALCÃO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA, ANTI-INFLAMATÓRIA E
GASTROPROTETORA DE *SPONDIA TUBEROSA* ARRUDA (ANACARDIACEAE)
EM MODELOS EXPERIMENTAIS.**

APROVADA EM 27/08/2014

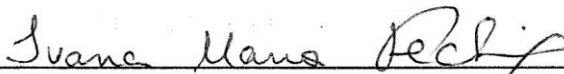
BANCA EXAMINADORA



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



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



Profa. Dra. Ivana Maria Fachine
Examinadora Interna – UEPB



Profa. Dra. Alyne da Silva Portela
Examinadora Externa – FCM-CG/FACISA

CAMPINA GRANDE - PB

2014

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Diana e Fernando, aos meus irmãos Fernanda e Neto, que acreditaram e me apoiaram em todos os momentos.

A você Vitor, companheiro no amor, na vida e nos sonhos, que sempre me apoiou nas horas difíceis e me deu forças para que eu pudesse seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Ao meu DEUS, por ter me concedido força, coragem, ânimo, sabedoria, paciência, discernimento e prudência, renovando a minha fé a cada dia, fazendo com que eu superasse todas as dificuldades ao longo do desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus pais, irmãos, esposo e a toda minha família que, com muito carinho apoiou a minha decisão e que se tornou essencial para que eu pudesse concluir esta etapa. Obrigada por toda confiança depositada em mim e por entender todas as minhas ausências durante este tempo. Amo muito vocês.

A minha orientadora Mônica Simões, agradeço por acreditar e não desistir de mim nos momentos mais difíceis, pelo incentivo depositado durante este tempo, pelo exemplo de determinação e amor durante todos esses anos de orientação.

A minha co-orientadora Vanda Lúcia, agradeço pela infinita paciência, pelo apoio, por ter sido sempre presente em todos os momentos durante a realização deste trabalho, pelas palavras de esperanças e incentivo, por ter acreditado várias vezes que daria certo. Muito obrigada!

A Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade de realizar este Curso.

Ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEAU/CESED), pela análise e aprovação de meu projeto.

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), pelo fornecimento de materiais que deu suporte na realização dos experimentos.

A todos que fazem parte do Laboratório de desenvolvimento e ensaios em medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba, em especial a Prof^a Dr^a Ana Cláudia, pelo fornecimento de materiais e pela ajuda durante este tempo.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Ensaios Farmacológicos, em especial Maciel Oliveira, Jhonatta Alexandre e Raiff Dantas, pela grandiosa ajuda em todos os experimentos, pela animação no laboratório, por não medirem esforços para a execução desta pesquisa, pelo

apoio e palavras de incentivo e por terem se preocupado junto comigo. Vocês foram fundamentais para conclusão desta pesquisa. Sem a ajuda de vocês eu não teria conseguido. Muito obrigada, jamais me esquecerei de vocês e sentirei saudades.

As amigas Cynthia e Katharina, pela ajuda durante todo o tempo de execução desta pesquisa. Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas que compartilharam seus conhecimentos e experiências.

A todos os amigos da minha turma de mestrado, em especial a Alexsandra, Anna Paula, Davy, Deysiane, Felipe, Fernando, João Paulo, Juliana, Luanne, Nathália e Paulo César, pelo companheirismo e incentivo.

Agradeço a todos que fizeram parte deste caminho de crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

Spondia tuberosa Arruda (Anacardiaceae), conhecida popularmente como umbu, é encontrado na região Nordeste do semiárido brasileiro e é endêmica da caatinga. Apresenta uma fonte de vitaminas (B₁, B₂, A, C e niacina), minerais (cálcio, fósforo e ferro) e um alto poder antioxidante, que reduz os danos causados pelas espécies reativas, tais como envelhecimento prematuro e aparecimento de doenças degenerativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade, atividade antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora do extrato etanólico das folhas de *S. tuberosa* (EEtOH-St) nas doses 125 mg/kg, 250 mg/kg e 500 mg/kg. A pesquisa foi realizada nos laboratórios de ensaios farmacológicos e no de desenvolvimento e ensaios em medicamentos (LABDEM) ambos localizados na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Foram utilizados 40 camundongos albinos Swiss, 156 ratos albinos Wistar e larvas de *Artemia salina* L. Diante disto, foi realizada a avaliação toxicológica para a determinação da concentração letal 50% (CL₅₀), toxicidade aguda e avaliação comportamental, também observou-se a atividade antinociceptiva utilizando o método da formalina. Ainda foi realizada a avaliação da atividade anti-inflamatória induzida por carragenina e avaliou-se a ação gastroprotetora em modelos de úlceras induzidas por etanol e anti-inflamatório não-esteroidal (AINE). No bioensaio com *Artemia salina* Leach, o extrato das folhas apresentou baixa toxicidade. A administração única de 2000 mg/kg do EEtOH-St em camundongos, não causou alterações comportamentais nos parâmetros avaliados. Também não provocou variações no peso nem na estrutura macroscópica dos órgãos. Não foi possível determinar a Dose letal 50 (DL₅₀) visto que não houve mortes, ao final dos 14 dias de observação. Observou-se na atividade antinociceptiva que a dose 125mg/kg não influenciou na resposta da primeira fase de nocicepção e que a dose 250 mg/kg do EEtOH-St na segunda fase teve uma inibição maior (100%) do que o próprio anti-inflamatório utilizado como padrão. Na avaliação da atividade anti-inflamatória dentre as doses do extrato testadas, apenas a 500 mg/kg foi capaz de inibir a migração celular. Com relação à atividade gastroprotetora, as doses 125, 250 e 500 mg/kg frente a modelos de indução de úlcera por etanol diminuíram de forma significativa o Índice de Lesão Ulcerativa (ILU), em 13,69%, 38,69% e 69,64%, respectivamente, bem como foram capazes de alterar o parâmetro avaliado correspondente ao volume gástrico. Na avaliação do modelo de úlceras gástricas induzidas por AINE, houve inibição das lesões em 44,56% para a dose 125 mg/kg, 39,13% para a de 250 mg/kg e 45,65% para 500 mg/kg. Quanto ao modelo de indução de úlcera por etanol e pré-tratado com indometacina, o grupo salina-extrato em relação a salina-salina conseguiu inibir os ILU em 43,05%, e o grupo indometacina-extrato em relação a

indometacina-salina inibiu 50,37% a quantidade de ILU. Diante destes resultados, é importante que outros modelos experimentais sejam testados, para que possa evidenciar a participação desta planta nos mecanismos antinociceptivo, anti-inflamatório e gastroprotetora.

Palavras- chave: *Spondia tuberosa*. Atividade antinociceptiva. Atividade anti-inflamatória. Atividade gastroprotetora.

ABSTRACT

Spondia tuberosa Arruda (Anacardiaceae), popularly known as umbu, is found in the northeastern Brazilian semiarid region and is endemic to the caatinga. Presents a source of vitamins (B1, B2, A, C and niacin), minerals (calcium, phosphorus and iron) and a high antioxidant power, which reduces damage caused by reactive species such as the appearance of premature aging and degenerative diseases. The aim of this study was to evaluate the toxicity, antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective the ethanol extract of the leaves of *S. tuberosa* (EEtOH-St) at doses 125 mg/kg, 250 mg/kg and 500 mg/kg. The survey was conducted in pharmacological testing laboratories and the development and testing of medicines (LABDEM) both located at the State University of Paraíba (UEPB). 40 Swiss albino mice, albino Wistar rats and 156 larvae of *Artemia salina* L. Given this, the toxicological evaluation was performed to determine the 50% lethal concentration (LC₅₀), acute toxicity and behavioral assessment were used, also observed the activity antinociceptive using the method of formalin. Although the evaluation of anti-inflammatory activity induced by carrageenan was performed and evaluated the non-steroidal gastroprotective action in models of ulcers induced by ethanol and anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Bioassay with *Artemia salina* Leach, leaves extract showed low toxicity. A single dose of 2000 mg / kg of EEtOH-St in mice, did not cause behavioral changes in the evaluated parameters. Also did not cause changes in weight or the macroscopic structure of organs. Unable to determine the lethal dose 50 (LD₅₀) as there were no deaths at the end of the 14 days of observation. It was observed that the antinociceptive activity in the dose 125 mg / kg did not affect the response of the first phase of nociception and the dose 250 mg / kg EEtOH-St in the second stage had a greater inhibition (100%) than the anti-self inflammatory used as standard. In the evaluation of anti-inflammatory activity among the doses tested the extract, only 500 mg/kg was able to inhibit cell migration. Gastroprotective activity with respect to the doses 125, 250 and 500 mg/kg against induction of ulcer models ethanol decreased significantly the ulcerative lesion index (ULI) in 13.69%, 38.69% and 69 , 64%, respectively, and were able to change the evaluated corresponding to gastric volume parameter. In the assessment of NSAID-induced gastric ulcers model, inhibition of lesions was 44.56% for the dose 125 mg/kg, 39.13% for the 250 mg/kg, and 45.65% at 500 mg/kg. As for the induction of ulcers ethanol and pretreated with indomethacin model, the salt-extract group compared to saline-saline could inhibit ILU at 43.05%, and indomethacin-extract group compared to saline-indomethacin inhibited 50.37% the amount of ULI. Given these results, it is important that other experimental models

to be tested, so you can demonstrate participation in this plant, anti-inflammatory and antinociceptive mechanisms gastroprotective.

Keywords: *Spondia tuberosa*. Antinociceptive activity. Anti-inflammatory activity. Gastroprotective activity.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Anti-inflamatórios não-esteroidais.....	31
Quadro 2 - Efeitos adversos comuns dos AINEs.	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vias de transmissão da dor.	22
Figura 2 - Resposta a uma lesão tecidual, mediadores químicos ativam e sensibilizam os nociceptores.	25
Figura 3 - Primeiras manifestações locais na inflamação aguda,	29
Figura 4 - Anatomia e histologia do estômago.	34
Figura 5 - Os tipos de glândulas gástricas e as células predominantes.	35
Figura 6 - Fatores associados ao desequilíbrio entre os fatores protetores (verde) e os fatores agressores (amarelo).	36
Figura 7 - Produção da secreção ácida gástrica.	41
Figura 8 - Árvore e frutos de <i>Spondia tuberosa</i> Arruda.	48
Figura 9 - Animais utilizados: (A) Larva de <i>Artemia salina</i> L., (B) Camundongo Swiss e (C) Rato Wistar.	54
Figura 10 - Animal observado em modelo de dor induzida por formalina 1%.	56
Figura 11 - Modelo de inflamação no peritônio de ratos por carragenina. (A) Injeção de carragenina; (B) Fluido do peritônio; (C) Fluido centrifugado.	57
Figura 12 - Lupa OLYMPUS SZ2 – LGB.	58
Figura 13 - Efeito da administração oral do EEtOH-St e da indometacina sobre a resposta nociceptiva, em segundos (s).	65
Figura 14 - Efeito do EEtOH-St na atividade anti-inflamatória em ratos avaliados no modelo de peritonite induzida por carragenina.	67
Figura 15 - Efeito da administração oral do EEtOH-St e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos.	69
Figura 16 - Estômagos de ratos pré-tratados com veículo 10ml/kg (A), lansoprazol 30mg/kg (B), EEtOH-St 125mg/kg (C), EEtOH-St 250mg/kg (D) e EEtOH-St 500mg/kg (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).	69
Figura 17 - Efeito da administração oral do EEtOH-St e cimetidina em úlceras induzidas por AINE (indometacina) em ratos.	71
Figura 18 - Estômagos de ratos pré-tratados com veículo 10ml/kg (A), Cimetidina 100mg/kg (B), EEtOH-St 125mg/kg (C), EEtOH-St 250mg/kg (D) e EEtOH-St 500mg/kg (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por indometacina).	72
Figura 19 - Avaliação do efeito gastroprotetor do EEtOH-St 250 mg/kg em modelo de indução de úlcera gástrica induzida por etanol e pré-tratados com indometacina.	73

Figura 20 - Estômagos de ratos pré-tratados com Salina-Salina (A), Salina-Lansoprazol (B), Salina-EEtOH-St 250mg/kg (C), Indometacina-Salina (D), Indometacina-Lansoprazol (E) e Indometacina- EEtOH-St 250mg/kg. 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração letal 50% (CL ₅₀) do EEtOH-St frente a <i>Artemia.salina</i>	61
Tabela 2 - Efeito da administração oral do EEtOH (2000 mg/kg) obtido das folhas de <i>Spondia tuberosa</i> Arruda no consumo de ração e de água, evolução ponderal e peso dos órgãos de camundongos, durante 14 dias.	63
Tabela 3 - Efeito antinociceptivo avaliado pelo teste de nocicepção induzida pela formalina.	64
Tabela 4 - Efeito da folha do EEtOH-St na atividade anti-inflamatória em ratos avaliados no modelo de peritonite induzida por carragenina.	66
Tabela 5 - Efeito da administração oral do veículo, lansoprazol e EEtOH-St 125, 250 e 500mg/kg em úlceras induzidas por etanol em ratos.....	68
Tabela 6 - Efeito da administração oral do veículo, lansoprazol e EetOH-St 125, 250 e 500mg/kg em úlceras induzidas por AINE (indometacina) em ratos.....	70
Tabela 7 - Envolvimento da via das ciclo-oxigenases no efeito gastroprotetor associado ao EEtOH-St no modelo de úlcera induzida por etanol.	73

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	DOR E NOCICEPÇÃO	22
1.1.1	TRATAMENTO DA DOR	25
1.1.1.1	ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAI	26
1.1.1.2	FÁRMACOS OPIÓIDES	26
1.2	INFLAMAÇÃO	27
1.2.1	TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO	30
1.3	ANATOMIA FUNCIONAL DO ESTÔMAGO	33
1.4	ÚLCERA PÉPTICA	35
1.4.1	FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA	37
1.4.1.1	MUCO	37
1.4.1.2	BICARBONATO	37
1.4.1.3	ÓXIDO NÍTRICO	37
1.4.1.4	CANAIS DE POTÁSSIO SENSIVEIS AO ATP	38
1.4.1.5	PROSTAGLANDINAS	38
1.4.1.6	SISTEMA ANTIOXIDANTE	39
1.4.1.7	MICROCIRCULAÇÃO	40
1.4.2	FATORES AGRESSIVOS DA MUCOSA GÁSTRICA	40
1.4.2.1	SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICA	40
1.4.2.2	PEPSINA	41
1.4.2.3	INFECÇÃO PELO HELICOBACTER PYLORI	42
1.4.2.4	AINEs	42
1.4.3	TRATAMENTO DA ÚLCERA PÉPTICA	43
1.5	USO DE PLANTAS MEDICINAIS	45
1.6	FAMÍLIA ANACARDIACEAE E GÊNERO SPONDIAS	46

1.7	SPONDIA TUBEROSA.....	47
2	OBJETIVOS.....	50
2.1	OBJETIVO GERAL.....	51
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
3	METODOLOGIA	52
3.1	LOCAL DE PESQUISA.....	53
3.2	MATERIAL BOTÂNICO	53
3.3	PREPARAÇÃO DO EXTRATO.....	53
3.4	ANIMAIS EXPERIMENTAIS	53
3.5	AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA PRÉ-CLÍNICA.....	54
3.5.1	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL 50% (CL ₅₀) FRENTE <i>ARTEMIA SALINA</i>	54
3.5.2	TOXICIDADE AGUDA E AVALIAÇÃO COMPORTA-MENTAL.....	55
3.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA.....	55
3.6.1	TESTE DA FORMALINA.....	55
3.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	56
3.7.1	PERITONITE INDUZIDA POR CARRAGENINA	56
3.8	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA	57
3.8.1	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL	57
3.8.2	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO- ESTEROIDAL (AINE)	58
3.8.3	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM ANIMAIS PRÉ- TRATADOS COM INDOMETACINA.....	59
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	60
4.1	AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA PRÉ-CLÍNICA.....	61
4.1.1	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL 50% (CL ₅₀) FRENTE <i>ARTEMIA SALINA</i>	61

4.1.2	TOXICIDADE AGUDA E AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL	62
4.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA.....	63
4.2.1	TESTE DA FORMALINA.....	63
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI- INFLAMATÓRIA.....	65
4.3.1	PERITONITE INDUZIDA POR CARRAGENINA	66
4.4	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA	67
4.4.1	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL	68
4.4.2	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO- ESTEROIDAL (AINE)	70
4.4.3	ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM ANIMAIS PRÉ- TRATADOS COM INDOMETACINA.....	72
5	CONCLUSÕES	75
	REFERÊNCIAS.....	77
	ANEXO A Parecer do Comitê de Ética em Uso de Animais	90

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

ACh	Acetilcolina
AINE	Anti-inflamatório Não-Esteroidal
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CAT	Catalase
CBIOTEC	Centro de Biotecnologia
CCKB	Receptores do tipo 2 ou B de colecistocinina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CESED	Centro de Ensino Superior E Desenvolvimento
CGRP	Calcitonin Gene-Related Peptide
COX	Ciclo-oxigenase
COX-1	Ciclo-oxigenase-1
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
ECL	Células do tipo enterocromafins
EEtOH	Extrato etanólico
EEtOH-St	Extrato etanólico de <i>Spondia tuberosa</i>
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GCs	Ciclase de guanilil solúvel
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GSH-px	Glutationa peroxidase
HCO₃⁻	Bicarbonato
HCl	Ácido Clorídrico
H₂	Receptores do tipo 2 de histamina
H₂O₂	Peróxido de Hidrogênio
HOCl	Ácido Hipocloroso
ILU	Índice de Lesão Ulcerativo
K_{ATP}	Canais de Potássio Sensíveis ao ATP
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos
LTs	Leucotrienos
M₃	Receptores muscarínicos do tipo 3
NO	Óxido Nítrico
NOS	NO sintetase

O₃ Ozônio

PB Paraíba

PG Prostaglandina

PGI₂ Prostaglandina I₂

PGD₂ Prostaglandina D₂

PGE₂ Prostaglandina E₂

PGF_{2α} Prostaglandina F_{2α}

PIs Prostaciclina

PKG Proteína cinase G

SNC Sistema Nervoso Central

SOD Superóxido dismutase

TXs Tromboxanos

TNF-α Fator de Necrose Tumoral α

UEPB Universidade Estadual da Paraíba

UFPB Universidade Federal da Paraíba

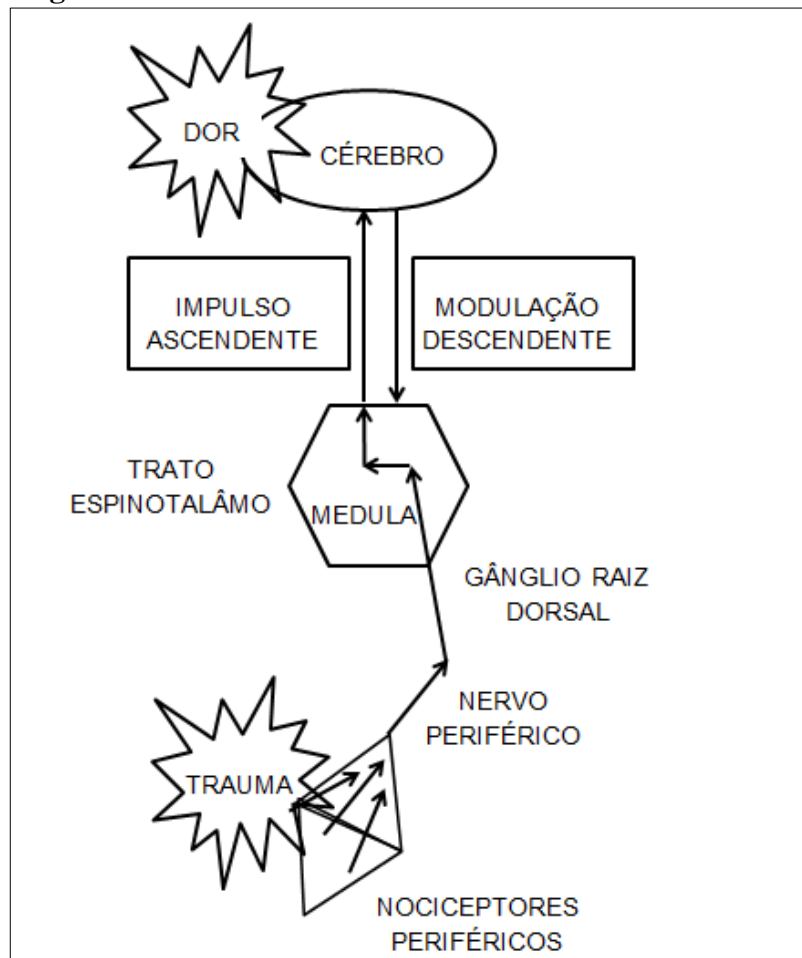
UP Úlcera Péptica

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOR E NOCICEPÇÃO

A pele ou outros órgãos quando expostos a estímulos nocivos produz uma sensação desagradável que informa ao indivíduo o perigo real para a sua integridade física. Essa informação pode ser diferenciada como sendo dor fisiológica ou patológica. O componente fisiológico da dor é chamado nocicepção, que consiste nos processos de transdução, transmissão e modulação de sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo externo (KLAUMANN *et al.*, 2008), o processo de transdução compreende a ativação dos nociceptores por um estímulo mecânico, térmico ou químico, a transmissão refere-se a um conjunto de vias que permitem que o impulso nervoso seja conduzido ao Sistema Nervoso Central (SNC), já a modulação é o processo pelo qual as vias responsáveis pela diminuição da dor são ativadas pelas próprias vias nociceptivas (CARVALHO, 2011) (Figura 01).

Figura 1 - Vias de transmissão da dor.



Fonte: Adaptado de KUMMER E COELHO, 2002.

No processo patológico este estímulo não é transitório e pode estar associado com inflamação e injúria nervosa significativa, envolvendo desconforto e sensibilidade anormal do paciente (KLAUMANN *et al.*, 2008).

Assim, a nocicepção é o processo pelo qual estímulos térmicos, mecânicos ou químicos nocivos são detectados por uma subpopulação de fibras nervosas periféricas, chamadas nociceptores. Estes são extremamente heterogêneos, diferindo quanto aos tipos de neurotransmissores que contêm, os receptores e canais iônicos que expressam, na velocidade de condução, nas suas propriedades de resposta ao estímulo nocivo e sua capacidade de serem sensibilizados durante a inflamação, lesão e doença. Existem duas classes principais de nociceptores, a primeira inclui fibras C não-mielinizadas de pequeno diâmetro, onde a velocidade de transmissão do estímulo é lenta, e a segunda engloba fibras mielinizadas (A δ) de diâmetro médio, cuja velocidade de condução é mais rápida. Essas fibras aferentes mielinizadas diferem consideravelmente das fibras A β de grande diâmetro de condução rápida que responde à estimulação mecânica inócua (BAGGIO, 2010).

A dor está relacionada tanto a experiência emocional, quanto ao componente sensorial, o qual depende da ativação de receptores específicos e vias neuroanatômicas que ligam o sistema nervoso periférico e o sistema nervoso central (BABINOT, 2010), a dor seria o termo mais apropriado para o homem, enquanto que nocicepção seria mais indicado para animais experimentais (BENEDITO, 2009).

Segundo Almeida *et al.* (2006), a dor pode ter diferentes tipos, localizada ou generalizada, superficial ou profunda, de origem visceral, somática, neuropática ou psicogênica. Pode alterar-se em algumas situações: postura, atividade física, temperatura, emoções, umidade ambiental, e outros.

Afirmam Guyton e Hall (2011) que a dor é classificada em dor rápida e dor lenta. A dor rápida é sentida dentro de 0,1 segundo após a aplicação de estímulo doloroso, já a dor lenta começa somente após 1 segundo ou mais, aumentando lentamente durante vários segundos e, algumas vezes, durante minutos. A dor rápida também pode ser descrita por meio de vários nomes alternativos como, dor pontual, dor em agulhada, dor aguda e dor elétrica. Pode-se encontrar como exemplos para esta classificação de dor quando, uma agulha é introduzida na pele ou quando é cortada por faca ou é queimada.

Ainda segundo os mesmos autores supracitados, a dor lenta também tem vários nomes, como dor em queimação, dor persistente, dor pulsátil, dor nauseante e dor crônica. Esse tipo está frequentemente associada a processos inflamatórios, como resultado da lesão tecidual, reatividade imunológica anormal ou lesão nervosa. Pode levar a sofrimento prolongado e

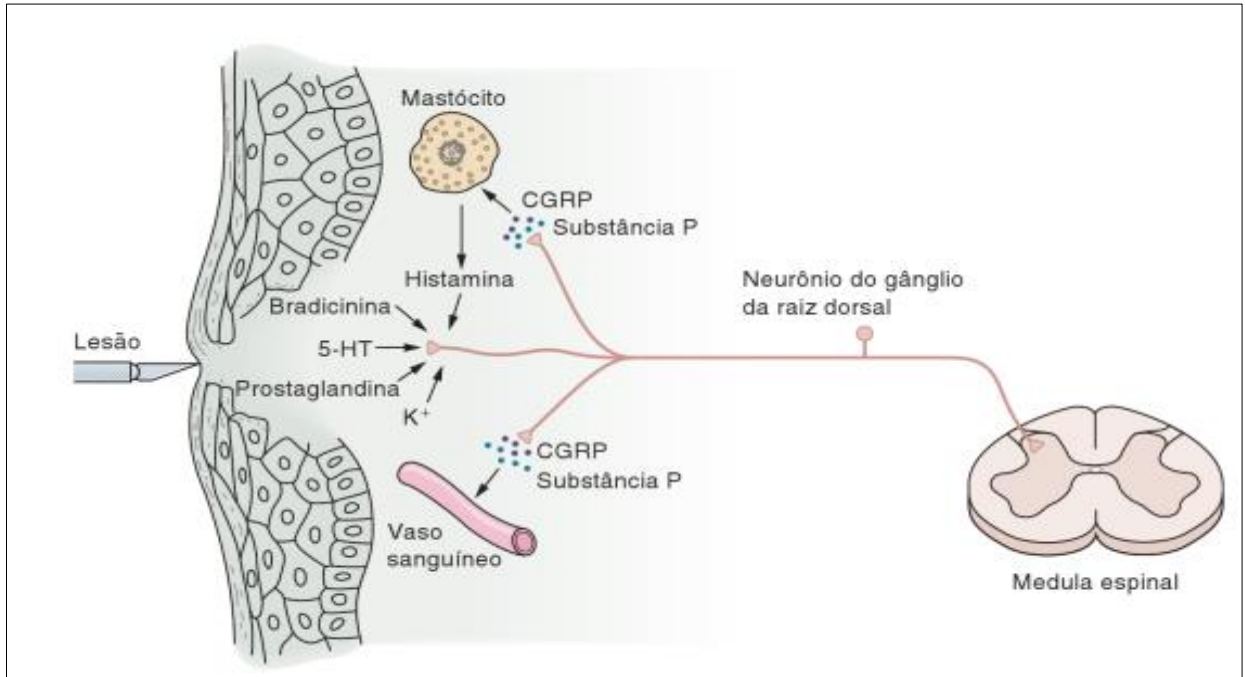
quase insuportável e pode ocorrer na pele bem como em todos os órgãos ou tecidos profundos.

De um modo geral, a dor aguda tem começo súbito e diminui durante o período de cura. Pode ser considerada uma “dor boa”, por ser um importante mecanismo protetor. O reflexo de retirada é um exemplo desse papel protetor da dor. Já a dor crônica pode ser considerada uma “dor ruim”, em razão de sua permanência após a recuperação da lesão e por ser geralmente refratária a fármacos com ação analgésica, como os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e opióides (RAFF E LEVITZKY, 2012).

A dor geralmente é acompanhada por hiperalgesia, que é uma resposta exagerada a um estímulo nocivo, e alodinia, que compreende a sensação de dor em resposta a um estímulo inócuo. Um exemplo deste último é a sensação dolorosa durante o banho quente quando a pele foi queimada pelo sol. Hiperálgesia e alodinia resultam do aumento da sensibilidade nas fibras aferentes nociceptivas. As substâncias químicas liberadas no local da lesão ativam os nociceptores e provocam dor inflamatória (RAFF E LEVITZKY, 2012).

As células lesadas liberam K^+ , que despolariza os terminais nervosos, tornando os nociceptores mais responsivos. As células lesionadas também liberam bradicinina e substância P, que sensibilizam ainda mais as terminações nociceptivas. A histamina liberada pelos mastócitos, a serotonina (5-HT) pelas plaquetas, o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP, do inglês calcitonin gene-related peptide) pelos terminais nervosos, e as prostaglandinas formadas a partir das membranas celulares contribuem a ativação ou sensibilização dos nociceptores. Algumas substâncias liberadas promovem o desprendimento de outras (ex, a bradicinina ativa as fibras $A\delta$ e C e aumenta a síntese e liberação de prostaglandinas) (RAFF E LEVITZKY, 2012) (Figura 02).

Figura 2 - Resposta a uma lesão tecidual, mediadores químicos ativam e sensibilizam os nociceptores.



Fonte: RAFF E LEVITZKY, 2012.

1.1.1 TRATAMENTO DA DOR

Analgesia é o termo utilizado para o alívio ou o término de sensação dolorosa sem, no entanto, ocorrer à perda da consciência. As substâncias que tem a capacidade de produzir analgesia são designadas analgésicos (BENEDITO, 2009)

As terapias encontradas atualmente para o tratamento da dor aguda e crônica baseiam-se em três principais classes de drogas: anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), fármacos opióides e um grupo de drogas com ações farmacológicas diversas, conhecidas como adjuvantes, compreendendo antidepressivos, anticonvulsivantes, anestésicos locais, agonistas dos receptores α_2 -adrenérgicos e agonistas gabaérgicos, entre outros. Todas as terapias existentes hoje possuem ação limitada para alguns tipos de dor (CARLINI E MENDES, 2011).

Além disso, as terapias existentes são usualmente insuficientes por possuírem efeitos colaterais severos e efetividade limitada. Desta forma, há uma busca por novas moléculas que sejam eficazes e com menores efeitos adversos (BAGGIO, 2010). As plantas medicinais têm sido bastante utilizadas e destacadas no alívio da dor (ALMEIDA *et al.*, 2012).

1.1.1.1 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS

Essa classe de medicamentos inibe a síntese de prostaglandinas e tromboxano que são responsáveis por induzir a inflamação ou talvez a hiperalgesia periférica (ROENN *et al.*, 2011).

Esses medicamentos inativam as enzimas ciclo-oxigenase-1 e ciclo-oxigenase-2. A primeira é responsável pela proteção fisiológica das prostaglandinas na mucosa gástrica e nos rins, já a segunda surge nos locais de inflamação (FUCHS *et al.*, 2010).

1.1.1.2 FÁRMACOS OPIÓIDES

Desde o início da criação de hospitais para doentes terminais e cuidados paliativos, a utilização de opióides tem sido fundamental para o controle da dor. E apesar destes serem altamente eficazes no alívio da dor a utilização dos opióides é bastante problemática devido aos efeitos adversos graves, entre eles, dependência, tolerância, constipação, náusea, vômito, sedação, depressão respiratória e retenção urinária (CARLINI E MENDES, 2011).

A morfina, principal fármaco desta classe, é um composto obtido da *Papaver somiferum* e foi o primeiro alcaloide isolado que serviu para o desenvolvimento de análogos sintéticos. Podem ser administrados por via oral, venosa, subcutânea, retal, intramuscular, sublingual, peridural ou intranasal. Há uma grande preocupação por parte dos familiares e pacientes no que se refere a estes tipos de fármacos em causar vício ou sensação de euforia, portanto é necessário que estes medicamentos sejam utilizados apenas em situação graves (ROENN *et al.*, 2011).

Os opióides ligam-se a três diferentes receptores (μ , δ e κ). Através da proteína G, os receptores são acoplados para inibir a atividade da adenililciclase, ativar as correntes de K^+ e diminuir as correntes de Ca^+ controladas por voltagem, promovendo hiperpolarização do potencial de membrana constituindo assim os mecanismos prováveis para a inibição da liberação dos neurotransmissores e a transmissão dos estímulos dolorosos (BRUNTON *et al.*, 2012).

1.2 INFLAMAÇÃO

A inflamação é uma resposta não específica da microcirculação a lesão dos tecidos podendo ser provocada por estímulos biológicos, físicos, químicos ou combinação destes (XU *et al.*, 2014). É caracterizada por rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional. Tudo isso leva a uma cascata de eventos bioquímicos, que ativam enzimas capazes de liberar mediadores, extravasamento de líquido, migração de células, quebra e reparo de tecidos (KUMARI *et al.*, 2014).

O processo fisiológico envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido no qual ocorreu a lesão. A resposta inflamatória é bastante benéfica ao organismo, pois ela age de forma a limitar a sobrevivência e proliferação dos patógenos invasores, promovendo a sobrevivência do tecido, reparo, recuperação e conservação da energia do organismo. Em algumas situações e doenças, essa resposta pode se tornar excessiva, sem qualquer benefício e com sérios efeitos adversos (PIRES, 2009; PINHEIRO E WANNMACHER, 2010).

Diferentes células estão envolvidas na resposta inflamatória como, neutrófilos, macrófagos, mastócitos, linfócitos, plaquetas, células dendríticas, células endoteliais e fibroblastos. Durante a infecção, a quimiotaxia é um importante evento para o recrutamento destas células para o sítio de inflamação. As primeiras células a chegar ao parênquima lesado são os neutrófilos e, subsequentemente, os macrófagos teciduais (KUMAR *et al.*, 2013).

A migração de células circulantes para os tecidos, chamada de diapedese, é direcionada pela presença de uma grande quantidade de substâncias quimiotáticas no local inflamado. Uma vez no tecido, as células procuram fagocitar o patógeno, permitindo o reparo da lesão (CRUVINEL *et al.*, 2010).

De modo geral, o processo inflamatório compreende três fases. A fase aguda, a qual é caracterizada pela presença de eventos vasculares, observando-se a vasodilatação local e o aumento da permeabilidade vascular; a fase tardia onde se observa a migração celular, com a infiltração de leucócitos e células fagocitárias e a fase proliferativa crônica, na qual ocorre degeneração tecidual e fibrose, podendo causar a dor através da ativação e sensibilização de nociceptores (CASTRO, 2011).

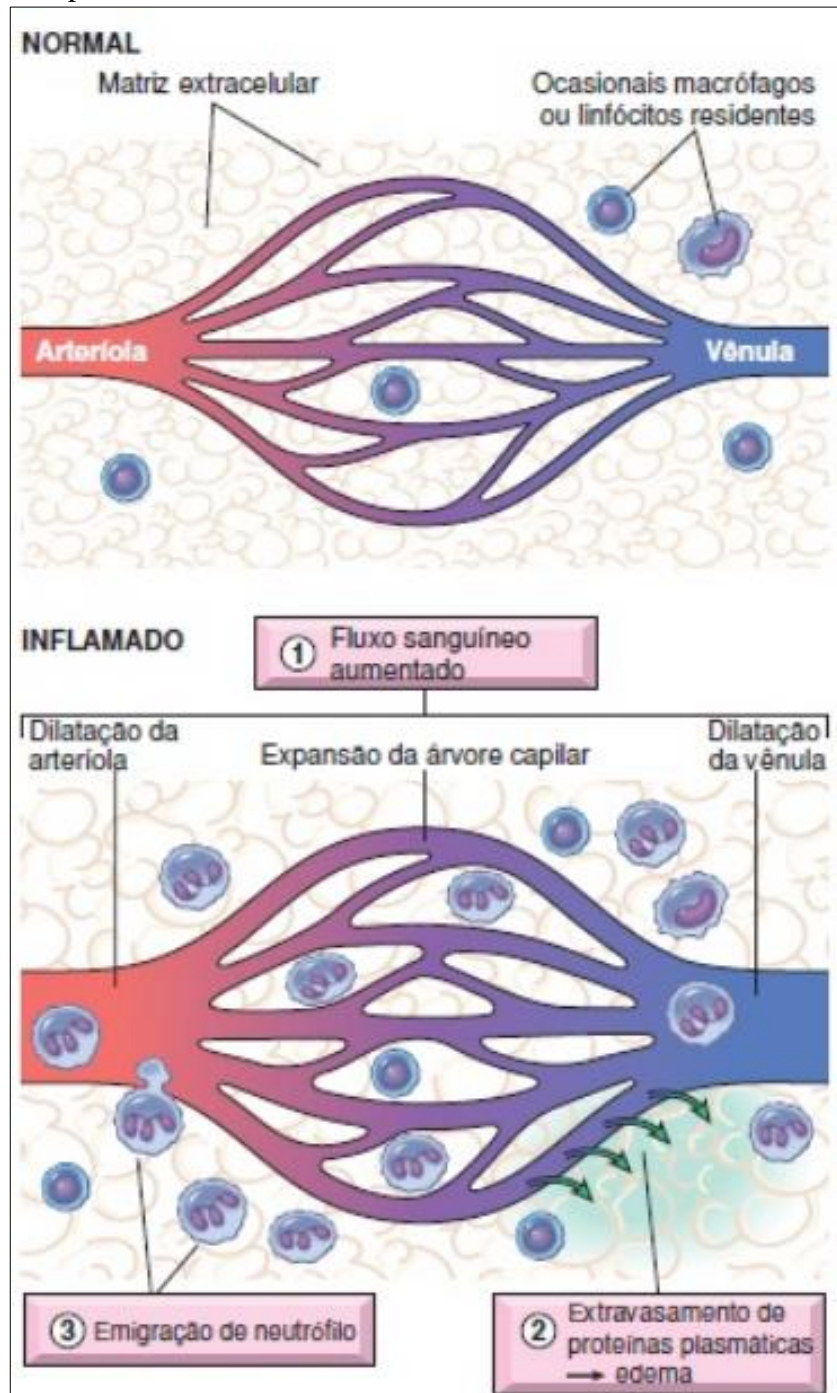
Na inflamação aguda, predominam elementos da resposta imune inata e as principais células que estão envolvidas são os neutrófilos e macrófagos. Na inflamação crônica, em geral ocasionada por persistência do estímulo doloroso, o processo inflamatório se mantém e sofre alterações qualitativas, caracterizadas por mudança progressiva nos elementos celulares e

solúveis que infiltram o tecido. A continuação do agente provocador da lesão leva à cronificação do processo, havendo destruição tecidual (CRUVINEL *et al.*, 2010).

Em nível histopatológico, ocorrem dois quadros sucessivos. Um agudo, caracterizado inicialmente por vasodilatação arteriolar e venular, com aumento da pressão hidrostática na microcirculação e fuga de líquido para o interstício (edema); e o aumento da permeabilidade na microvascularização por contração celular no endotélio venular (fenestração) causa escape protéico que diminui a pressão oncótica vascular e favorece a formação do exsudato inflamatório na intimidade do tecido (Figura 03) (FUCHS *et al.*, 2010).

Em nível molecular, há desnaturação protéica determinada por enzimas líticas (proteases, esterases, collagenases) liberadas pela ruptura da membrana dos lisossomas, em consequência de ação de fagócitos. A alteração protéica é o ponto de partida para a ativação de uma série de sistemas que sintetizam e liberam substâncias intermediárias de lesão, como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, leucotrienos e vários fatores quimiotáticos (FUCHS *et al.*, 2010).

Figura 3 - Primeiras manifestações locais na inflamação aguda, comparadas com o normal.



Fonte: KUMAR *et al.*, 2010.

A ativação da enzima fosfolipase A₂, em resposta a vários estímulos, hidrolisa os fosfolípidios da membrana, liberando ácido araquidônico no citoplasma. Este, por sua vez, serve de substrato para duas vias enzimáticas: ciclo-oxigenase (COX) e lipoxigenase. Pela via da COX é gerada a prostaglandina (PG) H₂, que estimula a formação de vários prostanóides,

incluindo diversas prostaglandinas -PGI₂, PGD₂, PGE₂ PGF₂α -, e tromboxano A₂. Pela via da lipoxigenase formam-se leucotrienos, lipoxinas e outros produtos (BATLOUNI, 2010).

Os produtos do metabolismo do ácido araquidônico por estas duas vias enzimáticas são chamados de eicosanóides, constituídos por prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PIs), tromboxanos (TXs) e leucotrienos (LTs), que possuem elevada potência e garantem um amplo espectro de atividades biológicas. Os eicosanóides desempenham importante função na indução e na facilitação de patologias, principalmente as doenças inflamatórias, tendo por isso, a supressão de suas ações sido um dos principais alvos e objetivos terapêuticos para o desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios (CASTRO, 2011).

A ciclo-oxigenase é encontrada em duas isoformas, denominadas ciclo-oxigenase-1 (COX-1) e ciclo-oxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas, principalmente nos vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins. A COX-2 pode ser induzida na presença de interleucina-1, interleucina-2 e fator de necrose tumoral α (TNF-α), ésteres do forbol, fatores de crescimento e endotoxinas, e é expressa por células envolvidas no processo inflamatório (macrófagos, monócitos e sinoviócitos) (SILVA, 2010b).

1.2.1 TRATAMENTO DA INFLAMAÇÃO

A utilização de substâncias químicas que possam melhorar a dor e a inflamação é uma das necessidades mais antigas da humanidade. Desde o isolamento da salicilina e a demonstração dos seus efeitos antipiréticos em 1829 por Leraux, um longo caminho de pesquisa vem sendo trilhado (MONTEIRO *et al.*, 2008).

Agentes anti-inflamatórios são utilizados no tratamento de distúrbios inflamatórios. Fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) ou esteróides (AIEs) são utilizados para tratar diferentes doenças inflamatórias (MEHTA *et al.*, 2013).

Os AINEs encontram-se entre os medicamentos mais prescritos no mundo e possuem propriedades analgésica, antitérmica, anti-inflamatória e antitrombótica. Podem apresentar uma maior afinidade por uma das isoformas da COX, daí serem classificados segundo a sua seletividade, sendo denominados de COX não seletivo, os que apresentam afinidade tanto pela COX-1 como pela COX-2, e os seletivos, que são aqueles que apresentam maior grau de afinidade pela COX-2 (Quadro 01) (PIRES, 2009; BATLOUNI, 2010).

Quadro 1 - Anti-inflamatórios não-esteroidais.**INIBIDORES NÃO- SELETIVOS DE COX****DERIVADOS DO ÁCIDO SALICÍLICO**

Ácido acetilsalicílico

Diflunisal

Salicilatos não-acetilados: salicilato de sódio, trissalicilato de colina e magnésio, salsalato, ácido salicilsalicílico

ÁCIDOS INDOLACÉTICOS

Indometacina

Sulindaco

ÁCIDOS HETEROARILACÉTICOS

Tolmetina

Diclofenaco

Cetorolaco

ÁCIDOS ARILPROPIÔNICOS

Naproxeno

Ibuprofeno

Fenoprofeno

Cetoprofeno

Flurbiprofeno

Oxaprozina

ÁCIDOS ANTRANÍLICOS

Ácido mefenâmico

Ácido meclofenâmico

ÁCIDOS ENÓLICOS

Piroxicam

Meloxicam

ALCANONAS

Nabumetona

INIBIDORES SELETIVOS DE COX-2

Rofecoxib

Celecoxib

Parecoxib

Valdecoxib

ÁCIDO INDOLACÉTICO

Etodolaco

SULFANANILIDA

Nimesulida

Fonte: FUCHS *et al.*, 2010

Inicialmente, acreditava-se que os efeitos colaterais advindos do uso de AINEs, estariam relacionados apenas aos COX não seletivos e que a prescrição de fármacos seletivos para a COX-2 era totalmente segura por não interferir nos processos fisiológicos não

inflamatórios. Entretanto, a partir do conhecimento da expressão da COX-2 em tecidos normais (não patológicos), pôde-se concluir que essa classe de anti-inflamatórios também produziria efeitos colaterais graves, apesar de serem em menor grau que os COX não seletivos (PIRES, 2009).

Os AINEs estão associados a alguns efeitos adversos como asma, rinite, reações cutâneas, anafilaxia, anafilaxia não alérgica, meningite asséptica, pneumonite de hipersensibilidade e lesões gástricas (Quadro 02), deste modo, agentes que produzam poucos efeitos adversos é cada dia mais desejável para substituir a terapêutica química (VARALDA E MOTTA, 2009).

Quadro 2 - Efeitos adversos comuns dos AINEs.

SISTEMA	MANIFESTAÇÕES
Gastrintestinal	Dor abdominal Náuseas Diarreia Anorexia Erosão/úlceras gástricas Anemia Hemorragia gastrintestinal Perfuração/obstrução
Plaquetas	Inibição da ativação plaquetária Propensão a equimoses Maior risco de hemorragia
Renal	Retenção de sal e água
Cardiovascular	Edema, piora da função renal em pacientes renais/cardíacos ou cirróticos Menor eficácia dos medicamentos anti-hipertensivos Menor eficácia dos diuréticos Redução da excreção de uratos (especialmente com ácido acetilsalicílico). Hiperpotassemia Fechamento do canal arterial Infarto do miocárdio AVC
SNC	Trombose Cefaleia Vertigem

	Tonturas
	Confusão
	Hiperventilação (salicilatos)
Útero	Prolongamento de gestação
	Inibição da parturição
Hipersensibilidade	Rinite vasomotora
	Edema angioneurótico
	Asma
	Urticária
	Rubor
	Hipotensão
	Choque

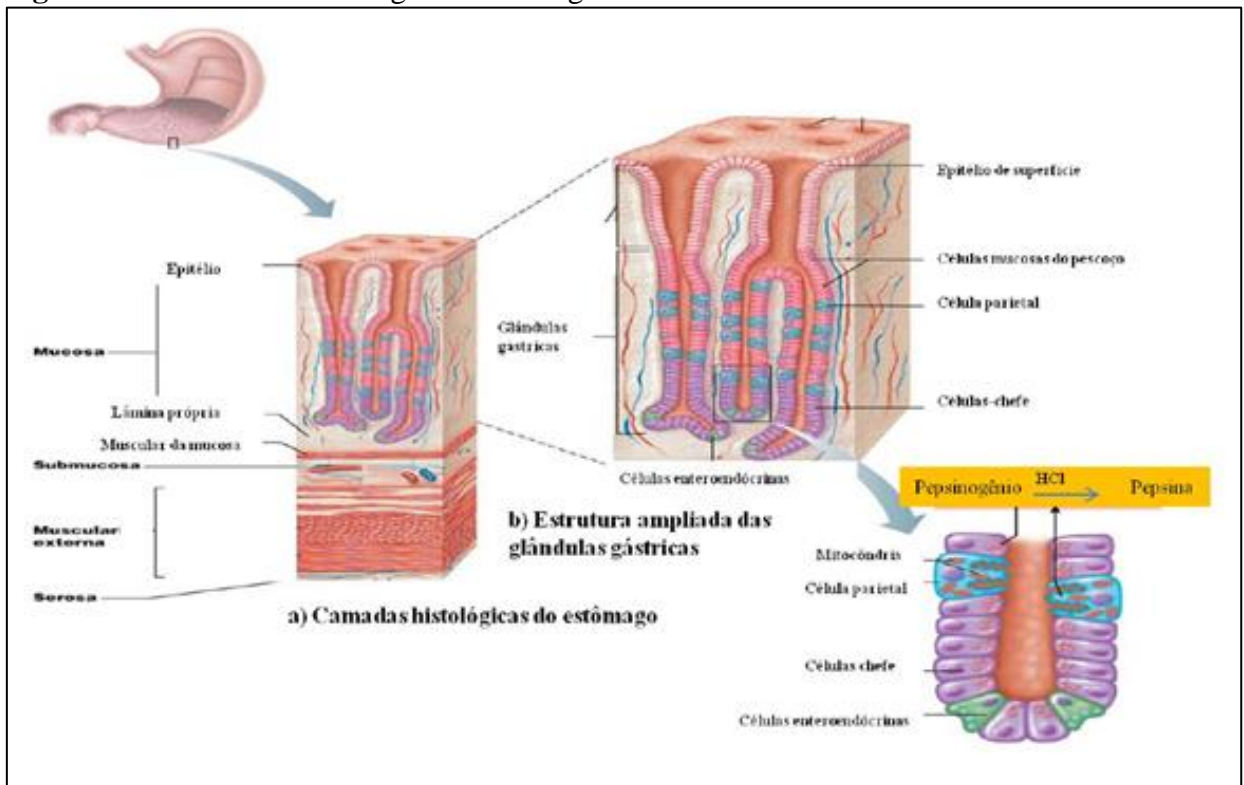
Fonte: BRUTON *et al.*, 2012

1.3 ANATOMIA FUNCIONAL DO ESTÔMAGO

O estômago é a parte mais dilatada do trato gastrintestinal e tem como formato um J. Está posicionado entre a parte abdominal e o intestino delgado. Anatomicamente é dividido em fundo, corpo e antro (DRAKE *et al.*, 2010).

Quanto à histologia, podem ser observadas várias camadas concêntricas de tecido: a mucosa, que recobre o lúmen estomacal; uma fina camada de músculo liso, conhecida como muscular da mucosa; a submucosa, que consiste em tecido conjuntivo e vasos sanguíneos; a túnica muscular, composta de várias camadas de músculo liso e a serosa, que faz o limite do estômago com a cavidade peritoneal (MADOLOSSO, 2011) (Figura 04).

Figura 4 - Anatomia e histologia do estômago.

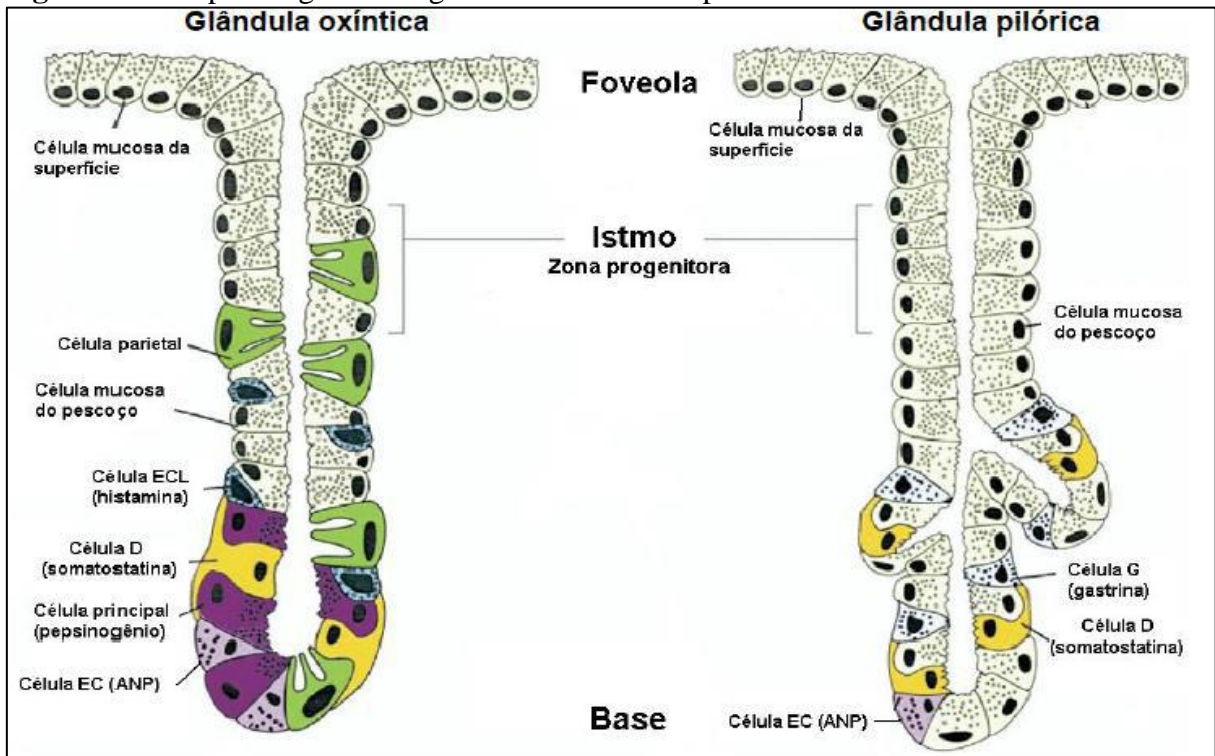


Fonte: ALMEIDA, 2013.

Do ponto de vista secretor, as diferentes regiões do estômago são: a cárdia, localizada logo abaixo do esfíncter esofágico inferior, contendo apenas glândulas secretoras de muco; a região oxíntica, no corpo do estômago, correspondendo a 80% da sua área total, possuindo grande número de células parietais, que secretam o ácido clorídrico (HCl) e o fator intrínseco, além de células principais que têm somente o pepsinogênio como produto de secreção e a região antro-pilórica, contendo glândulas com células G que secretam gastrina e células D secretoras de somatostatina (ORSI, 2012).

As secreções auxiliam o processo digestivo de diversas formas: O epitélio colunar de revestimento do estômago secreta muco e bicarbonato, e sofre invaginações que dão origem às glândulas gástricas. Estas compõem funcionalmente o estômago em duas partes, as glândulas oxínticas e pilóricas (Figura 05). Apresentam formato túbulo-vertical e consistem de uma fenda na região apical, um istmo também denominado de zona progenitora e a região da base (SCHUBERT E PEURA, 2008; FRY, 2009; FEHER, 2012).

Figura 5 - Os tipos de glândulas gástricas e as células predominantes.



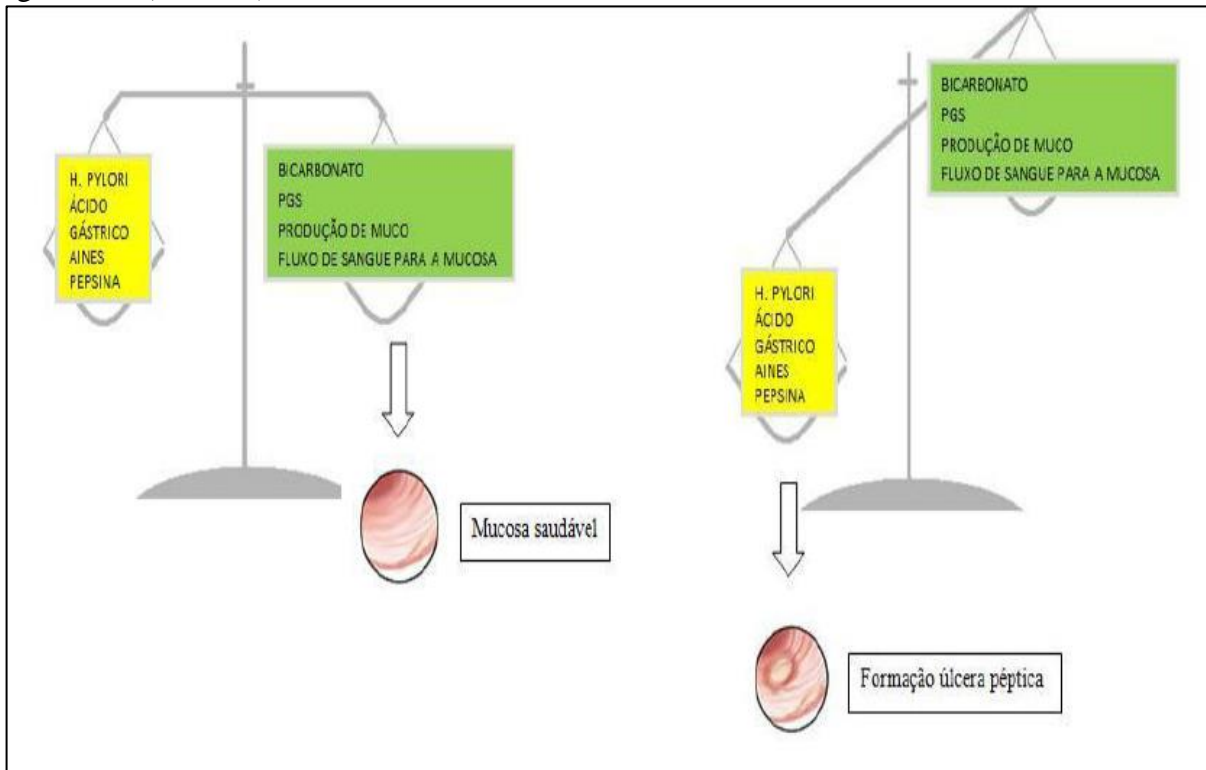
Fonte: Adaptado de SCHUBERT E PEURA, 2008.

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

1.4 ÚLCERA PÉPTICA

As úlceras pépticas (UP) abrangem as úlceras gástricas, duodenais e as esofágicas. Baseiam-se no desequilíbrio entre os fatores agressivos (secreção gástrica, pepsina, infecção pelo *Helicobacter pylori*) e protetores (secreção de muco e de bicarbonato, produção de prostaglandinas) (Figura 06) (BANSAL *et al.*, 2009; SILVA, 2010a).

Figura 6 -Fatores associados ao desequilíbrio entre os fatores protetores (verde) e os fatores agressores (amarelo).



Fonte: CARVALHO, 2013.

A UP é a causa mais comum de condições mais complicadas, como a hemorragia e a úlcera perfurativa que, por sua vez, está associada com alta mortalidade e morbidade. Acredita-se que aproximadamente 10% da população do mundo ocidental tenha, ou venha a ter, pelo menos, um episódio de UP em algum momento de sua vida. Os sintomas encontrados nos indivíduos acometidos por esta doença são dispepsia, dor epigástrica, desconforto abdominal, vômitos e sintomas de refluxo (MADOLOSSO, 2011).

A UP é comum e está sendo causa de frequentes consultas médicas em todo o mundo. Isso desencadeia o tratamento de mais de três milhões de pessoas, 190.000 hospitalizações e em torno de 5.000 mortes nos Estados Unidos a cada ano. O risco de desenvolver uma úlcera durante a vida é de aproximadamente 10% para o sexo masculino e 4% para o sexo feminino (KUMAR *et al.*, 2013).

Os fatores etiológicos desta doença são: estresse, tabagismo, deficiência nutricional, infecções, consumo excessivo de álcool, uso frequente e indiscriminado de AINEs (ALQASOUMI *et al.*, 2009; FEITOSA, 2011). O uso destes medicamentos foi detectado em cerca de 40% das pessoas com úlcera péptica e é a segunda causa mais comum para o desenvolvimento da doença ulcerosa, especialmente na população idosa (CAMPOS, 2008).

1.4.1 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA

1.4.1.1 MUCO

O muco é secretado em todo o trato gastrointestinal, caracterizado por um gel que se adere à superfície e promove uma barreira protetora contra agentes nocivos, enzimas e microorganismos. Ele também mantém o gradiente de pH próximo a neutralidade, evitando danos a mucosa gástrica. É secretado pelas células epiteliais da mucosa e contém 95% de água e 5% de mucina (glicoproteína). A secreção de muco é estimulada por hormônios gastrointestinais, como gastrina e secretina, bem como por PGE_2 e agentes colinérgicos. Substâncias ulcerogênicas, como AINEs e sais de bile, causam dissipação do gel mucoso e da camada de fosfolípidios, causando a lesão da mucosa (POTRICH, 2009).

1.4.1.2 BICARBONATO

A secreção de bicarbonato é um mecanismo de defesa, juntamente com o muco. É secretado pelas células superficiais do estômago e pelo duodeno, em resposta a vários estímulos, como as prostaglandinas, peptídeos gastrointestinais e contato com o ácido gástrico. Em condições normais, o bicarbonato neutraliza os íons H^+ , enquanto se difunde através da camada de muco, estabelecendo um gradiente de pH na mucosa gástrica (PINHEIRO, 2012).

1.4.1.3 ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico, um gás capaz de difundir-se em membranas biológicas, é sintetizado endogenamente a partir da L-arginina em uma reação catalisada por uma das três isoenzimas NO sintetase (NOS). Duas isoformas, a neuronal e a endotelial, são constitutivas e dependentes de Ca^{2+} /calmodulina e a terceira isoforma é a induzida, independente de Ca^{2+} . A NOS induzida (iNOS) é capaz de produzir altos níveis de NO durante um estado de injúria ou inflamação (PADRÃO, 2009).

O efeito gerado pelo NO deve-se à ativação da ciclase de guanilil solúvel (GCs). O NO se liga ao grupamento heme da GCs, produzindo o monofosfato cíclico de guanosina

(GMPc), ativando a proteína cinase G (PKG), dependente de GMPc e iniciando uma cascata de fosforilação que resulta na ativação de enzimas alvos (ALMEIDA, 2013).

No estômago, o óxido nítrico (NO) possui um papel importante na prevenção e reparo de lesões no trato gastrintestinal. Ele participa controlando a produção de muco e secreção de bicarbonato, na regulação do fluxo sanguíneo capilar da parede do estômago, e ainda atua como agente citoprotetor, anti-inflamatório e como complemento aos efeitos protetores das prostaglandinas, reduz a injúria na mucosa gástrica provocada, por exemplo, por agentes químicos como o etanol, e também facilita a cicatrização do tecido lesado (BEZERRA, 2009).

1.4.1.4 CANAIS DE POTÁSSIO SENSÍVEIS AO ATP

Os canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) são denominados desta forma porque são responsivos às concentrações de ATP intracelular. São alvos farmacológicos de inúmeros fármacos, dentre eles as sulfoniluréias, como glinbenclamida e glicemipirida, que bloqueiam esses canais. Há também fármacos que provocam a abertura destes, desencadeando uma vasodilatação que ajuda na proteção da mucosa gástrica contra agentes ulcerogênicos, isto acontece quando há entrada de potássio para o interior da célula, alterando o potencial elétrico de ação da membrana celular, provocando uma diminuição na entrada de cálcio, levando à vasodilatação (FREITAS, 2013).

Segundo Fernandes *et al.* (2010) estes pertencem a uma grande família de proteínas de membrana e são ativadas por ligantes. No sistema vascular, eles são responsáveis pelo relaxamento do músculo liso vascular, importante no controle da pressão sanguínea. A literatura mostra que os canais K_{ATP} estão envolvidos numa variedade de funções patofisiológicas no estômago, por exemplo, regulação do fluxo sanguíneo e secreção gástrica.

1.4.1.5 PROSTAGLANDINAS

As prostaglandinas (PGs) possuem papel fundamental na proteção da mucosa gástrica. As principais envolvidas na gastroproteção são as PGE_2 e PGI_2 , as quais podem ativar os receptores EP_3 das células parietais e das células epiteliais, causando a diminuição da secreção de ácido e aumento da secreção de muco, respectivamente. Também aumentam o

fluxo sanguíneo e a secreção de bicarbonato através da ativação dos receptores EP₁ (FREITAS, 2013).

Desta forma Beserra (2009) relata que as prostaglandinas (PGs) endógenas (principalmente PGE₂) mantém a integridade da mucosa principalmente por estimular a produção de muco e HCO₃⁻ (Bicarbonato) no estômago e duodeno, e também por manter o fluxo sanguíneo, aumentar a resistências das células epiteliais a injúria induzida por citotoxinas e eliminar o recrutamento de leucócitos para a mucosa. As PGs também regulam a liberação de diversos outros mediadores inflamatórios que possivelmente contribuem para a injúria da mucosa gástrica em certas circunstâncias.

1.4.1.6 SISTEMA ANTIOXIDANTE

O termo espécie reativa é definido como qualquer espécie química que contém um ou mais elétrons desemparelhados. Espécies reativas derivadas de oxigênio (EROS) é uma expressão que inclui radicais de oxigênio, como radical superóxido (O₂^{•-}), hidroxila (OH[•]), peroxila (RO₂) e hidroperoxila (HO₂) e outros agentes oxidantes que não são radicais, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ácido hipocloroso (HOCl) e ozônio (O₃), e que podem ser convertidos facilmente e de forma rápida em radicais. São provenientes de reações catalisadas por metais, reações catabólicas e metabólicas desenvolvidas por organelas citoplasmáticas, neutrófilos e macrófagos em resposta a inflamação (PINHEIRO, 2012).

O sistema antioxidante endógeno impede o desenvolvimento de EROs ou diminui suas concentrações teciduais, resultando em proteção à mucosa gástrica da peroxidação de lipídios e alterações das proteínas e ácidos nucleicos, o que desencadearia em morte celular. Alguns nutrientes essenciais podem atacar diretamente as EROs diminuindo a ação tóxica, produzidas intra e extracelularmente. Dentre muitos antioxidantes naturais, a vitamina E é o maior antioxidante lipossolúvel presente em todas as membranas celulares, retira os radicais livres formados no citocromo P-450. Os carotenóides, principalmente o β-caroteno, podem funcionar como precursores da vitamina A, atuando na diminuição da formação de oxigênio e removendo os já formados (RODRIGUES, 2008).

A primeira linha de defesa contra as EROs são enzimas antioxidantes que incluem a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-px). Pequenas moléculas como glutathione, vitamina C, terpenos e carotenoides fornecem uma segunda linha de defesa (FREITAS, 2013).

1.4.1.7 MICROCIRCULAÇÃO

Quando ácidos ou outros irritantes entram na camada subepitelial, neurônios aferentes sensoriais medeiam um rápido aumento no fluxo sanguíneo da mucosa, permitindo a rápida remoção das substâncias tóxicas, limitando a penetração em camadas mais profundas da mucosa. Estes neurônios quando estimulados, liberam peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), causando vasodilatação (MAYER, 2007).

1.4.2 FATORES AGRESSIVOS DA MUCOSA GÁSTRICA

1.4.2.1 SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICA

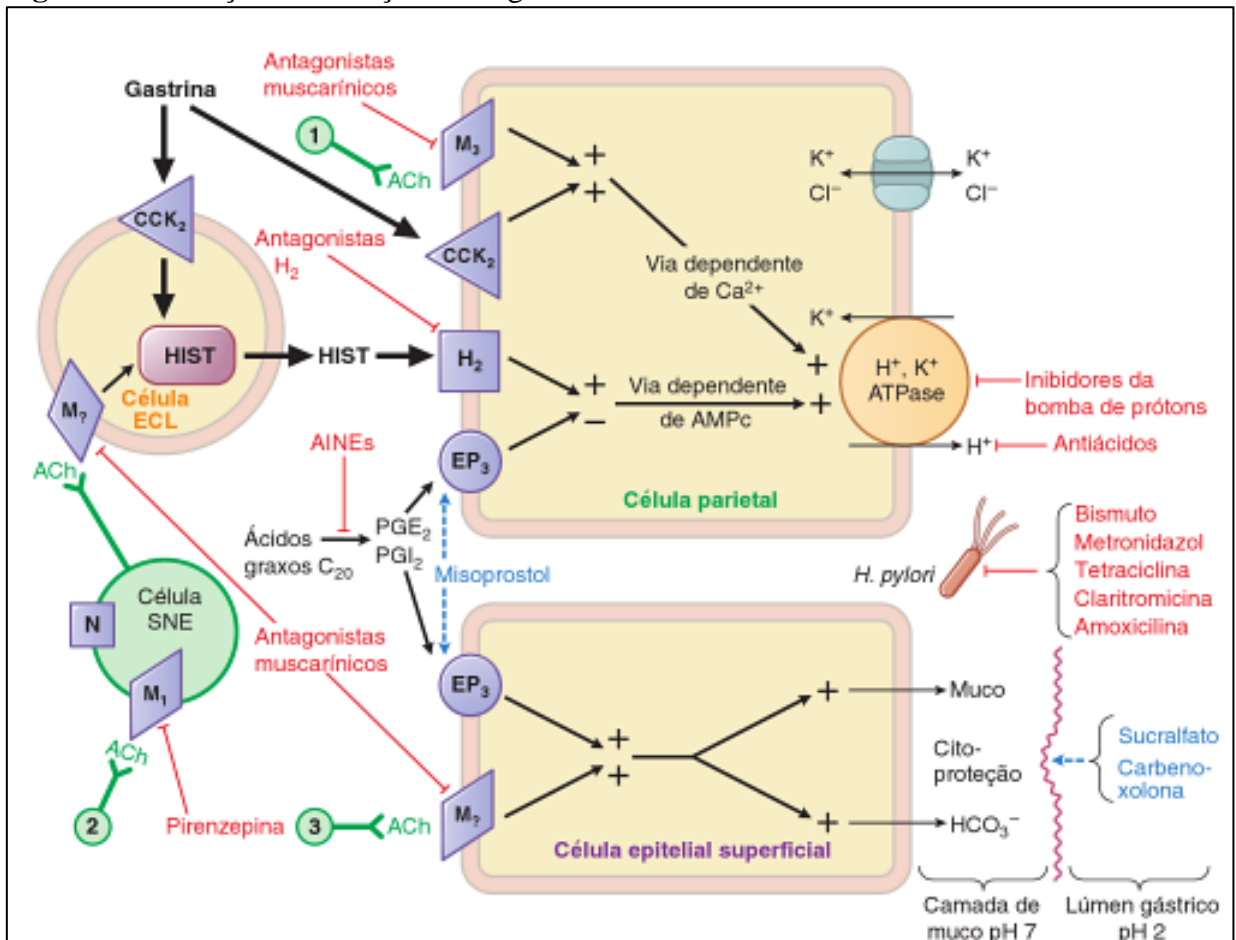
A conversão do bolo alimentar em quimo é proporcionada pela secreção gástrica, assim como a digestão de gorduras e carboidratos, mas diante de um estímulo a taxa desta secreção pode aumentar cerca de dez vezes mais (FRY, 2009).

A secreção ácida é produzida nas células parietais e é controlada pela ação de três potentes estimulantes: histamina, acetilcolina e gastrina. Eles atuam através de uma cascata de eventos que levam à ativação da $H^+, -K^+$ ATPase, que secreta íons hidrogênio em troca de potássio. A principal substância inibidora da secreção é a somatostatina, liberada das células D oxínticas e pilóricas (SILVA, 2010a).

O sistema nervoso central é considerado o mecanismo principal responsável pelo início da secreção gástrica em resposta a uma antecipação do alimento através da liberação de acetilcolina pelos neurônios eferentes vagais. Esta liga-se a receptores M_3 na membrana basolateral das células parietais e indiretamente estimula a liberação de histamina das células do tipo enterocromafins (ECL) no fundo gástrico e a liberação de gastrina das células G do antro gástrico. A histamina liberada pelas células ECL ativa as células parietais através da interação com receptores H_2 . A gastrina liberada das células G estimula as células parietais diretamente através da ligação com receptores CCKB presentes na membrana da célula ou indiretamente estimulando a liberação de histamina das ECL. Além dos estímulos centrais, a gastrina pode ser liberada através da distensão local do estômago e composição química do conteúdo gástrico. A ligação da acetilcolina, gastrina e histamina com seus respectivos receptores acoplados a proteína G ativam segundos mensageiros. A ativação das vias que dependem do Ca^{2+} intracelular pela gastrina e acetilcolina e/ou de AMPc pela histamina,

ativam a H^+ , K^+ -ATPase nas células parietais, resultando na secreção ácida gástrica (MAYER, 2007) (Figura 07).

Figura 7 - Produção da secreção ácida gástrica.



Fonte: BRUNTON *et al.*, 2012.

1.4.2.2 PEPSINA

A pepsina é secretada principalmente via estimulação colinérgica, sob a forma de pepsinogênio I e II, que são convertidos à pepsina ativa pela acidez gástrica (CARVALHO, 2000).

Ela é um componente do suco gástrico e atua na digestão das proteínas e ao combate de possíveis patógenos (ALMEIDA, 2013).

1.4.2.3 INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI*

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

Segundo Silva (2010b) estima-se que esta bactéria seja encontrada em até 40% da população. Acredita-se que ela seja transmitida pela via orofecal ou diretamente de pessoa para pessoa. Sua prevalência em áreas de países subdesenvolvidos é superior a 80%.

Enfatiza ainda Carvalho (2013) que a mesma possui uma potente atividade da enzima urease, propriedade com implicações patogênicas importantes e é encontrada apenas no epitélio gástrico, onde os organismos tendem a aglomerar-se à volta das junções entre as células, nunca penetram as células e não são encontrados na corrente sanguínea. A sua forma helicoidal e a presença de flagelos permitem à bactéria movimentar-se através do muco gástrico e a presença de adesinas confere-lhe aderência seletiva para o epitélio gástrico, como também apresenta vários mecanismos de adaptação à presença de ácido.

1.4.2.4 AINEs

AINEs são amplamente prescritos na clínica no tratamento da dor, febre e inflamação inibindo o metabolismo do ácido araquidônico pela via das ciclo-oxigenases (COXs), além de ferir diretamente o estômago por ação irritante local (OYAGI *et al.*, 2010).

Blandizzi *et al.* (2009) relatam que a inibição destas isoenzimas pelos AINEs induz a supressão das prostaglandinas, em especial PGE_2 e prostaciclina PGI_2 . A formação desta última pelo endotélio da microcirculação da mucosa é altamente relevante para assegurar uma inibição tônica da adesão de neutrófilos. Desta forma, ao bloquear a biossíntese de prostaglandinas, os AINEs alteram o equilíbrio da mucosa, induzindo o recrutamento e adesão endotelial dos neutrófilos. Uma vez aderidos, estas células obstruem a microcirculação, acometendo uma diminuição local no fluxo sanguíneo da mucosa e liberação de mediadores inflamatórios. Ainda afirmam que os efeitos adversos ocasionados por esta classe de

medicamentos, vão desde sintomas dispépticos, erosões gástricas e úlceras pépticas com complicações graves.

1.4.3 TRATAMENTO DA ÚLCERA PÉPTICA

Conforme Araújo *et al.* (2002) o tratamento da úlcera apresenta como possíveis alvos, diminuir os fatores de agressão da mucosa ou estimular suas defesas na produção de muco citoprotetor, bicarbonato, prostaglandinas e óxido nítrico.

Alguns autores sugerem que terapias convencionais utilizadas para o tratamento da úlcera são os antiácidos, antagonistas dos receptores H₂ da histamina e inibidores da bomba de prótons, além dos protetores de mucosa como os compostos de bismuto, sucralfato e análogos das prostaglandinas. Porém nas últimas décadas, vem dada ênfase na utilização de terapias a partir de fontes naturais. Ervas, plantas medicinais, especiarias e vegetais são considerados fontes com importante potencial para combater várias doenças, inclusive a úlcera gástrica (ALQASOUMI *et al.*, 2009; BEZERRA, 2009).

Durante séculos os antiácidos foram os únicos medicamentos utilizados para o tratamento da úlcera gástrica. Fazem parte da terapia mais simples por neutralizarem diretamente o ácido, aumentando o pH e inibindo a atividade de enzimas pépticas, que cessam a sua atividade em pH 5. Contudo, estes fármacos não inibem a produção de ácido e como a neutralização do pH é temporária, pode estimular a secreção de ácido. O hidróxido de magnésio e alumínio, carbonato de cálcio e o bicarbonato de sódio são os mais comumente utilizados (RANG *et al.*, 2012; SILVA, 2010b). O bicarbonato de sódio devido à sua elevada hidrossolubilidade, é rapidamente absorvido pelo estômago e pode causar alcalose podendo apresentar risco para doentes com insuficiência renal ou cardíaca, enquanto que o hidróxido de magnésio forma cloreto de magnésio no estômago não provocando alcalose, uma vez que este íon é mal absorvido a nível intestinal (CARVALHO, 2013).

Os antagonistas do receptor H₂ disponíveis no mercado são cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina. Estes inibem de forma competitiva e dose-dependente os receptores H₂, presentes nas células parietais e nos mastócitos do estômago, e são usados como inibidores da secreção de ácido gástrico induzida pela histamina, gastrina e acetilcolina. Este tipo de medicamento não só diminui a secreção de ácido basal e estimulada pela ingestão de alimentos em até 90% ou mais, como promovem a cicatrização de úlceras duodenais. Contudo, após cessar o tratamento é provável que ocorram recaídas (SILVA, 2010a). Brunton *et al.* (2012) ressaltam que os efeitos adversos incluem diarreia, cefaleia, sonolência, fadiga,

dor muscular e constipação, sendo os menos comuns aqueles que afetam o sistema nervoso central (confusão, delírio, alucinações e fala arrastada).

A introdução dos Inibidores de Bomba de Prótons (IBP) nos anos 80 causou um avanço na compreensão e controle das desordens gastrointestinais, tornando a cirurgia de úlcera péptica obsoleta, e esta classe de medicamento está entre as dez drogas mais prescritas, sendo também uma das classes de custo mais elevado (ARAI E GALLERANI, 2011).

Segundo RANG *et al.* (2012), o primeiro inibidor de bomba de prótons (IBP) surgido foi o benzimidazol, que posteriormente foi substituído pelo omeprazol. Estes medicamentos inibem de forma irreversivelmente a bomba de prótons, a etapa terminal na via secretora de ácido. Outros inibidores de bomba de prótons encontrados no comércio são esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol e rabeprazol. Os IBP são, em geral, bem tolerados pelo organismo e, na maioria dos casos em que surgem efeitos adversos, estes são moderados e passageiros. Entre as reações mais relatadas estão cefaleia, diarreia, náusea, exantema, tonteira, sonolência, impotência, ginecomastia e dores musculares (ARAI E GALLERANI, 2011). Porém, alguns estudos levantam questões sobre a segurança do uso contínuo de IBP no manejo de doença péptica relacionada à acidez gástrica. A maior preocupação é com os efeitos de longo prazo, devido à intensa supressão ácida que promove aumento na secreção de gastrina e consequente hipergastrinemia (AL-SOHAILY E DUGGAN, 2008).

Os compostos de bismuto são responsáveis pelo efeito citoprotetor, que é alcançado através do aumento da secreção gástrica de muco e bicarbonato, inibição da atividade da pepsina e sedimentação preferencial dos compostos nas crateras das úlceras, estes ainda apresentam efeito antibacteriano contra *Helicobacter pylori* e pode ser por esta razão que este efeito seja responsável por boa parte da citoproteção encontrada (SILVA, 2010a).

O sucralfato é uma sal de sacarose que apresenta-se complexado com hidróxido de alumínio sulfatado. Em água ou soluções ácida, forma uma pasta viscosa fortemente adesiva, que se liga às úlceras e erosões formando uma barreira protetora com o intuito de proteger contra a penetração do ácido clorídrico, da pepsina e da bile (KATZUNG *et al.*, 2014). O sucralfato é seguro e isento de efeitos secundários e por isso é amplamente usado para prevenir doenças do refluxo gástrico-esofágico, gastrite, úlcera péptica, úlcera de estresse, no tratamento de estomatite aftosa recorrente e em gastrite provocada pela bactéria *H. Pylori*. Embora o mecanismo deste em acelerar a cura de úlceras duodenais não esteja totalmente definido, sabe-se que o seu efeito protetor se relaciona à ação local (FREITAS, 2013).

Por fim temos o análogo das prostaglandinas representado pelo misoprostol, útil na restauração da barreira protetora da mucosa gástrica em pacientes que fazem uso crônico de

AINEs (SILVA, 2010b). Carvalho (2013) relata que este medicamento exerce uma ação direta nas células parietais, inibindo a secreção basal de ácido gástrico e a estimulada por histamina, gastrina, cafeína e por ingestão de alimentos. Tem também a capacidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e elevar os níveis de secreção de muco e bicarbonato. Com relação aos efeitos adversos, o autor supracitado descreve que o mais predominante é a diarreia, com ou sem cólicas. O mesmo enfatiza que este medicamento está contraindicado na gravidez, pois pode aumentar as contrações uterinas e, conseqüentemente, levar a um parto prematuro.

De acordo com Beserra (2009), a conduta terapêutica atual é adequada, porém não há no mercado farmacêutico nenhum produto que seja 100% eficaz, além do mais são medicamentos de alto custo e apresentam efeitos colaterais e reações adversas importantes. Por isso, as plantas são fontes de constituintes terapêuticos potencialmente ativos que constitui uma grande estratégia para a descoberta de novos fármacos antiulcerogênicos.

1.5 USO DE PLANTAS MEDICINAIS

Durante a 31^a Assembleia da Organização Mundial de Saúde, o termo planta medicinal foi oficialmente reconhecido e proposto que “planta medicinal” é aquela que quando administrada ao homem ou animais, por qualquer via ou sob qualquer forma, desempenha uma ação farmacológica. Muitos fármacos atuais são derivados direta ou indiretamente de substâncias produzidas por plantas superiores (SILVA, 2010b).

Segundo Firmo *et al.* (2011), as plantas medicinais e seus derivados são utilizados para o tratamento de enfermidades humanas há bastante tempo e esta prática vêm se expandindo por todo o mundo. Afirmam Schreiner *et al.* (2009) que o motivo da expansão deve-se principalmente devido aos altos custos, aos frequentes efeitos colaterais da medicina tradicional alopática, a precariedade nos serviços de saúde e a busca por um tratamento mais natural ().

No Brasil há uma grande diversidade vegetal e experiências atreladas ao conhecimento popular e científico. As plantas tem sido de grande importância na área farmacêutica, pois é a partir destas que são descobertas substâncias ativas isoladas capazes de desenvolver novos fármacos, obter adjuvantes, e ainda elaborar medicamentos exclusivamente à base de extratos vegetais: medicamentos fitoterápicos (SANTOS *et al.*, 2009).

Machado (2013) ainda revela que, diversos fitoconstituintes já são conhecidos e que vários estudos são realizados em modelos experimentais com o intuito de avaliar as atividades biológicas *in vitro* e *in vivo* dos mesmos.

Grande parcela da população de muitos países desenvolvidos faz uso de remédios tradicionais, especialmente as de plantas medicinais. Apesar da medicina moderna ser de fácil acesso para estes países, a utilização de ervas medicinais mantém o seu sucesso por razões históricas e culturais, já nos países em desenvolvimento, 70-95% da população fazem uso desta terapia, pois depende quase que exclusivamente das plantas medicinais para a saúde básica devido ao acesso limitado aos medicamentos (AGRA *et al.*, 2007; VEIGA-JUNIOR, 2008; WHO, 2011).

Muitos dos fármacos disponíveis atualmente são resultados da extração de fontes naturais, como por exemplo, morfina, quinina, cocaína, reserpina, emetina, atropina, pilocarpina, efedrina, tubocurarina e outros (SILVA, 2010b).

Desta forma, Almeida *et al.*(2012) sustentam que a utilização de plantas medicinais para alívio da dor e inflamação é uma prática comum na medicina popular, mas os princípios ativos na maioria dos casos são desconhecidos, deste modo, a busca pela avaliação dos efeitos farmacológicos dos extratos ainda pode ser usada como uma estratégia para pesquisa de novos medicamentos

1.6 FAMÍLIA ANACARDIACEAE E GÊNERO SPONDIAS

A família Anacardiaceae é composta por mais de 70 gêneros e mais de 600 espécies, são principalmente de árvores e arbustos que crescem em regiões tropicais, zonas subtropicais e temperadas. Do ponto de vista fitoquímico, são ricos em metabólitos secundários, em compostos fenólicos, com atividades biológicas interessantes. E é por isso que muitas das espécies desta família têm sido utilizadas como plantas medicinais (ENGELS *et al.*, 2012).

Os principais gêneros dessa família botânica são *Anacardium* e *Mangifera* (Anacardiae), *Spondias*, *Lanneae* e *Tapiríra* (Spondiadeae), *Semecarpus* (Semecarpeae), *Schinus*, *Rhus* e *Ozoroa* (Rhoeae) e *Dobinea* (Dobineae). O mais importante no Brasil é o *Spondias*, que inclui espécies conhecidas popularmente como umbuzeiro e cajazeira (DI STASI E HIRUMA-LIMA, 2002).

O gênero *Spondias* é constituído de dez a quinze espécies, das quais o umbuzeiro (*S. tuberosa* Arruda), a cajazeira (*S. mombim* L.), cerigueleira (*S. purpurea* L.), cajá-mangueira

ou cajaraneira (*S.cytherea* Sonn.) e umbucajazeira (*Spondias* sp.) encontram-se dispersas na zona da mata, no agreste e nas serras úmidas do nordeste, com exceção do umbuzeiro que é a única que vegeta nas áreas da caatinga do semiárido nordestino brasileiro (LIMA-FILHO E SANTOS, 2009; LINS NETO *et al.*, 2011).

Estudos relataram que *Spondia mombim* L. contêm alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas e compostos fenólicos, e é utilizada no tratamento de câncer de próstata, como também agem como antimicrobiana, antiviral, antidiarreica, anti-inflamatória e anti-helmíntica (AYOOLA *et al.*, 2010; IGWE *et al.*, 2010).

Pesquisas realizadas com *Spondia purpurea* L. apresentaram atividades antimicrobiana (CRUZ *et al.*, 2012), antioxidante (SILVA *et al.*, 2012), antidiarreica (RAMOS, 2013) e gastroprotetora (ALMEIDA, 2013).

1.7 SPONDIA TUBEROSA

O umbuzeiro ou imbuzeiro (*Spondia tuberosa* Arruda) possui cerca de 6 metros de altura e seu nome em tupi-guarani é "y-mb-u", que significava "árvore que dá de beber", sendo conhecido, também como umbu, imbu, ambu e ombu. Pela importância de suas raízes foi chamada "árvore sagrada do Sertão" (BARRETO, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2011). Esta planta desenvolve-se em meio a outras e pode ser plantada sem a necessidade de desmatamento na área. O plantio é feito abrindo-se picadas ou trilhas na caatinga, com espaço mínimo de 10 metros entre elas. A caatinga é um ecossistema de floresta seca exclusiva do Brasil, localizada no nordeste do país e que ocupa uma área de aproximadamente 800.000 km² (BARRETO, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2011).

Lima filho (2011) relata que a área de vegetação natural desta espécie é limitada da Mata Atlântica, do Cerrado e da região pré-amazônica, também é encontrada nas caatingas elevadas da Serra da Borborema, serras do Seridó norte-riograndense, agreste piauiense, caatingas pernambucanas e baianas e no norte de Minas Gerais, principalmente nas áreas com temperaturas entre 13°C a 38°C, umidade relativa entre 30% e 80%, pluviosidade anual de 400 mm a 800 mm e 2.000 a 3.000 horas de insolação.

O umbuzeiro possui apenas um período de floração e frutificação por ano, coincidindo com o período mais crítico de ausência de chuvas. Este perde suas folhas no verão e, para diminuir a perda de água pela transpiração, entra em estado de dormência (BARRETO, 2010).

As folhas do umbuzeiro são verdes, alternas, pecioladas, com 3 a 7 folíolos oblongos-ovalados, com base obtusa ou cordada, ápice agudo ou obtuso, com cerca de 2 a 4 cm de comprimento, 2 a 3 cm de largura e margens serrilhadas ou inteiras lisas, podendo apresentar pilosidade, glabras quando adultas, tornando-se de coloração avermelhada no início da estação seca anual, antecedendo a abscisão (CAVALCANTI E RESENDE, 2006; LIMA, 2009). Segundo Vidigal *et al.* (2011) as folhas das *Spondias tuberosas* tem um alto teor de tanino e polifenóis. Enfatizam ainda Monteiro *et al.* (2005) que os taninos participam em processos de cicatrização, queimaduras e inflamações, formam uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) sobre tecidos epiteliais lesionados, permitindo que, logo abaixo dessa camada, o processo de reparação tecidual ocorra naturalmente. Em doenças estomacais, o mecanismo de ação é bem semelhante, com a formação de uma camada de tanino-proteína complexados que envolvem a mucosa estomacal.

Os frutos provenientes desta planta (umbu) são drupas e medem em torno de 12 a 15 cm, pesam entre 10 a 20 gramas, possuem uma coloração esverdeada quando “de vez” (são aqueles frutos maiores e com a casca ainda verde) e amarelo esverdeado quando maduros. Quanto ao sabor, caracteriza-se por agridoce. Os mesmos apresentam fontes de vitaminas (B₁, B₂, A, C e niacina) e minerais (cálcio, fósforo e ferro), portanto são importantes para a nutrição e representam uma fonte de renda alternativa para pessoas durante a seca (CAVALCANTI E RESENDE, 2006; VIDIGAL *et al.*, 2011; LINS NETO *et al.*, 2013) (Figura 08).

Figura 8 - Árvore e frutos de *Spondia tuberosa* Arruda.



Fonte: LIMA, 2009.

Segundo Almeida *et al.* (2011), a planta de umbuzeiro pode ser considerada de aproveitamento total, pois a sua madeira é empregada na fabricação de móveis rústicos, telhamento e sustentação de casa de taipa, lenha, carvão e pasta para papel. Por ser de grande

beleza e pela grande copa que apresenta, oferece sombra a animais e pessoas. É indicada para ser plantada vizinha às casas rurais como planta ornamental. Na medicina caseira, a água das "batatas" (túberas) é rica em vitamina C e sais minerais, sendo utilizada para combater diarreias, verminose e escorbuto. O chá feito da casca também é recomendado para combater a diarreia e outras moléstias. Os índios Kariri-shoko utilizam o decocto da casca como anti-hemorrágico e para prevenir abortos. Ainda, o chá da casca ou das folhas é utilizado como calmante. Na forragem, as folhas, os frutos e as túberas servem de alimento para os animais domésticos. O caroço do umbu é rico em gordura e proteína e o óleo retirado dele pode ser utilizado nas indústrias para a fabricação de margarina e óleos.

Diante do que foi exposto, há uma necessidade de investigar as atividades biológicas relacionadas a esta planta.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora do extrato etanólico de *Spondia tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) em diferentes modelos experimentais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o extrato etanólico bruto a partir das folhas da espécie *Spondia tuberosa*;
- Realizar estudos toxicológicos de *Spondias tuberosa* através do bioensaio com *Artemia Salina* Leach, e toxicidade aguda com a determinação da Dose letal 50 % (DL₅₀);
- Observar a atividade antinociceptiva do extrato etanólico das folhas da *Spondia tuberosa* em modelos *in vivo* através do teste da formalina;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato etanólico das folhas da *Spondia tuberosa* em modelos *in vivo* através da peritonite induzida por carragenina;
- Avaliar a ação gastroprotetora do extrato etanólico bruto das folhas de *Spondia tuberosa* em modelos de úlcera gástrica induzida por diversos agentes.
- Investigar a participação de prostaglandinas no efeito gastroprotetor do extrato.

3 METODOLOGIA

3.1 LOCAL DE PESQUISA

Os estudos de toxicidade e investigação das atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora foram realizadas no Laboratório de Ensaio Farmacológicos, localizado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

3.2 MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico utilizado para os experimentos foram folhas obtidas da espécie *Spondias tuberosa* Arruda, coletado na área destinada a Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Ligeiro, da Fundação Universitária de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FURNE), localizada em Campina Grande-Paraíba. Uma exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário Arruda Câmara da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob registro ACAM 00176.

3.3 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O extrato etanólico bruto de *S. tuberosa* (EEtOH-St) foi obtido no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (LABDEM), do Complexo Integrado de Pesquisas “Três Marias”, da UEPB.

Após coleta, as folhas frescas foram limpas e colocadas em estufa de circulação de ar a 40°C (Fanem[®] 330) para o processo de secagem. Este material só foi retirado quando obtido uma estabilização na massa. Em seguida, foi realizada a pulverização das folhas em moinho de facas. O pó obtido foi submetido à percolação com etanol e a extração foi realizada por esgotamento. Obtendo-se a solução extrativa etanólica, esta foi concentrada no evaporador rotativo (Quimis[®] Q334B) para obter o Extrato Etanólico Bruto (EEtOH).

3.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Os animais utilizados foram: 60 Larvas de *Artemia salina* L.; 40 Camundongos albinos, linhagem Swiss pesando entre 25-35g; 156 Ratos albinos, linhagem Wistar pesando

entre 180-200g. Todos os animais foram provenientes do laboratório de ensaios farmacológicos da UEPB (Figura 09).

Figura 9 - Animais utilizados: (A) Larva de *Artemia salina* L., (B) Camundongo Swiss e (C) Rato Wistar.



Fonte: (A) <http://www.thefishguide.com/> (B e C) Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

Os ratos e camundongos foram mantidos sob temperatura $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e ciclos claro-escuro controlado de 12 horas. Os animais foram alimentados com ração Purina tipo pellets e água *ad libitum*, sendo distribuídos nos diferentes grupos experimentais, ao acaso.

A eutanásia dos animais foi realizada de acordo com a Resolução n° 1.000/2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, precedida por anestesia geral prévia com cloridrato de quetamina 5% (150 mg/kg) e cloridrato de xilazina 2% (20 mg/kg), via intraperitoneal. Após a observação da ausência do reflexo corneal, o processo foi finalizado com deslocamento cervical.

Os protocolos experimentais foram realizados mediante aprovação prévia, por escrito, da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/CESED – PB sob registro n° 0045/22052014 (Anexo I).

3.5 AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA PRÉ-CLÍNICA

3.5.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL 50% (CL₅₀) FRENTE ARTEMIA SALINA

Para a avaliação toxicológica da CL₅₀ do EEtOH- St, foram utilizados larvas de *Artemia salina* (Leach), crustáceo da classe Anostracea (Brine Shrimp Test). Estas foram utilizadas, na forma de metanúplios, para a avaliação da atividade toxicológica.

O EEtOH-St foi solubilizado em água salina artificial. Partindo-se de uma solução mãe de 10 mg/ml, foram efetuadas diluições para concentrações de 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µg/ml do EEtOH- St. Para a obtenção dos metanúplios de *Artemia salina* (Leach), foram colocados 25 mg de ovos (cistos) em água salina artificial (NaCl 6,3 g/L; KCl 0,75 g/L; CaCl₂.2H₂O 1,47 g/L; NgCl₂.6H₂O 5,10 g/L; NaHCO₃ 0,21 g/L; MgSO₄.7H₂O 6,20 g/L; pH 8-9 e 29°C) sob iluminação artificial por 48 h. Em seguida foram colocados 10 ml das diferentes concentrações em tubos de ensaio e adicionado de 10 metanúplios. Cada concentração foi testada em triplicata. Um grupo controle foi preparado contendo apenas o solvente e as larvas. O conjunto foi incubado sob luz artificial por 24 h e após esse período foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas para determinação da CL₅₀ (LOPES *et al.*, 2004).

3.5.2 TOXICIDADE AGUDA E AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

Para a realização desse experimento, foram utilizados camundongos Swiss albinos machos e fêmeas, estes foram submetidos a um jejum de 12 horas, em seguida divididos em 4 grupos, sendo 2 grupos de machos e 2 grupos de fêmeas. Cada grupo recebeu o veículo (solução salina 10 ml/kg) ou o EEtOH-St na dose de 2000 mg/kg, pela via oral (gavagem).

Uma série de parâmetros comportamentais, tais como a hiperatividade, irritabilidade, cianose, tônus muscular, força para agarrar, foram observados nos intervalos de 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas e 4 horas, e depois diariamente por 14 dias para verificar se houve alguma morte. De forma que ocorrendo qualquer alteração comportamental em decorrência dos tratamentos, pudesse inferir uma relação com a atividade no sistema nervoso central e ou periférico (ALMEIDA *et al.*, 1999). Em seguida os animais foram eutanasiados e retirados os órgãos vitais para análise macroscópica e pesagem.

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

3.6.1 TESTE DA FORMALINA

Os ratos foram submetidos a um jejum de 8 horas, em seguida foram pré-tratados oralmente com indometacina 10mg/kg (controle positivo), veículo 10 ml/kg (controle negativo) e o EEtOH- St nas doses 125, 250 e 500mg/kg, para cada grupo foram utilizados 06

animais. Após 60 minutos foi administrado 50µl de formalina 1% na pata do animal. Logo em seguida, estes animais foram colocados individualmente, sob um funil de vidro para que deste modo pudesse facilitar a observação do comportamento do animal (HUNSKAAR *et al.*, 1985, com adaptações) (Figura 10). O tempo que o animal permaneceu mordendo, lambendo ou sacudindo a pata injetada com formalina foi cronometrado. Os primeiros 5 minutos (300 segundos) após a injeção de formalina foi cronometrado e reiniciou a contagem após 10 minutos por 15 minutos consecutivos.

Figura 10 - Animal observado em modelo de dor induzida por formalina 1%.



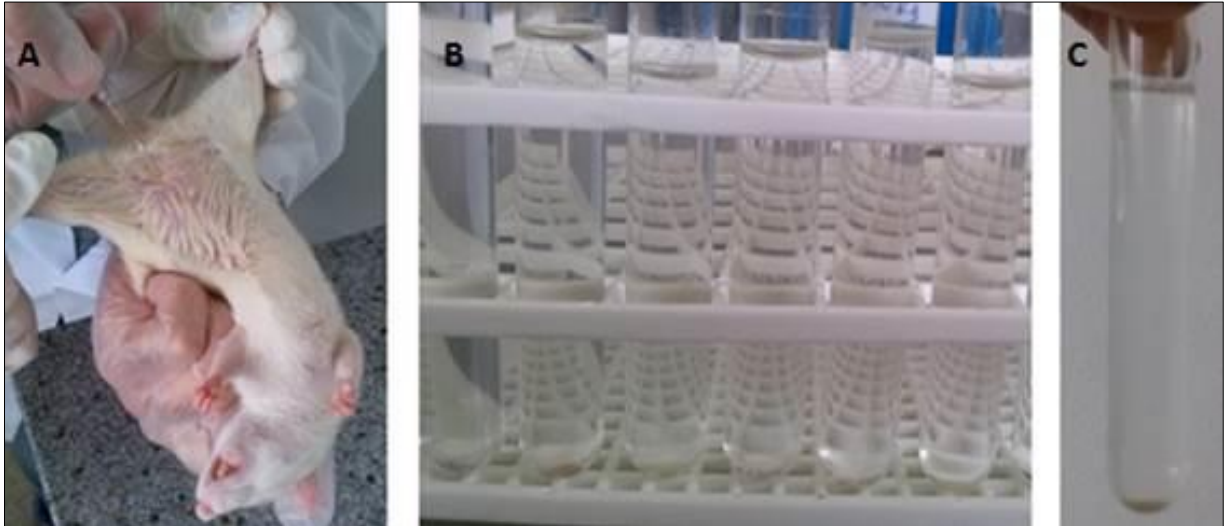
Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

3.7.1 PERITONITE INDUZIDA POR CARRAGENINA

Os ratos foram submetidos a um jejum de 12 horas, em seguida foram pré-tratados oralmente com dexametasona 5mg/kg (AIE) (controle positivo), veículo 10 ml/kg (controle negativo) e o EEtOH-St em diferentes concentrações (125, 250 e 500mg/kg), para cada grupo foram utilizados 06 animais. Após 60 minutos foi administrado 500µl (500µg/cavidade) de carragenina na cavidade peritoneal. Os animais foram anestesiados 3 horas após a injeção de carragenina e 10 ml de solução de EDTA (1mg/ml) foi injetada na cavidade peritoneal e uma massagem suave foi realizada para uma subsequente coleta do fluido do peritônio. Este foi centrifugado (1.000 rpm, 5 minutos) à temperatura ambiente. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 1 ml de salina (BASTOS *et al.*, 2007, com adaptações) (Figura 11). Logo após, 10µL da suspensão foi diluída em 190µL de solução de Turk e os leucócitos totais foram contados em câmara de Neubauer, sob microscópio óptico.

Figura 11 - Modelo de inflamação no peritônio de ratos por carragenina. (A) Injeção de carragenina; (B) Fluido do peritônio; (C) Fluido centrifugado.



Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

3.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA

3.8.1 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL

Os ratos foram submetidos a um jejum inicial de 12 horas, posteriormente, pré-tratados por via oral com Lansoprazol 30 mg/Kg, inibidor da bomba de próton (controle positivo), veículo 10ml/kg (controle negativo) e com EEtOH-St nas doses 125, 250 e 500mg/Kg, para cada grupo foram utilizados 06 animais. Após 1 hora, foi administrado 4 ml/Kg de etanol absoluto (agente lesivo) por via oral e 1 hora após a administração, estes foram eutanasiados. Em seguida os estômagos foram retirados e abertos ao longo da grande curvatura e as ulcerações quantificadas, de forma que o índice de lesão ulcerativo (ILU) fosse determinado (MORIMOTO *et al.*, 1991, com adaptações). O conteúdo estomacal foi coletado para a determinação do volume (utilizando uma proveta), e o pH (utilizando um pHmetro digital).

As lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa OLYMPUS SZ2 – LGB (Figura 12) e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI E THIEMER, 1978), de acordo com a seguinte fórmula:

$$ILU = \Sigma (\text{lesões nível } 1 \times 1) + (\text{lesões nível } 2 \times 2) + (\text{lesões } 3 \times 3)$$

Sendo:

Nível 1: pontos hemorrágicos e ulcerações até 1mm;

Nível 2: ulcerações com 2mm;

Nível 3: ulcerações a partir de 3mm.

Figura 12 - Lupa OLYMPUS SZ2 – LGB.



Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

3.8.2 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO-ESTEROIDAL (AINE)

Os ratos foram submetidos a um jejum de 12 horas, depois foram tratados por via oral com Cimetidina 100mg/Kg, antagonista do receptor H_2 (controle positivo), veículo 10ml/kg (controle negativo) e com EEtOH-St nas doses 125, 250 e 500mg/Kg, para cada grupo foram utilizados 06 animais. Após 30 minutos decorridos dos tratamentos, indometacina 50 mg/Kg (agente lesivo) foi administrada para todos os grupos. Após 6 horas da administração, os animais foram eutanasiados e os estômagos retirados, abertos pela maior curvatura e as ulcerações quantificadas, de forma que o índice de lesão ulcerativo (ILU) fosse determinado, como descrito anteriormente (GUIDOBONO *et al.*, 1997, com adaptações).

3.8.3 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM ANIMAIS PRÉ-TRATADOS COM INDOMETACINA

Este método foi adotado por Matsuda (1999) onde ratos Wistar, em jejum de 12 horas, foram divididos em grupos de acordo com os tratamentos (Salina + Salina, Salina+Lansoprazol, Salina+Extrato; Indometacina+Salina, Indometacina+Lansoprazol e Indometacina+Extrato), para cada grupo utilizou-se 06 animais. Os três primeiros grupos foram pré-tratados com injeção subcutânea de solução salina e os outros três com Indometacina 30 mg/Kg (dose que inibe a síntese de prostaglandinas sem promover ulceração). Após 30 minutos, os grupos receberam por via oral os tratamentos Salina (10 ml/Kg), Lansoprazol (30mg/kg) e o extrato na dose 250 mg/Kg. Depois de 1 hora, todos os animais receberam por via oral 1 ml de etanol absoluto. Uma hora após o tratamento com etanol, os animais foram mortos e os estômagos retirados, abertos pela maior curvatura e as ulcerações quantificadas, de forma que o índice de lesão ulcerativo (ILU) fosse determinado, como descrito anteriormente.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os resultados obtidos a partir dos ensaios de toxicidade aguda foi realizado o teste “t” de Student, para os resultados que não foram paramétricos utilizou-se o Mann-Whitney. A concentração letal média (CL₅₀) foi determinada pelo método Probitos, utilizando software STATPLUS® 2009, com 95% de intervalo de confiança. Já os ensaios farmacológicos foram tratados utilizando-se a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste Dunnett e/ou Tukey. Todos os resultados foram expressos como média±desvio padrão (d.p.) da média e o nível de significância mínimo foi de p<0,05. Os resultados foram analisados com o software, *GraphPad Prism* 5.0, San Diego, CA, EUA. O percentual de inibição foi calculado usando a fórmula: Inibição = [(A-B)/A]x100%, onde A representa a média do grupo controle negativo e B, o controle positivo ou testes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA PRÉ-CLÍNICA

4.1.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL 50% (CL₅₀) FRENTE *ARTEMIA SALINA*

Este é um método simples, rápido, seguro e acessível, que consiste em determinar a concentração letal 50% (CL₅₀) de componentes ativos e extratos em um meio salino frente ao organismo marinho, *Artemia salina*. Esse simples organismo pode ser usado como um monitor conveniente para a citotoxicidade de produtos (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Este método é bastante empregado em ensaios toxicológicos, pois é de fácil manuseio, além disso, possui baixo custo, fácil cultivo e obtenção, sendo um método conveniente para a avaliação preliminar da toxicidade em aditivos alimentares e extratos vegetais (RAJEH *et al.*, 2012).

O ensaio de letalidade com *Artemia salina* foi utilizado para avaliar a toxicidade do EEtOH-St, utilizando a CL₅₀ como parâmetro da atividade biológica. Desta forma o valor da CL₅₀ obtido através do bioensaio foi de 2189.3 ± 247.95 µg/ml conforme mostra a Tabela 01.

Tabela 1 – Concentração letal 50% (CL₅₀) do EEtOH-St frente a *Artemia.salina*.

Larvas Vivas / Larvas Mortas	1000 µg/ml	500 µg/ml	250 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	25 µg/ml
Índice de mortalidade	2/28	2/28	2/28	2/28	1/29	1/29
CL ₅₀	2189.3 ± 247.95 µg/ml					

Os resultados estão expressos em µg/ml com seus respectivos limites de confiança (95%) e foram submetidos a análise Probitos, utilizando o software STAPLUS® 2009.

Segundo Meyer *et al.*(1982), na avaliação da toxicidade de produtos naturais usando este bioensaio, valores de CL₅₀ acima de 1000 µg/ml indicam que estes sejam relatados como atóxicos.

Relata Falcão (2007) que, na literatura não se encontra dados suficientes que garantam a eficácia, qualidade e segurança da maioria das plantas utilizadas pelas populações. Portanto, estas não estão livres de sofrer possíveis intoxicações, já que as plantas possuem uma variedade de substâncias ativas.

Afirmam ainda Lacerda *et al.* (2011), que o ensaio de letalidade, utilizando como bioindicador a *Artemia salina* L. permite realizar a avaliação da toxicidade envolvendo apenas

o parâmetro de vida ou morte, sendo, então, considerado como ensaio preliminar na identificação de compostos bioativos de baixo custo e fácil manuseio, podendo ter uma correlação com os teste de toxicidade aguda em roedores. Assim, passamos a determinação da toxicidade do extrato em camundongos

4.1.2 TOXICIDADE AGUDA E AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

Para assegurar o uso de produtos naturais, deve-se submetê-los a testes pré-clínicos de eficácia e segurança *in vivo*, por métodos recomendados pela legislação. De acordo com a RE 90 (2004), deve-se realizar o Ensaio Toxicológico Pré-clínico Agudo em animais de laboratório previamente padronizado para se obter as informações toxicológicas a respeito do produto testado (RAJEH *et al*, 2012).

A toxicidade aguda é habitualmente definida como efeitos tóxicos que ocorrem dentro de um curto período de tempo após administração de uma ou várias doses de uma substância num período de 24 horas. Quando devidamente realizado e observado de perto, este teste pode dar mais informações sobre as propriedades biológicas de um composto químico que qualquer outro teste (SYAHMI *et al.*, 2010).

A administração por via oral do EEtOH-St na dose 2000 mg/kg preparados a partir de folhas não foi capaz de provocar alterações comportamentais ou alterações nos padrões fisiológicos de evacuação e micção, além de não ocasionar morte nos animais no período de 14 dias de observação, o que inviabilizou a determinação da Dose Letal (DL₅₀). Isso sugere-se que a planta é atóxica e que pode não causar maiores danos ao usuário.

Os sinais de toxicidade sistêmica são definidos também a partir da redução na massa corporal, redução nos consumos de água e ração, alterações de comportamento, apatia e má condição da pelagem, como a presença de pêlos arrepiados (RAJEH *et al*, 2012), o que não foi observado nos animais experimentais. Também não foi observada nenhuma alteração macroscópica no coração, fígado, baço e rins (Tabela 02). Estes dados sugerem baixa toxicidade do extrato.

Tabela 2 - Efeito da administração oral do EEtOH (2000 mg/kg) obtido das folhas de *Spondia tuberosa* Arruda no consumo de ração e de água, evolução ponderal e peso dos órgãos de camundongos, durante 14 dias.

Parâmetros	Tratamentos	
	Controle (Solução salina 0,9%)	EEtOH- St
Consumo de ração (g)		
	17,0 ± 1,22	16,1 ± 0,85
Consumo de água (ml)		
	21,7 ± 2,90	22,2 ± 1,15
Evolução ponderal (g)		
Inicial	32,0 ± 0,89	30,5 ± 1,56
Final	35,1 ± 1,05	33,8 ± 1,73
Peso dos órgãos (g)		
Coração	0,235 ± 0,03	0,216 ± 0,02
Fígado	2,210 ± 0,07	1,995 ± 0,05
Baço	0,2417 ± 0,03	0,2417 ± 0,05
Rins	0,7738 ± 0,06	0,7468 ± 0,04

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Seguido do teste de “t” de Student e Mann-Whitney.

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

Diante de vários testes que envolvem a aplicação de agentes flogísticos em animais para avaliação da atividade antinociceptiva utilizou-se o modelo de formalina.

4.2.1 TESTE DA FORMALINA

De acordo com Brito (2013), o formaldeído diluído (1-8%), quando administrado por via subcutânea, produz um comportamento nociceptivo que consiste em uma resposta bifásica: uma de curta duração (ocorre durante os 5 minutos iniciais), também chamada de dor neurogênica (Fase I) e uma de longa (ocorre entre 15 e 30 minutos) causada por um processo inflamatório, também chamado de fase tardia ou dor inflamatória (Fase II). A primeira fase parece que está relacionada à estimulação química direta de terminações nervosas

nociceptivas, já a segunda fase depende de uma combinação de entradas contínuas de aferentes nociceptivos.

Quando avaliado o efeito antinociceptivo, verificou-se que o EEtOH-St 125mg/kg, não influenciou na resposta da primeira fase de nocicepção, e a indometacina 10mg/kg teve pouca influência, quando comparado com o grupo controle negativo. Para a fase II, observou-se que a dose 250 mg/kg do EEtOH-St teve uma inibição maior do que o próprio anti-inflamatório utilizado (Tabela 03 e Figura 13).

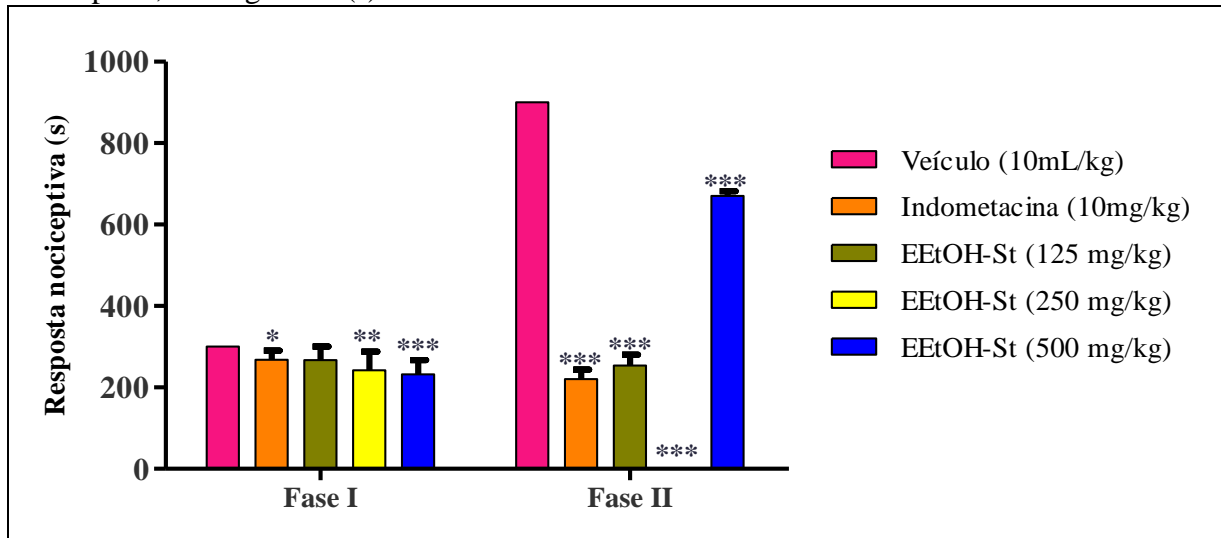
Ainda segundo a tabela e figura supracitadas, o EEtOH-St reduziu o tempo que o animal permaneceu lambando ou sacudindo a pata na fase neurogênica, porém foi mais evidenciado na fase inflamatória.

Tabela 3 - Efeito antinociceptivo avaliado pelo teste de nocicepção induzida pela formalina.

Tratamentos	Dose via oral	Fase I (s)	% de inibição	Fase II (s)	% de inibição
Veículo	10 ml/kg	300±0	-	900±0	-
Indometacina	10 mg/kg	268±22*	10,66	220±24***	75,55
EEtOH-St	125 mg/kg	267±33	11,00	254±26***	71,77
EEtOH-St	250 mg/kg	242±46**	19,33	0***	100,00
EEtOH-St	500 mg/kg	232±35***	22,66	670±12***	25,55

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, * = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001.

Figura 13 - Efeito da administração oral do EEtOH-St e da indometacina sobre a resposta nociceptiva, em segundos (s).



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

Segundo Baggio (2010) uma possível explicação para o ocorrido seria que o extrato em estudo atuou na sensibilização de nociceptores. Ainda com relação aos resultados desta pesquisa, os mesmos estão de acordo com estudo realizado por Castro (2011) quando relata que a eficácia da indometacina, anti-inflamatório não-esteroidal, só é mais visualizada na segunda fase (nociceção inflamatória).

Os resultados obtidos com EEtOH-St divergem dos encontrados por Silva (2012), onde observou em estudo utilizando extrato e fases das folhas de *Spondias* sp. uma inibição apenas da segunda fase, evidenciando a ação apenas anti-inflamatória.

Brito (2013) também relata que a maioria das drogas responsáveis em reduzir a excitabilidade de neurônios da medula espinhal (opioides, AINES e antagonistas do glutamato), também pode reduzir ou eliminar o comportamento nociceptivo, como foi observado no nosso estudo.

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI- INFLAMATÓRIA

Dentre vários testes utilizados na avaliação da atividade anti-inflamatória utilizou-se o da inflamação do peritônio.

4.3.1 PERITONITE INDUZIDA POR CARRAGENINA

A carragenina é um agente flogístico responsável por promover o aumento numérico das células de defesa, o seu mecanismo de ação consiste em induzir a migração leucocitária podendo ser por sinergismo entre prostaglandinas (PGE₂), leucotrienos LTB₄ e outros potentes agentes quimiotáticos, como complemento (C5a) e interleucinas (IL-8), promovendo vasodilatação, exsudação plasmática e acúmulo de leucócitos no local da lesão (BORGES, 2010). Neste modelo de inflamação aguda realiza-se a contagem de leucócitos que fazem a migração para a cavidade peritoneal sob a ação de agentes quimiotáticos. Alguns autores tem relatado que o recrutamento de células durante a inflamação depende da liberação de mediadores locais, que provocam alterações vasculares e teciduais no local, assim como também a migração de células de defesa (THOMAZZI *et al.*, 2010).

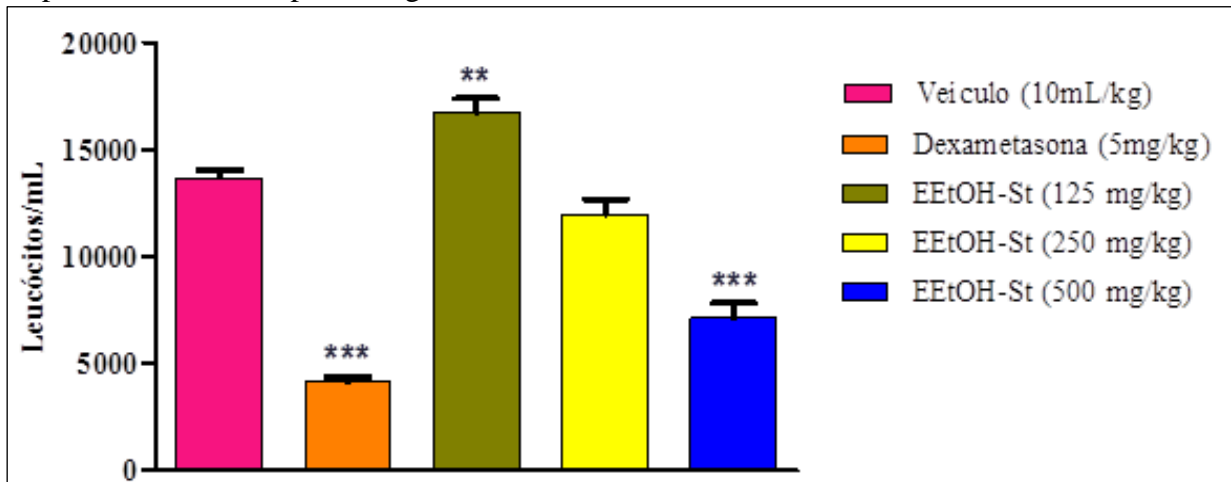
Desta forma, ao utilizarmos a carragenina como agente indutor, foi possível produzir uma resposta inflamatória no interior da cavidade peritoneal de ratos 3 horas mais tarde, com um grande número de células de defesa no exsudato peritoneal como observado no grupo controle (veículo). Por outro lado, a administração oral do EEtOH-St somente na dose 500 mg/kg inibiu a migração celular, seguindo um perfil semelhante ao da dexametasona (Tabela 04 e Figura 14).

Tabela 4 - Efeito da folha do EEtOH-St na atividade anti-inflamatória em ratos avaliados no modelo de peritonite induzida por carragenina.

Tratamentos	Dose via oral	Leucócitos/ml	% de inibição
Veículo	10 ml/kg	13667±781	-
Dexametasona	5 mg/kg	4130±509***	69,78%
EEtOH-St	125 mg/kg	16720±1457**	-22,33%
EEtOH-St	250 mg/kg	11970±1583	-
EEtOH-St	500 mg/kg	7120±1533***	47,90%

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, ** = p<0,01; *** = p<0,001.

Figura 14 - Efeito do EEtOH-St na atividade anti-inflamatória em ratos avaliados no modelo de peritonite induzida por carragenina.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

Os neutrófilos são os principais subtipos de leucócitos que participam na defesa do organismo, e sua migração dos vasos sanguíneos aos tecidos é um processo crucial na resposta contra infecções causadas por micro-organismos. Essa infiltração de neutrófilos para o local da área inflamada agrava a reação inflamatória produzindo quantidades excessivas de enzimas proteolíticas, espécies reativas de oxigênio, eicosanóides e citocinas, causando danos aos tecidos (ROOME *et al.*, 2008).

Com relação aos resultados da pesquisa, estes estão de acordo com os observados por Borges (2010) quando relata em seu estudo que o aumento numérico de leucócitos (neutrófilos) corresponde a uma resposta ao estímulo promovido pela administração da carragenina.

Em estudo realizado por Silva (2012) com gênero *Spondias*, utilizando a dose 300 mg/kg, encontrou-se resultados significantes no que diz respeito a atividade anti-inflamatória na cavidade peritoneal.

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA

Vários métodos podem ser utilizados com o intuito de avaliar a atividade gastroprotetora, porém foram realizados apenas os seguintes testes:

4.4.1 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL

Os resultados obtidos para este modelo de indução demonstraram que EEtOH-St (125, 250 e 500mg/kg) e lansoprazol (30mg/kg) por via oral diminuíram, de forma significativa o ILU (Índice de lesão ulcerativa) quando comparado com o veículo (controle negativo) contra a ação lesiva do etanol (Tabela 05 e Figura 15).

Ainda com relação à tabela 05, também foram avaliados parâmetros do conteúdo estomacal dos ratos (pH e volume do suco gástrico). Quanto ao pH, o grupo que recebeu o controle positivo e o EEtOH-St 500 mg/kg, foi observado aumento. No que se refere ao volume do suco gástrico, houve uma diminuição nos resultados dos grupos de animais que receberam lansoprazol e os EEtOH-St, quando comparados com o grupo controle negativo, sugerindo que o mecanismo de proteção da amostra vegetal possa estar relacionado à atividade antissecretória.

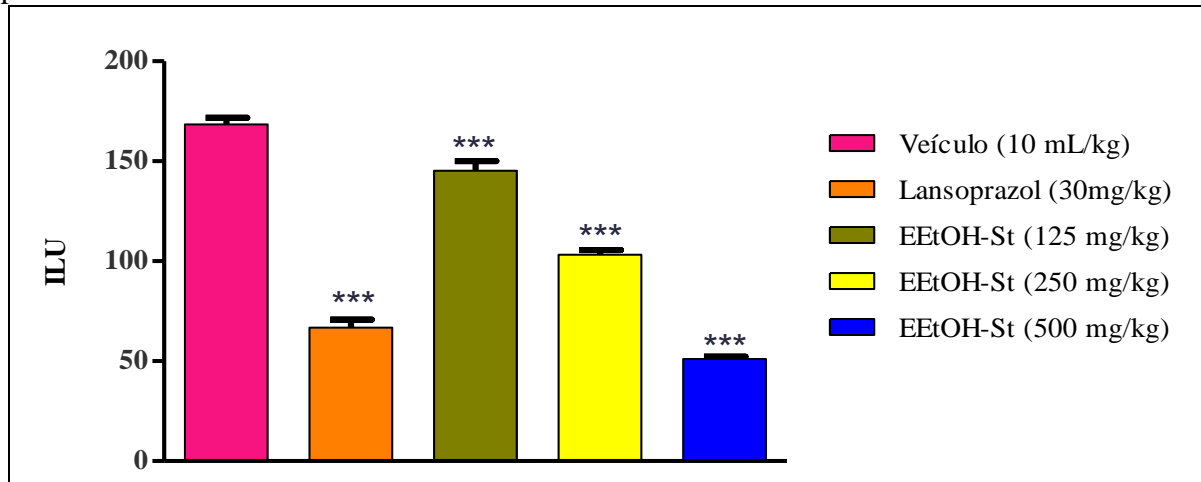
No estudo ainda observou-se a atividade gastroprotetora do EEtOH-St através da análise macroscópica dos estômagos, onde o grupo tratado com veículo apresentou maiores evidências de dano gástrico, quando comparado com os demais tratamentos (Figura 16).

Tabela 5 - Efeito da administração oral do veículo, lansoprazol e EEtOH-St 125, 250 e 500mg/kg em úlceras induzidas por etanol em ratos.

Tratamentos	Dose via oral	ILU	% de inibição	pH	Volume estomacal (ml)
Veículo	10 ml/kg	168±7,4	-	3,6±0,39	5,7±0,32
Lansoprazol	30 mg/kg	67±8,8***	60,11	6,5±0,50***	2,6±0,62***
EEtOH-St	125 mg/kg	145±11***	13,69	4,0±0,80	3,4±0,23***
EEtOH-St	250 mg/kg	103±5,4***	38,69	4,5±0,53	3,4±0,50***
EEtOH-St	500 mg/kg	51±2,7***	69,64	4,9±0,41**	1,7±0,55***

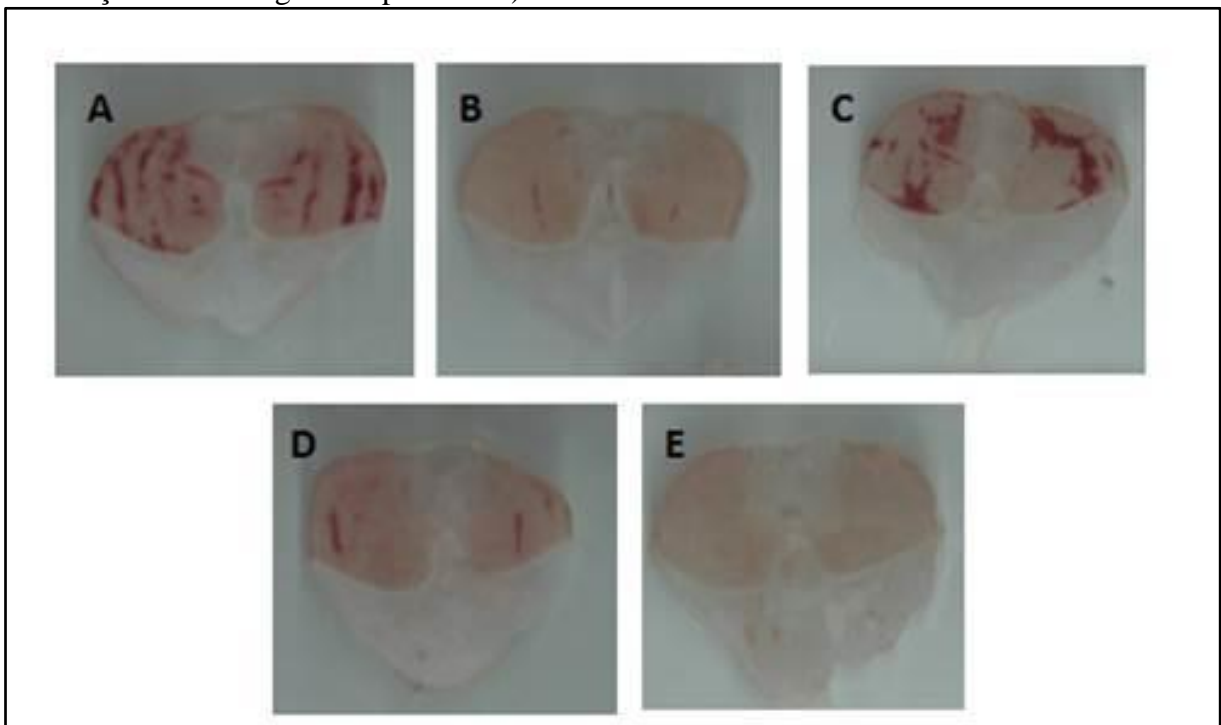
Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, ** = p<0,01; *** = p<0,001.

Figura 15 - Efeito da administração oral do EEtOH-St e do lansoprazol em úlceras induzidas por etanol em ratos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, *** = $p < 0,001$.

Figura 16 - Estômagos de ratos pré-tratados com veículo 10ml/kg (A), lansoprazol 30mg/kg (B), EEtOH-St 125mg/kg (C), EEtOH-St 250mg/kg (D) e EEtOH-St 500mg/kg (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).



Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

Segundo Falcão (2007), o efeito gastroprotetor poderá estar envolvido na diminuição da peroxidação lipídica, estimulação dos sistemas antioxidantes endógenos, aumento na produção de NO (óxido nítrico), restabelecimento do fluxo sanguíneo local, aumento na produção de PGs constitutivas e aumento da produção de muco e bicarbonato.

Os resultados com relação às lesões ulcerativas deste estudo corroboram com os achados de Almeida (2013) quando utilizou diferentes doses (125, 250 e 500 mg/kg) do extrato etanólico de *Spondia purpurea*.

4.4.2 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ANTI-INFLAMATÓRIO NÃO-ESTEROIDAL (AINE)

O uso frequente de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais contribui para o desenvolvimento da úlcera gástrica e estes medicamentos são uma das classes mais utilizadas pela população, representando cerca de 5% de todos os prescritos (MUSUMBA *et al.*, 2009).

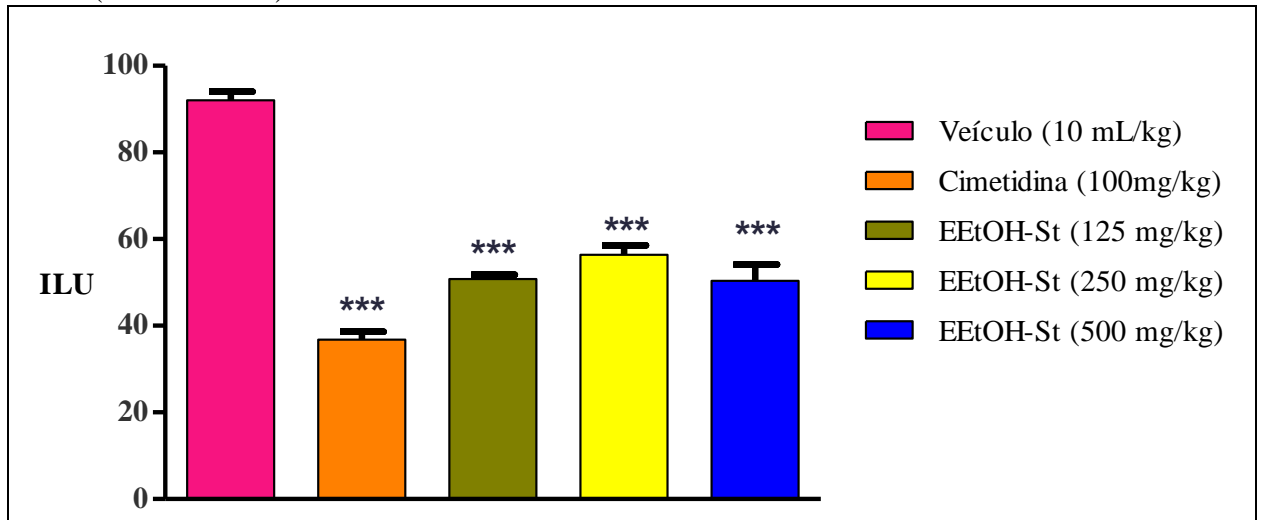
Observou-se neste modelo que o EEtOH-St nas diferentes doses testadas, e a cimetidina, foram capazes de inibir o ILU, induzida por indometacina 50mg/kg, de forma significativa, conforme evidenciado na Tabela 06 e Figuras 17 e 18. O extrato das folhas de *Spondia tuberosa* demonstrou gastroproteção frente às úlceras induzidas por AINE em ratos.

Tabela 6 - Efeito da administração oral do veículo, lansoprazol e EetOH-St 125, 250 e 500mg/kg em úlceras induzidas por AINE (indometacina) em ratos.

Tratamentos	Dose via oral	ILU	% de inibição
Veículo	10 ml/kg	92±4,6	-
Cimetidina	100 mg/kg	37±4,1***	59,78
EetOH-St	125 mg/kg	51±2,3***	44,56
EetOH-St	250 mg/kg	56±4,7***	39,13
EetOH-St	500 mg/kg	50±8,3***	45,65

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, *** = p<0,001.

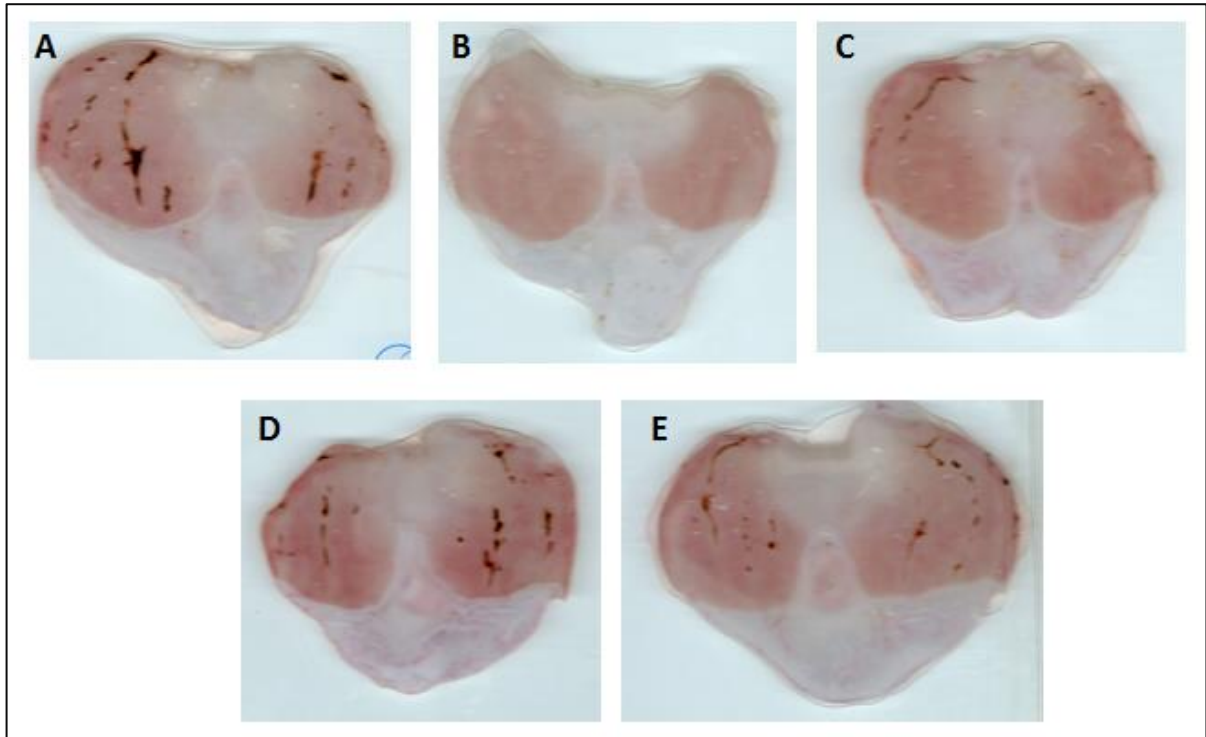
Figura 17 - Efeito da administração oral do EetOH-St e cimetidina em úlceras induzidas por AINE (indometacina) em ratos.



Os resultados estão expressos como média \pm d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, *** = $p < 0,001$

Os resultados obtidos sugerem inicialmente que a ação gastroprotetora do EEtOH-St pode estar relacionado ao envolvimento das prostaglandinas, produzidos pela via ciclooxigenase. Relatam Beserra (2009) que, possivelmente o aumento deve-se a ação na isoenzima COX-1, já que as prostaglandinas derivadas da COX-2 representam uma pequena porção do pool total na mucosa gástrica não ulcerada.

Figura 18 - Estômagos de ratos pré-tratados com veículo 10ml/kg (A), Cimetidina 100mg/kg (B), EEtOH-St 125mg/kg (C), EEtOH-St 250mg/kg (D) e EEtOH-St 500mg/kg (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por indometacina).



Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

Com relação às figuras supracitadas, resultados semelhantes também foram encontrados na pesquisa desenvolvida por Almeida (2013), em que o gênero *Spondias* apresentou gastroproteção frente às úlceras induzida por AINE em modelo animal, esta sugere que o extrato atua por um mecanismo citoprotetor frente às lesões.

4.4.3 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM ANIMAIS PRÉ-TRATADOS COM INDOMETACINA

Para a elucidação de provável mecanismo de ação ligado à atividade gastroprotetora foi necessário eleger a melhor dose do extrato *Spondia tuberosa*. Para tanto, foi escolhido a dose de 250 mg/kg, já que se trata de uma dose intermediária e por ter apresentado uma redução significativa das ILU em ambos os testes realizados. Assim, foi executado o modelo experimental envolvendo a participação da via das prostaglandinas.

Para investigar o possível envolvimento das prostaglandinas no mecanismo de gastroproteção causado pelo EEtOH-St, foi utilizada a indometacina, um inibidor não seletivo da ciclo-oxigenase, em uma dose capaz apenas de diminuir a síntese das mesmas, sem causar

dano a mucosa gástrica. (GUIDOBONO *et al.*, 1997). Os resultados mostraram evidências de que não há envolvimento da via da COX na ação gastroprotetora, isso porque a indometacina ao inibir esta via, não impediu que o grupo tratado com o EEtOH- St promovesse sua gastroproteção. Também foi que o grupo salina-extrato em relação à salina-salina conseguiu inibir 43,05% os ILU (Tabela 07 e Figura 19).

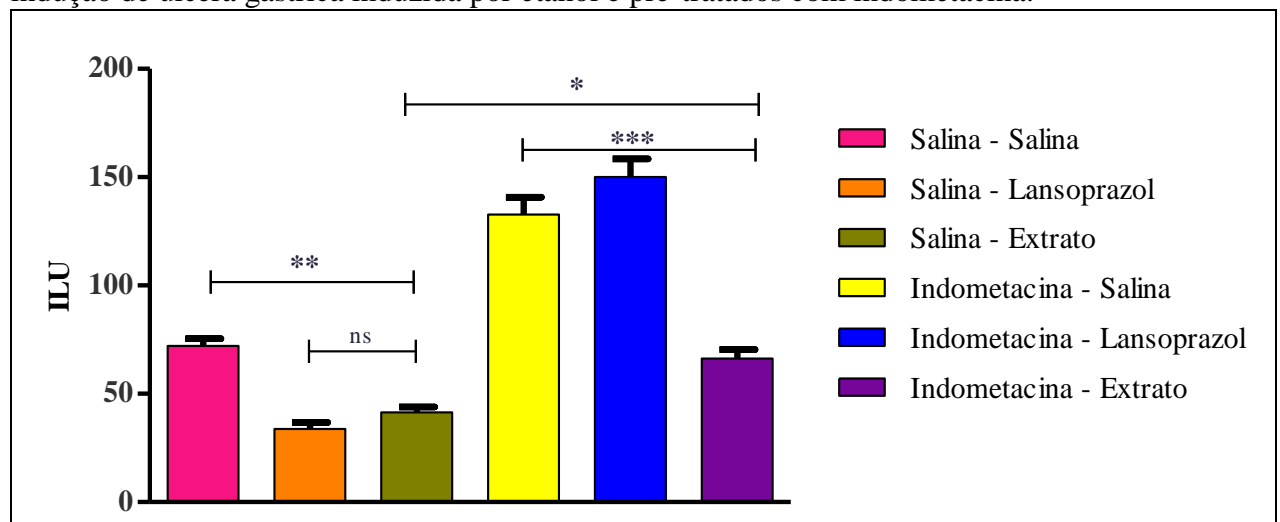
Conforme a Tabela 07 e Figuras 19 e 20B e 20E, observou-se que houve um aumento de ILU no grupo Indometacina-Lansoprazol em relação ao grupo Salina-Lansoprazol, isto pode ter ocorrido pelo motivo da diminuição da síntese da prostaglandinas referente ao pré-tratamento com o AINE e pela não proteção gástrica do lansoprazol.

Tabela 7 - Envolvimento da via das ciclo-oxigenases no efeito gastroprotetor associado ao EEtOH-St no modelo de úlcera induzida por etanol.

Tratamentos	Dose via oral	ILU
Salina-Salina	10 ml/kg-10 ml/kg	72±7,6
Salina- Lansoprazol	10 ml/kg-30 mg/kg	34±6,6
Salina-Extrato	10 ml/kg-250 mg/kg	41±5,8
Indometacina-Salina	30 mg/kg- 10 ml/kg	133±18
Indometacina-Lansoprazol	30 mg/kg- 30 mg/kg	150±19
Indometacina- Extrato	30 mg/kg- 250 mg/kg	66±9,6

Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de tukey.

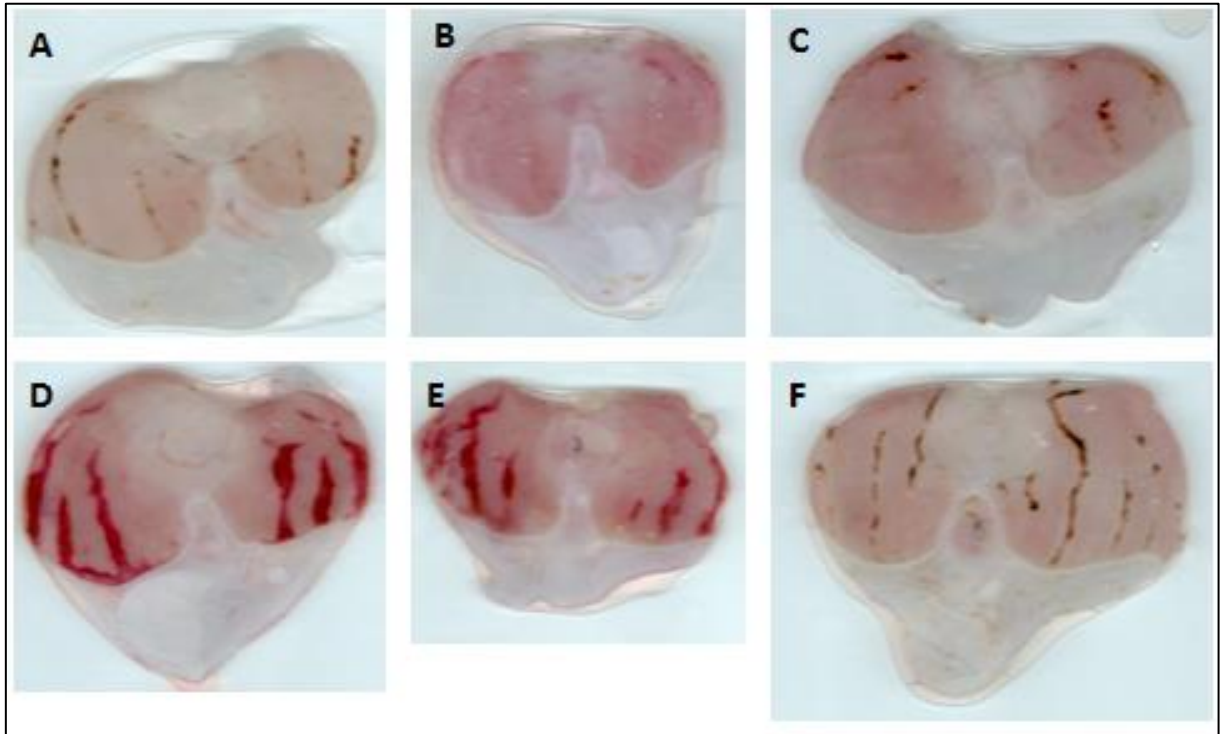
Figura 19 - Avaliação do efeito gastroprotetor do EEOH-St 250 mg/kg em modelo de indução de úlcera gástrica induzida por etanol e pré-tratados com indometacina.



Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de

tukey, as barras horizontais indicam comparações entre os diferentes pré-tratamentos, com ns: diferença não significativa, * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$.

Figura 20 - Estômagos de ratos pré-tratados com Salina-Salina (A), Salina-Lansoprazol (B), Salina-EEtOH-St 250mg/kg (C), Indometacina-Salina (D), Indometacina-Lansoprazol (E) e Indometacina- EEtOH-St 250mg/kg.



Fonte: Dados da pesquisa (FALCÃO, 2014).

Estes resultados podem ser explicados diante dos estudos realizados por Bezerra (2009) quando relata que o papel do etanol na mucosa gástrica consiste em solubilizar o muco protetor, deixando assim, a mucosa indefesa à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente. Ainda segundo o mesmo autor, esta substância pode induzir um aumento da secreção do ácido gástrico e através do contato direto, alterar a rede de vascularização local rompendo os vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica, desencadeando processos necrotizantes no tecido. Desta forma, sugere-se que o EEtOH-St possa estar envolvendo outras vias para a obtenção do efeito gastroprotetor que não seja a das prostaglandinas.

5 CONCLUSÕES

Com os resultados apresentados e discutidos nesse trabalho, conclui-se que:

- O extrato das folhas das *Spondia tuberosa* Arruda diante da realização dos modelos antinociceptivo e anti-inflamatório, apresentaram bons resultados, porém se faz necessário testar estas atividades em outros modelos experimentais, para que possa desta forma confirmar a participação desta planta nos mecanismos já mencionados;
- Diante dos efeitos benéficos promovidos pela planta estudada quanto à atividade gastroprotetora, é importante investigar e elucidar os possíveis mecanismos de ação desencadeada pelas folhas das *Spondia tuberosa*, especialmente quando se busca novos avanços na compreensão da fisiopatologia e cura da úlcera péptica e desta forma, desenvolver uma estratégia promissora que possa contribuir para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas;
- A baixa toxicidade presente no extrato etanólico das folhas de *Spondia tuberosa* Arruda propicia para que pesquisas posteriores desenvolvam pré-formulações;
- Apesar dos excelentes resultados encontrados no estudo, é importante que outros trabalhos sejam desenvolvidos com o objetivo de identificar os possíveis metabólitos secundários presentes nas folhas das *Spondia tuberosa*;
- Outro aspecto importante do trabalho realizado é que este gênero vem sendo estudado recentemente pelos pesquisadores que compõem os laboratórios LABDEM, de ensaios farmacológicos e de bioquímica clínica, tendo em vista que na literatura não se encontra muitas pesquisas relacionadas.

REFERÊNCIAS

ABAD; M.J. et al. Antiinflammatory activity of some medicinal plant extracts from Venezuela. **J. Ethnopharmacol.**, v.55, p. 63-68, 1996.

AGRA, M.F.;FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Paraíba, v. 17, p.114-140, 2007.

ALMEIDA, R.N. et al. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Rev Bras Farmacogn.**, V.80, P.72-76, 1999.

ALMEIDA, T. P.; MAIA, J. Z.; FISCHER, C.D.B.; PINTO, V.M.; PULZ, R.S.; RODRIGUES, P.R.C. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária – revisão de literatura. **Veterinária em Foco**, Recife, v.3, n.2, p. 1-7, 2006.

ALMEIDA, A.L.S.; ALBUQUERQUE, U.P.; CASTRO, C.C. Reproductive biology of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), an endemic fructiferous species of the caatinga (dry forest), under different management conditions in northeastern Brazil. **J. Arid Environ.**, Ceará, v.75, p. 2155–2159, 2011.

ALMEIDA, J.R.G.S. et al. Antinociceptive Activity of Ethanol Extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World J.**, Petrolina, p.1-6, 2012.

ALMEIDA, C.L.F. **Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais.** Campina Grande, PB. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

ALQASOUMI, S. et al. Rocket “*Eruca sativa*”: a salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. **World J Gastroenterol.**, Saudi Arabia, v. 15, n. 16, p. 1958-1965, 2009.

AL-SOHAILY, S.; DUGGAN, A. Long-term management of patients taking proton pump inhibitors. **Australian Prescriber**, v.31, p.5-7, 2008.

ARAI, A.E.; GALLERANI, S.M.C. **Uso crônico de fármacos inibidores da bomba de prótons: eficácia clínica e efeitos adversos.** Londrina. Originalmente apresentada como monografia de especialização. Centro Universitário Filadélfia, 2011.

ARAUJO, C.E.P. et al. Análise Preliminar da Atividade Antiulcerogênica do Extrato Hidroalcoólico de *Solanum cernuum* Vell. **Acta Farm. Bonaerense**, São Paulo, v.21, n.4, p. 283-286, 2002.

ARAÚJO, M.G.F.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (Solanaceae). **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, São Paulo, v.31, n.2, p. 205-209, 2010.

AYOOLA, P.B.; ADEYEYE, A.; ONAWUMI, O.O. Trace Elements and Major Minerals Evaluation of Spondias mombin, Vernonia amygdalina and Momordica charantia Leaves. **Pak. J. Nutr.**, v.9, n.8, p. 755-758, 2010.

BAE, E.A. et al. In vitro inhibitory effect os some flavonoids on rotavirus infectivity. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 23, 2000.

BAGGIO, C.H. **Mecanismos de ação envolvidos na atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da (1→3),(1→6) β-glucana isolada do *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.** Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2010.

BANSAL, V. K. et al. Herbal approach to peptic ulcer disease- REVIEW. **J Biosci Tech.**, v. 1, n. 1, p. 52-58 , 2009.

BARRETO, L.S. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do umbu.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

BATLOUNI, M. Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, Cérebro-Vasculares e Renais. **Arq Bras Cardiol.**, São Paulo, v.94, n. 4, p. 556-563, 2010.

BASTOS, L.F.S. et al. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of doxycycline and minocycline in different experimental models. **Eur. J. Pharmacol.**, Belo Horizonte, v.576, p. 171–179, 2007.

BENEDITO, R.B. **Efeito antinociceptivo do monoterpeno (s) (-)-álcool perílico em camundongos.** João Pessoa. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, 2009.

BESERRA, A.M.S.S. **Avaliação da atividade gastroprotetora do ácido elágico em modelos animais.** Cuiabá. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, 2009.

BEZERRA, S.B. **Atividade gastroprotetora e antimicrobiana do extrato seco de *Matricaria recutita* (camomila) e do alfa-bisabolol: possíveis mecanismos de ação.**

Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2009.

BLANK, M.A. et al. Flavonoid-induced gastroprotection in rats: role of blood flow and leukocyte adherence. **Digestion**, v. 58, n.2, 1997.

BLANDIZZI, C. et al. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. **Pharmacol. Res.**, Italy, v. 59, p. 90–100, 2009.

BORGES, J.C.M. **Acetilbergenina: obtenção e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória**. Belém. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará, 2010.

BRAGA, M.P., SILVA, C.B.; ADAMS, A.I.H. Inibidores da bomba de prótons: Revisão e análise farmacoeconômica. **Rev. Saúde**, v.37, n.2, 2011.

BRITO, R.G. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do citrônol em roedores**. Aracaju. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal de Sergipe, 2013.

BRUTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. Porto Alegre: Editora AMGH, 2012. CD-ROM.

BRZOZOWSKI, T. et al. Grapefruit-seed extract attenuates ethanol-and stress-induced gastric lesions via activation os prostaglandina, nitric oxide and sensory nerve pathways. **Word J. Gastroenterol**, v.11, n.41, 2005.

CAVALCANTI, N.B.; RESENDE, G.M. Ocorrência de xilopódio em plantas nativas de Imbuzeiro. **Revista caatinga**, Mossoró, v.19, n.3, p.287-293, 2006.

CAMPOS, D.A. **Efeito gastroprotetor da 3,6-dimetoxi-6'',6''-dimetil-[2'',3'':7,8]-cromenoflavona isolada de Lonchocarpus araripensis Bentham em camundongos e possíveis mecanismos**. Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2008.

CARLINI, E. A.; MENDES, F. R. **Protocolos em psicofarmacologia comportamental: Um guia para pesquisa de drogas com ação sobre o SNC, com ênfase nas plantas medicinais**. São Paulo: Editora Fap-Unifesp, 2011.

CARVALHO, A.S.T. Úlcera péptica. **J Pediatr**, v.76, p. 127-134, 2000.

CARVALHO, AM.R. **Estudo da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da riparina II (o- metil-n-2-hidroxi-benzoil tiramina) em modelos experimentais**. Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Ceará, 2011.

CARVALHO, M.M.C.M. **Úlcera péptica: Etiopatogenia, diagnóstico, aspectos clínicos e tratamento**. Porto. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Fernando Pessoa, 2013.

CASTRO, R.A. **Avaliação do Potencial Analgésico e Anti-inflamatório do Composto Pirazólico 1,5-difenil-3-hidrazinopirazol(a) – DHP**. Seropédica. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2011.

COSTA, J.A.O. **Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (*Helianthus annuus* Linné)**. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade José do Rosário Vellano, 2009.

CRUVINEL, W.M. et al. Sistema Imunitário – Parte I- hresposta inflamatória. **Rev Bras Reumatol**, v.50, n.4, 2010.

CRUZ, E.M. et al. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.**, v.11, n.4, p. 354 – 361, 2012.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Editora UNESP, 2002.

DRAKE, R.L.; VOGL, A.W.; MITCHELL, A.W.M. **Anatomia para estudantes**. São Paulo: Editora Elsevier, 2010.

ENGELS, C. et al. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Res Int.**, v. 46, p. 557–562, 2012.

FALCÃO, H.S. **Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato etanólico bruto e fase clorofórmica obtidos das partes aéreas de *Praxelis clematidea* (Griseb.) R. M. King & H. Robinson em modelos animais**. João Pessoa. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, 2007.

FEHER, J. **Quantitative Human Physiology: An introduction**. San Diego: Editora Elsevier. v.1, 2012.

FEITOSA, M.L. **Investigação dos mecanismos de ação da atividade gastroprotetora de 1,4-cineol em modelos de úlcera gástrica em camundongos**. Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2011.

FERNANDES, H.B. et al. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biol Res**, Teresina, v.43, p. 451-457, 2010.

FERREIRA, D.T.; FACCIONE, M. Opiáceos, Opióides de ação analgésica e antagonistas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 125-136, 2005.

FIRMO, W.C.A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq.**, São Luís, v.18, 2011.

FREITAS, L.B.N. **Efeito protetor do sesquiterpenóide β -ionona na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos: envolvimento da via NO/GMPc/ K_{ATP} e da glutathiona**. Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2013.

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

FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia clínica: Fundamentos da terapêutica racional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

GUIDOBONO, F. et al. Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. **Br. J. Pharmacology**, v.120, p. 581-586, 1997.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2011.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesia. **J. Neurosci. Meth.**, v.14, p. 69-76, 1985.

IGWE, C.U. et al. Evaluation of the Chemical Compositions of the Leaf of *Spondias Mombin* Linn from Nigeria. **Aust. J. Basic & Appl. Sci.**, v.4, n.5, p. 706-710, 2010.

JUQUEIRA-JÚNIOR, J. **Efeito gastroprotetor da Amifostina (Ethyol®) na lesão gátrica induzida por etanol em ratos: Papel dos grupos sulfidrílicos não-protéicos e neurônios sensoriais aferentes.** Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2008.

KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. **Farmacologia básica e clínica.** Porto Alegre: Editora AMGH, 2014.

KAWAI, M. et al. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. **Allergol Int.**, v. 56, n.2, p.113-123, 2007.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. **PATOFISIOLOGIA DA DOR.** **Arch. Vet. Sci.**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.

KUMAR, V. et al. **Patologia-Bases patológicas das doenças.** Editora Elvesier, 2010.

KUMAR, V. et al. **Patologia básica.** Rio de Janeiro: Editora Elvesier, 2013.

KUMARI, K.D.K.P. et al. Anti-inflammatory activity of dried flower extracts of *Aegle marmelos* in Wistar rats. **J Ethnopharmacol.**, v. 151, p. 1202–1208, 2014.

KUMMER, C.L.; COELHO, T.C.R.B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Rev Bras Anesthesiol.**, Recife, v. 52, n.4, p. 498-512, 2002.

LACERDA, A.M. et al. Screening de plantas com potencial fitotóxico. **Rev. Bras. Farm.**, Campo Grande, v. 92, n.4, p. 352-355, 2011.

LIMA-FILHO, J.M.P.; SANTOS, C.A.F. Avaliações fenotípicas e fisiológicas de espécies de *Spondias* tendo como porta enxerto o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Cam.). **Revista Caatinga**, v. 22, n. 1, p.59-63, 2009.

LIMA-FILHO, J.M.P. **Ecofisiologia do Umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.).** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011.

LIMA, S.C. **Germinação de sementes e otimização de técnicas de micropropagação de umbuzeiro (*Spondias tuberosa*, Arr.) – Anacardiaceae.** Natal. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2009.

LINS NETO, E.M.F.L.; PERONI, N.; ALBUQUERQUE, U.P. Traditional Knowledge and Management of Umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae): An Endemic Species from the Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. **Economic Botany**, v. 64, n.1, p.11-21, 2010.

LINS NETO, E.M.F. et al. Phenology of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) under different landscape management regimes and a proposal for a rapid phenological diagnosis using local knowledge. **J Ethnobiol Ethnomed.**, v. 9, p.1-13, 2013.

LOGUERCIO, A.P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, 2005.

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

MACHADO, A.C. **Caracterização do extrato de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e seu efeito sobre a viabilidade de fibroblastos gengivais humanos.** Bauru. Originalmente apresentada como tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.

MADOLOSSO, R.C. **Avaliação da toxicidade aguda e da atividade gastroprotetora de extratos de *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. em roedores.** Belo Horizonte. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Gastroprotection of escins Ia, Ib, Iia, And Iib on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. **Eur. J.Pharmacology**, v.373, p. 63-70, 1999.

MAYER, B. **Mecanismos envolvidos nas ações antiúlcera e anti-secretora ácida dos extratos da *Salvia officinalis* L.** Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2007.

MCPHEE, S.J.; GANONG, W.F. **Fisiopatologia da doença: uma introdução à medicina clínica.** Porto Alegre: AMGH, 2011.

MEHTA, J.P. et al. In-vitro antioxidant and in-vivo anti-inflammatory activities of aerial parts of Cassia species. **Arab J Chem.**, 2013.

MEOTTI, F.C. et al. Analysis of antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 316, n.2, 2003.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp lethality bioassay method. **Planta Medica**, v.45, p. 31-34, 1982.

MIZUI, T. et al. Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. **Life Sci.**, v.41, n.6, 1987.

.MONTENEGRO, C.A. **Atividade gastroprotetora *Xylopi* langsdorffiana A. St-Hil-& Tul. (ANNONACEAE) em modelos animais.** João Pessoa. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Estadual da Paraíba, 2011.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quim. Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005

MONTEIRO, E.C.A. et al. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de reumatologia clínica**, v.9, n.2, 2008

MORIMOTO, Y. et al. Effects of the new antiulcer agent kb-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of terpenone and cimetidine. **J. Pharmacology**, 1991.

MUHAMMAD, A. et al. Antibacterial and cytotoxic activities of *Spondias pinnata* (Linn. F) Kurz fruit extract. **Indian J Nat Prod Resour.**, v.2, n.2, p. 265-267, 2011.

MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Aliment Pharmacol Ther.**, v. 30, p. 517-531, 2009.

ORSI, P.R. **Atividade antiinflamatória intestinal e antiulcerogênica gástrica e duodenal de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne.** Botucatu. Originalmente apresentada como tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, 2012.

OYAGI, A. et al. Protective effects of a gastrointestinal agent containing Korean red ginseng on gastric ulcer models in mice. **BMC Complement Altern Med.**, v. 10, n. 45, p. 1-9, 2010.

PADRÃO, J.C. **Identificação da via de degradação da óxido nítrico sintase induzida em macrófagos ativados e infectados pelo toxoplasma gondii**. Rio de Janeiro. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2009.

PANDA, B.K. et al. Comparative study of anthelmintic activity between acetone and ethanolic stem bark extracts of *Spondias pinnata* (Linn.F) Kurz. **IJRAP**, v.2, n.4, p.1383-1385, 2011.

PINHEIRO, R.M.; WANNMACHER, L. **Uso Racional de Anti-inflamatórios Não Esteroides**. Brasília: Ministério da Saúde: Editora MS, 2010.

PINHEIRO, R.S.P. **Efeito gastroprotetor de uma fração proteica isolada do látex de *Plumeria rubra* L. (Apocynaceae) em lesão gástrica induzida por etanol: envolvimento de receptores trpv1, da via NO/GMPc/K_{ATP} e da glutatona**. Fortaleza. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará, 2012.

PIRES, P.A. **Potencial Analgésico, Anti-edematogênico, Antipirético e Atividade Ulcerogênica de Fármacos Anti-inflamatórios em Roedores**. Seropédica. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009.

POTRICH, F.B. **Atividade gastroprotetora do extrato bruto hidroalcoólico da *Achillea millefolium* L.: envolvimento do sistema antioxidante**. Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado Universidade Federal do Paraná, 2009.

RAJEH, M.A. et al. Acute toxicity impacts of euphorbia hirta l extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and artemia salina. **Pharmacognosy Res.** v. 4, n. 3, p. 170-7, 2012.

RAMOS, K.R.L.P. **Avaliação da atividade antidiarreica de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais**. Campina Grande.. Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

RANG, H. et al. **Rang and Dale's Pharmacology**. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2012.

RAFF, H.; LEVITZKY, M. **Fisiologia médica: uma abordagem integrada**. Porto Alegre: AMGH, 2012.

RAO, V.S.N. et al. Protective effect of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* less., in experimental liver injury. **Pharmacology**, v.48, n.6, 1994.

RAO, V.S.N. et al. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Medica**, v.3, 1997.

RAO, V.S.N. et al. Ternatin, an anti-inflammatory flavonoid, inhibits thioglycolate-elicited rat peritoneal neutrophil accumulation and LPS-activated nitric oxide production in murine macrophages. **Planta Med. Sep.**, v.69, n.9, 2003.

RODRIGUES, P.A. **Atividade gastroprotetora e antioxidante de extratos e constituintes químicos de *Byrsonima sericea* DC. e *Plectranthus grandis cramer* (Willensem).** Fortaleza. Originalmente apresentada como tese de doutorado. Universidade Estadual do Ceará, 2008.

ROENN, J.H.V.; PAICE, J.A.; PREODOR, M.E. **Current: Diagnóstico e tratamento da dor.** Porto Alegre:AMGH, 2011.

ROOME, T. et al. *Aegiceras corniculatum* extract suppresses initial and late phases of inflammation in rat paw and attenuates the production of eicosanoids in rat neutrophils and human platelets. **J Ethnopharmacol.**, v. 120, p. 248–254, 2008.

SANTOS, E.B. et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, p. 321-324, 2009.

SCHREINER, F. et al. Uso do chá de punica granatum (romã) no controle da aderência de bactérias orais em ligaduras ortodônticas. **Robrac**, v. 18, n 45, p.56-61, 2009.

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

SILVA, P. **Farmacologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010a.

SILVA, L.M. **Mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor do extrato etanólico de *Arctium lappa* L. em úlceras gástricas crônicas induzidas por ácido acético em ratos.** Curitiba. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2010b.

SILVA, G.A. **Avaliação da composição química, atividade antioxidante, antibacteriana, antinoceptiva, antiinflamatória e toxicidade do extrato metanólico e frações de folhas de *Spondias* sp. (Anacardiaceae).** Rio Grande do Norte. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2012.

SILVA, Q.J. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de genótipos de ciriguelas (*Spondia purpurea* L.). **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 1, p. 73-80, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Florianópolis, v.12, n.1, p. 35-40, 2002.

SYAHMI, A.R.M. et al. Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (oil palm leaf) methanol extract. **Molecules**. v.15, p.8111-21. 2010

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

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Anti-anaphylactic and anti-inflammatory effects of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. **Braz.J.Med. Biol. Res.**, v.25, n.10, 1992

SOUZA, M.F.; TOME, A.R.; RAO, V.S.N. Inhibition by bioflavonoid ternatin of aflatoxin B1-induced lipid peroxidation in rat liver. **J Pharm. Pharmacol.**, v.51, n.2, 1999.

THOMAZZI, S. M. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira). **J Ethnopharmacol.**, Sergipe, v.127, p. 451-456, 2010.

VARALDA, D.B.; MOTTA, A.A. Reações adversas aos antiinflamatórios não esteroidais. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.**, v. 32, n.1, p.27-34, 2009.

VEIGA-JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.18, n.2, p. 308-313, 2008.

VIDIGAL, M.C.T.R. et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). **Food Res Int.**, 44, p. 1988–1996, 2011.

VIEIRA, M.M. et al. Ternatin, a flavonoid, prevents cyclophosphamide and ifosfamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. **Phytother Res.**, v.18, n.2, p.135-141, 2004.

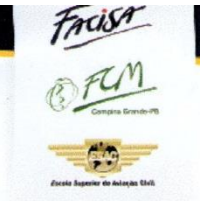
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, p. 12, 2011.

XU, Q. et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of Flos populi. **J Ethnopharmacol.**, v. 152, p. 540–545, 2014.

ZAYACHKIVSKA, O.S. et al. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 56, p. 219-231 2005.

ANEXO A

Parecer do Comitê de Ética em Uso de Animais



**CENTRO DE ENSINO SUPERIOR E DESENVOLVIMENTO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICA DE CAMPINA GRANDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CESED**

PARECER

CEUA N°: 11

CIAEP/CONCEA N°: 01.0001.2012

PROTOCOLO N°:0045/22052014


APROVADO EM 22/05/2014

1. Pesquisador Responsável: Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões

Titulo do Projeto: Avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de *Spondias tuberosa* arruda (ANACARDIACEAE) em diferentes modelos experimentais.

2. Objetivo: Avaliar as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de spondia Arruda (anacardiaceae) em diferentes modelos experimentais.
3. Considerações: O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido, com todos os itens solicitados entregue a CEUA/CESED. No entanto, solicitamos como recomendação acrescentar junto ao projeto, considerações éticas e contemplar no cronograma de atividades apreciação ética.

4. Parecer Final: **APROVADO**


 Tharcia Kiara B. de Oliveira
 Médica Veterinária
 Coordenadora CEUA/ CESED

