

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
“PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**

CAMILA DE ALBUQUERQUE MONTENEGRO

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Xylopi* *langsdorffiana*
A. St.-Hil. & Tul. (ANNONACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

JOÃO PESSOA - PB

2011

CAMILA DE ALBUQUERQUE MONTENEGRO

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Xylopia langsdorffiana* A. St.-
Hil. & Tul. (ANNONACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS. Área de concentração: FARMACOLOGIA.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Leônia Maria Batista

JOÃO PESSOA - PB

2011

M777a Montenegro, Camila de Albuquerque.
Atividade gastroprotetora de *Xylopia langsdorffiana* A.
St.-Hill & Tul. (Annonaceae) em modelos animais / Camila
de Albuquerque Montenegro.-- João Pessoa, 2011.
163f. : il.
Orientadora: Leônia Maria Batista
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS
1. Produtos Naturais. 2. *Xylopia langsdorffiana*. 3. Diterpenos.
4. Úlceras. 5. Gastroproteção.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)

CAMILA DE ALBUQUERQUE MONTENEGRO

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Xylopia langsdorffiana* A. St.-
Hil. & Tul. (ANNONACEAE) EM MODELOS ANIMAIS**

APROVADA EM: 24/02/2011

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Leônia Maria Batista
Orientadora - UFPB

Profa. Dra. Sandra Rodrigues Mascarenhas
Examinadora Interna - UFPB

Profa. Dra. Clélia Akiko Hiruma-Lima
Examinadora Externa – UNESP/Botucatu-SP

À minha mãe, Maria Luiza, pelo imenso amor e incansável apoio, pela fé e credibilidade, pela contribuição na minha formação espiritual e ética e pelo exemplo de caráter e honestidade.

Agradecimientos

A Deus, por ter me amparado nos momentos de dificuldade, iluminando meu caminho e guiando meus passos, encorajando-me na busca pela concretização deste sonho.

À minha família, por ser o alicerce da minha vida, obrigada pelas orações, pela torcida, pelos momentos de risadas e pelos tristes também, os quais me proporcionaram amadurecimento. Desculpem-me pela ausência, nem sempre bem compreendida!

Ao Ewerthon, meu amado namorado e amigo, pelo amor, incentivo imensurável, pela paciência e compreensão, por ser tão presente desde a seleção do Mestrado, sempre acreditando em mim mais do que eu mesma. É muito bom compartilhar essa vitória com você e ver mais um dos nossos planos e sonhos se tornar real. “Não existe acaso, todo o amor já foi sonhado, esse é o nosso caso, um encontro já marcado” (Raquel Becker).

À Profa. Dra. Leônia Maria Batista, pela oportunidade, orientação e ensinamentos diários, exemplo de dedicação e ética na pesquisa científica. Nossa relação se engrandece por ser regada com sinceridade e clareza.

Ao Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, pela atenção e fornecimento das amostras vegetais.

Às Profas. Dra. Margareth de F. F. M. Diniz e Dra. Marianna V.S. Castello-Branco, por terem cedido o ambiente físico e pela relação amistosa construída ao longo desses anos, tornando possível a execução deste trabalho.

À profa. Dra. Clélia Akiko Hiruma Lima, referência no estudo de plantas que atuam sobre o trato gastrointestinal, por aceitar ser membro da banca examinadora, sendo uma honra receber suas sugestões e contribuições para o enriquecimento desta dissertação.

À profa. Dra. Sandra Rodrigues Mascarenhas, pela contribuição na minha formação acadêmica, pela amizade construída na graduação e cultivada até os dias de hoje, sendo uma satisfação tê-la na comissão avaliadora deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pelo ensinamento e colaboração na minha formação profissional.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Farmacologia do Trato gastrointestinal, Gedson Rodrigues, Thiago Leite, Cynthia Almeida, Igor Rafael, Neyres Taveira, Heloína Falcão, Jéssica Hanne, Géssica Teixeira e Paulo César, pela atenção e ajuda que foram essenciais para a conclusão deste trabalho, pela amizade construída diariamente, pelo apoio e palavras de estímulo.

Ao Gedson Rodrigues, em especial, por ser mais do que meu colega e amigo, por ser meu irmão, por estar ao meu lado desde o início dessa caminhada, por compartilhar comigo os momentos de alegria, os problemas, as incertezas, sem você, meu irmão, tudo seria mais difícil!

À aluna de pós-graduação e amiga Jollen, que em um mês de estágio no nosso laboratório foi capaz de conquistar todos com seu sorriso largo, com sua vontade de aprender, com suas palavras de apoio, com sua forma de encorajar. Você foi essencial para o início dessa caminhada, “mermã”!

Aos colegas e amigos da turma de Mestrado 2009 do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, por todos os momentos compartilhados.

À aluna de pós-graduação e amiga Isis Fernandes, pela prestatividade na preparação da fase hexânica da espécie em estudo, pela amizade iniciada ainda no ensino médio, que cresceu em meio às boas risadas e à sinceridade, especialmente ao longo desses dois últimos anos.

Aos alunos pertencentes ao LABETOX, João Carlos Pita, Aline Xavier, Déborah Pessoa, Madson Moreira e Waleska Pereira pela amizade, disponibilidade e colaboração nos experimentos de toxicidade.

Aos amigos “Legais”, Alliny Muriel, Bruno Vinícius, Flávia Fonsêca, Gedson Rodrigues, Juliana Queiroga, Paulo Roberto (Bahia), Rafael Travassos e Thyago Queiroz, amizades cativadas ainda na graduação (2004). Obrigada por estarem comigo e desejo que esses laços, a cada encontro, sejam fortalecidos, vocês são muito importantes! “Amigos não são somente aqueles que têm o poder de curar nossas feridas e acabar com a nossa solidão, mas sim aqueles que fazem reviver a luz apagada de nossos corações” (Mário Quintana).

À direção do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Profº. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF/UFPB) na pessoa da Profa. Silvana Jales.

A Coordenação do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, representada pela Profa. Maria de Fátima Agra, pela atenção concedida, sempre que necessário.

Aos funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, em especial às secretárias da Pós-graduação Carol, Tânia e Francis e à amiga, funcionária da limpeza, Mônica, pela atenção diária, alegria e apoio.

Ao amigo José Crispim Duarte, pela competência e auxílio técnico, pelo constante incentivo e apoio, pela amizade e prestatividade.

Ao Luís Cordeiro e Adriano Silva, pela disponibilidade e apoio técnico imprescindíveis na execução deste trabalho.

Ao funcionário do CCS e amigo Sr. Bira, pela atenção e amizade revivida a cada encontro.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo apoio financeiro na concessão da minha bolsa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pelo suporte técnico-científico através do Portal Periódicos.

A todos que, direta ou indiretamente, participaram do desenvolvimento e da conclusão desta dissertação.

MUITO OBRIGADA!

Camila de Albuquerque Montenegro

"Flores e espinhos são belezas que se dão juntas. Não queira uma só, elas não sabem viver sozinhas. Quem quiser levar a rosa para sua vida, terá de saber que com ela irão inúmeros espinhos. Não se preocupe, a beleza da rosa vale o incômodo dos espinhos!"

(Pe. Fábio de Melo)

RESUMO

Atividade gastroprotetora de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) em modelos animais. MONTENEGRO, C. A. (2011). Dissertação de Mestrado, LTF/CCS/UFPB.

Xylopia langsdorffiana A. St.-Hil. & Tul., espécie pertencente a família Annonaceae, conhecida, popularmente, como “pimenteira-da-terra”, foi selecionada para o estudo com base em critérios quimiotaxonômicos, uma vez que muitos compostos químicos detentores de atividades farmacológicas têm sido isolados seja do gênero ou da própria espécie. Dentre esses, destacam-se os diterpenos, considerados biomarcadores das espécies do gênero *Xylopia*. A partir das folhas dessa espécie foram obtidos o extrato etanólico bruto (EEtOH) e a fase hexânica (FaHex) utilizados na avaliação da toxicidade e das atividades gastroprotetora e cicatrizante, em modelos animais. No ensaio de toxicidade aguda, a dose única de 2000 mg/kg do EEtOH administrada via oral (v.o.), provocou sinais de irritabilidade e hiperatividade, aumento no consumo de ração e peso corpóreo dos camundongos fêmeas, enquanto que para os camundongos machos ocorreu apenas aumento no consumo de água. Não foram registradas mortes e nem alterações macroscópicas nos órgãos dos camundongos. Para a avaliação da atividade gastroprotetora foram utilizados os modelos de indução de úlcera pelos agentes lesivos HCl/etanol, etanol, estresse (imobilização e frio), antiinflamatório não-esteroidal (AINE – piroxicam) e por contensão do suco gástrico. No modelo HCl/etanol, o EEtOH-XI (62,5 125, 250 e 500 mg/kg, v.o.) reduziu o índice de lesão ulcerativa (ILU) em 29, 38, 52 e 60 %, respectivamente. No modelo de etanol, o EEtOH-XI e a FaHex-XI (62,5 125, 250 e 500 mg/kg, v.o.) inibiram o ILU em 37, 41, 64, 83 e 23, 51, 81, 84 %, respectivamente. Com relação ao modelo de estresse o EEtOH-XI e a FaHex-XI (62,5, 125, 250 e 500 mg/kg, v.o.) diminuíram o ILU em cerca de 47, 50, 52, 48 e 32, 43, 56 e 75 %, respectivamente. Resultado semelhante foi evidenciado para o modelo de AINE, cujas porcentagens de proteção foram 31, 70, 71, 72 % (EEtOH-XI) e 42, 58, 61 % (FaHex-XI nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg). Nas úlceras induzidas por contensão do suco gástrico (ligadura de piloro) o EEtOH-XI (500 mg/kg) e a FaHex-XI (250 mg/kg) induziram proteção gástrica com a administração tanto por via oral (v.o.) (54 e 34 %) quanto por via intraduodenal (i.d.) (36 e 45 %), respectivamente. Ainda nesse modelo, o EEtOH (500 mg/kg) e a FaHex (250 mg/kg) em ambas as vias de administração (v.o e i.d.) não alteraram os parâmetros do suco gástrico (pH, [H⁺] e volume gástrico). Na elucidação dos mecanismos de ação da atividade citoprotetora de *Xylopia langsdorffiana*, a FaHex-XI (250 mg/kg) não aumentou a produção de muco aderido à mucosa; o EEtOH-XI (500 mg/kg) e a FaHex-XI (250 mg/kg) administrados oralmente, induziram gastroproteção dependente dos grupamentos sulfidrilas e da via do óxido nítrico. Já no modelo de úlcera induzida por ácido acético, os tratamentos com o EEtOH-XI (500 mg/kg, v.o.) e a FaHex-XI (250 mg/kg, v.o.) resultaram em 51 e 36 % de cicatrização das úlceras, respectivamente. Neste modelo, durante os 14 dias de tratamento, o EEtOH-XI promoveu aumento na ingesta de água e ração enquanto que a FaHex-XI reduziu os parâmetros bioquímicos AST e ácido úrico. Estes dados indicam que *X. langsdorffiana* possui atividade gastroprotetora e cicatrizante, com a participação parcial dos grupamentos sulfidrilas e da via do óxido nítrico, e, possivelmente, há o envolvimento de fatores de crescimento e angiogênese no processo de cicatrização induzido pelos seus constituintes químicos, em especial os diterpenos.

Palavras-chave: *Xylopia langsdorffiana*, diterpenos, úlceras, gastroproteção, cicatrização.

ABSTRACT

Gastroprotective activity of *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) in animal models. MOTENEGRO, C. A. (2011). Master's thesis, LTF/CCS/UFPB.

Xylopia langsdorffiana A. St.-Hil. & Tul., species belonging to the Annonaceae family, popularly known as "pimenteira da terra" was selected for the study on the basis of the chemotaxonomic criteria, because many chemical compounds with pharmacological activities have been isolated. Among these, the diterpenes are highlighted, considered as important biomarkers of the species from genus *Xylopia*. The crude ethanol extract (EEtOH) and the hexane phase (FaHex) were obtained from the leaves of this species and were used to evaluate the toxicity, gastroprotective and healing activities in animal models. In acute toxicity test, the single dose of 2000 mg/kg of EEtOH administered p.o. caused signs of hyperactivity and irritability, increase in food consumption and body weight in female mice, while for male mice was observed only increase in water consumption. During the study, no deaths and no macroscopic changes were observed in the organs of the mice. For the evaluation of gastroprotective activity were used the models to induce ulcers by HCl/ethanol, ethanol (in rats), stress (immobilization and cold), nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) piroxicam in mice and contention of the gastric juice. In the HCl/ethanol-induced ulcer model the EEtOH-XI (62,5 125, 250 and 500 mg/kg, p.o.) reduced the ulcerative lesion index (ULI) in 29, 38, 52 and 60 %, respectively. It was also observed in the ethanol-induced ulcer model that the EEtOH-XI and FaHex-XI (62,5 125, 250 and 500 mg/kg, p.o.) inhibited the ULI in 37, 41, 64, 83 and 23, 51, 81, 84 %, respectively. In the stress-induced ulcer model the EEtOH-XI and FaHex-XI (62,5, 125, 250 and 500 mg/kg, p.o.) decreased the ULI for 47, 50, 52, 48 and 32, 43, 56, 75 %, respectively. Similar results were evidenced in NSAID-induced lesion model, which percentages of protection were 31, 70, 71, 72 % (EEtOH-XI) and 42, 58, 61 % to FaHex-XI doses of 125, 250 e 500 mg/kg. In the contention of the gastric juice (pyloric ligation) the EEtOH-XI (500 mg/kg) and FaHex-XI (250 mg/kg) showed gastric protection with the administration both orally (p.o.) (54 and 28 %) and intraduodenally (i.d.) (36 and 45%), respectively. In this model, the EEtOH (500 mg/kg) and FaHex (250 mg/kg) in both routes of administration did not alter the parameters of gastric juice (pH, $[H^+]$ and gastric volume). In the elucidating the mechanisms of cytoprotective activity of *Xylopia langsdorffiana* the FaHex-XI (250 mg/kg) did not increase the production of mucus to the mucosa; the EEtOH-XI (500 mg/kg) and FaHex-XI (250 mg/kg) administered orally induced gastroprotection dependent on sulfhydryl groups and nitric oxide. In the acetic acid-induced ulcer model, the treatment with EEtOH-XI (500 mg/kg, p.o.) and FaHex-XI (250 mg/kg, p.o.) resulted in 51 and 36% of ulcer healing, respectively. In this model, during the 14 days of treatment, it was observed that the extract increased the water and food intake and the hexane phase reduced the biochemical parameters AST and uric acid. These data indicate that *X. langsdorffiana* has gastroprotective and healing activity, with partial participation of sulfhydryl groups and nitric oxide and possibly the involvement of growth factors and angiogenesis in the healing process induced by the chemical constituents, particularly diterpenes, present in the vegetal samples tested.

Key words: *Xylopia langsdorffiana*, diterpenes, ulcers, gastroprotection, healing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo molecular envolvido na secreção gástrica	29
Figura 2. Fatores protetores da mucosa	31
Figura 3. Úlcera péptica e as camadas lesionadas	40
Figura 4. Alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera péptica	47
Figura 5. Fotos de <i>Xylopi langsdorffiana</i> . Árvore completa e detalhe das folhas ..	53
Figura 6. Marcha fitoquímica para obtenção do EEtOH e da FaHex das folhas de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	60
Figura 7. Animais utilizados: (A) camundongo Swiss (<i>Mus musculus</i>) e (B) rato Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	61
Figura 8. (A) lupa OLYMPUS Optical TL3 – SZ40 e (B) estômago de rato ulcerado com etanol absoluto, para determinação do ILU	65
Figura 9. (A) Analisador bioquímico automático Cobas Mira Plus® (Roche Diagnostic System); (B) Analisador hematológico celular automático Animal Blood Counter (Vet)	73
Figura 10. Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução tween 80 12 % (A), carbenoxolona 100 mg/kg (B), EEtOH-XI (62,5 mg/kg) (C), EEtOH-XI (125 mg/kg) (D), EEtOH-XI (250 mg/kg) (E), EEtOH-XI (500 mg/kg) (F) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)	81
Figura 11. Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução tween 80 12 % (A), carbenoxolona 100 mg/kg (B), FaHex-XI (62,5 mg/kg) (C), FaHex-XI (125 mg/kg) (D), FaHex-XI (250 mg/kg) (E), FaHex-XI (500 mg/kg) (F) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol)	81
Figura 12. Estômagos de ratos ulcerados e tratados com tween/tween (A) tween/carbenoxolona (B), tween/EEtOH (C), tween/FaHex (D), NEM/tween (E), NEM/carbenoxolona (F), NEM/EEtOH (G), NEM/FaHex (H) (Modelo de avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas na gastroproteção)	90

Figura 13. Estômagos de ratos ulcerados e tratados com tween/tween (A) tween/carbenoxolona (B), tween/EEtOH (C), tween/FaHex (D), L-NAME/tween (E), L-NAME/carbenoxolona (F), L-NAME/EEtOH (G), L-NAME/FaHex (H) (Modelo de avaliação da participação do NO na gastroproteção) 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valor de CL ₅₀ obtido através do bioensaio com <i>A. salina</i> para o EEtOH de <i>Xylopi</i> <i>langsdorffiana</i>	76
Tabela 2. Efeito da administração oral do EEtOH obtido das folhas de <i>Xylopi</i> <i>langsdorffiana</i> na evolução ponderal, peso dos órgãos, consumo de água e ração por camundongos machos e fêmeas durante 14 dias	78
Tabela 3. Efeito da administração oral do EEtOH-XI e da carbenoxolona em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos	79
Tabela 4. Efeito da administração oral do EEtOH-XI, da FaHex-XI e carbenoxolona em úlceras induzidas por etanol em ratos.....	80
Tabela 5. Efeito da administração oral do EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina em úlceras induzidas por estresse por imobilização e frio em camundongos	83
Tabela 6. Efeito da administração oral do EEtOH-XI, da FaHex e cimetidina em úlceras induzidas por AINE (Piroxicam) em camundongos	84
Tabela 7. Efeitos da administração oral do EEtOH, FaHex e cimetidina nas lesões gástricas induzidas induzidas por contensão da secreção gástrica através da ligadura de piloro em ratos	85
Tabela 8. Efeitos da administração intraduodenal do EEtOH, FaHex e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por contensão da secreção gástrica em modelo de ligadura de piloro em ratos	86
Tabela 9. Parâmetros bioquímicos do suco gástrico de ratos submetidos à ligadura de piloro, tratados com EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina por via v.o.	87
Tabela 10. Parâmetros bioquímicos do suco gástrico de ratos submetidos à ligadura de piloro, tratados com EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina por via i.d	87
Tabela 11. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>X.</i> <i>langsdorffiana</i> durante 14 dias sobre o consumo de água e ração pelos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	96

Tabela 12. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>X. langsdorffiana</i> durante 14 dias sobre o peso dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	96
Tabela 13. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>X. langsdorffiana</i> durante 14 dias sobre o peso dos órgãos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	97
Tabela 14. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>X. langsdorffiana</i> durante 14 dias sobre os parâmetros bioquímicos de ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	98
Tabela 15. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>X. langsdorffiana</i> durante 14 dias sobre os parâmetros hematológicos de ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	99

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Viabilidade das larvas do microcrustáceo <i>Artemia salina</i> após tratamento com EEtOH de <i>Xylopi</i> a <i>langsdo</i> rffiana (µg/mL)	76
Gráfico 2. Efeito da administração oral de FaHex-XI e carbenoxolona sobre o conteúdo de muco gástrico após ligadura do piloro em ratos	89
Gráfico 3. Efeito gastroprotetor do EEtOH-XI e carbenoxolona após pré-tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidrilas, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos	90
Gráfico 4. Efeito gastroprotetor da FaHex-XI e carbenoxolona após pré tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidrilas, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos	91
Gráfico 5. Efeito gastroprotetor do EEtOH-XI e da carbenoxolona após pré tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos	93
Gráfico 6. Efeito gastroprotetor da FaHex-XI e da carbenoxolona após pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos	94
Gráfico 7. Efeito cicatrizante do EEtOH e da FaHex obtidos de <i>Xylopi</i> a <i>langsdo</i> rffiana no modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético em ratos ..	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Adenilil ciclase
ACh	Acetilcolina
AINEs	Antiinflamatórios não-esteroidais
ALT	Alanina aminotransferase
ALU	Área de Lesão Ulcerativa
AMP_c	3',5' - Monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	Análise de variância de uma via
ANP	Peptídio natriurético atrial
AST	Aspartato aminotransferase
Ca²⁺	Íon cálcio
CAT	Catalase
CCK-2	Receptor de colecistocinina 2
CHCM	Concentração hemoglobínica corpuscular média
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene de calcitonina
CL₅₀	Concentração letal 50%
Cl⁻	Íon cloreto
COX	Ciclooxigenase
CRF	Fator liberador de corticotropina
DAG	Diacylglicerol
DL₅₀	Dose Letal 50%
d.p.m	Desvio padrão da média
ECL	Células enterocromafins "like"
EtOH	Etanol
EEtOH	Extrato etanólico bruto
EGF	Fator de crescimento epidermal

EROs	Espécies reativas de oxigênio
eNOs	Sintase do óxido nítrico endotelial
FaHex	Fase hexânica
FGF	Fator de crescimento de fibroblasto
GCs	Guanilil ciclase solúvel
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GSH	Glutationa
GSH-Px	Glutationa peroxidase
GSH-Rd	Glutationa redutase
GRP	Peptídio liberador de gastrina
GSSG	Glutationa oxidada
HCl	Ácido clorídrico
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HGF	Fator de crescimento do hepatócito
HSP	Proteína de choque térmico
HCO₃⁻	Íon bicarbonato
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
H⁺	Próton
H⁺-K⁺-ATPase	Bomba de prótons
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
i.d.	Intraduodenal
ILU	Índice de Lesão Ulcerativa
IL-1β	Interleucina 1 beta
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
i.p.	Intraperitoneal
IP₃	1,4,5-trisfosfato de inositol
K⁺	Íon potássio

Labdano-302	Ácido 8(17),12E,14-labdatrieno-18-óico
LABETOX	Laboratório de Ensaios Toxicológicos
L-NAME	N ^ω -nitro-L-arginina-metil-éster
LTB-4	Leucotrienos B ₄
LTC-4	Leucotrienos C ₄
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros”
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídio-fosfato-hidrogênio
NEM	N-etilmaleimida
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
O₂⁻	Ânion superóxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
-OH	Radical hidroxil
p	Probabilidade
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PGE₂	Prostaglandina da série E
PGs	Prostaglandinas
PGI₂	Prostaciclina 2
PKA	Proteína cinase dependente de AMP _c
PKG	Proteína cinase dependente de GMP _c
PLC	Fosfolipase C
s.c.	Subcutânea
SHs	Grupamentos sulfidrilas
SNC	Sistema Nervoso Central
SNE	Sistema Nervoso Entérico

SOD	Superóxido desmutase
SST₂	Receptor de somatostatina 2
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF-α	Fator de crescimento transformador alfa
TGF-β	Fator de crescimento transformador beta
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TRH	Hormônio liberador da tirotropina
TSH	Hormônio estimulante da tireóide
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
VCM	Volume corpuscular médio
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
v.o.	Via oral

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

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 Considerações Gerais	25
1.2 Formação e Secreção Ácida Gástrica	27
1.3 Principais Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica	30
A) Defesa Pré-epitelial: Muco-Bicarbonato-Fosfolipídios	31
B) Defesa Epitelial	32
C) Defesa Sub-epitelial (Fluxo Sanguíneo)	33
D) Inervação Sensorial da Mucosa Gástrica	34
E) Reconstituição do Epitélio Gástrico	34
1.3.1 Fatores Moduladores da Mucosa Gástrica	35
A) Óxido Nítrico	35
B) Prostaglandinas (PGs)	36
C) Sistema de Defesa Antioxidante e Grupamentos Sulfidrilas	37
1.4 Etiologia da Úlcera Péptica	39
1.5 Epidemiologia	45
1.6 Terapêutica	47
1.7 Plantas Medicinais	49
1.7.1 Plantas com Atividade Antiulcerogênica	50
1.7.2 Família Annonaceae e Gênero <i>Xylopia</i>	51
1.7.3 <i>Xylopia langsdorffiana</i> A. St.-Hil. & Tul.	52
1.7.4 Diterpenos Bioativos	54
2 OBJETIVOS	57
2.1 Objetivo Geral	57
2.2 Objetivos Específicos	57
3 MATERIAL E MÉTODOS	59
3.1 Material	59
3.1.1 Local da Pesquisa	59

3.1.2 Material Botânico	59
3.1.3 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto e da Fase Hexânica de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	59
3.1.4 Animais	60
3.1.5 Drogas Utilizadas	62
3.2 Métodos	62
3.2.1 Ensaio Toxicológico de <i>Xylopi langsdorffiana</i> A. St.-Hil. & Tul.	62
3.2.1.1 Determinação da Concentração Letal 50% (CL ₅₀)	62
3.2.1.2 Triagem comportamental e determinação da dose letal 50% (DL ₅₀)	63
3.2.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de <i>Xylopi langsdorffiana</i> A. St.-Hil. & Tul.	64
3.2.2.1 Modelos de indução aguda de úlcera gástrica	65
3.2.2.1.1 Úlcera gástrica induzida por HCl/Etanol (Triagem farmacológica)	65
3.2.2.1.2 Úlceras gástricas induzidas por etanol	66
3.2.2.1.3 Úlceras gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio)	66
3.2.2.1.4 Úlceras gástricas induzidas por Antiinflamatório-não-esteroidal (Piroxicam)	67
3.2.2.1.5 Indução da úlcera gástrica por contensão do suco gástrico.....	67
3.2.2.1.6 Avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico após ligadura do piloro (v.o. e i.d.)	68
3.2.3 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	68
3.2.3.1 Determinação da concentração de muco aderido à parede gástrica	68
3.2.3.2 Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na gastroproteção	69
3.2.3.3 Avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção	70
3.2.4 Avaliação da Atividade Cicatrizante de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	70
3.2.4.1 Úlcera gástrica induzida por ácido acético	70
3.2.4.1.1 Avaliação da toxicidade de doses repetidas do EEtOH e da FaHex de <i>Xylopi langsdorffiana</i> durante 14 dias no modelo de ácido acético	71
A) Avaliação do consumo de água e ração	72
B) Avaliação ponderal	72

C) Avaliação do peso dos órgãos	72
D) Avaliação dos parâmetros bioquímicos e hematológicos	72
3.3 Análise Estatística	74
4 RESULTADOS	76
4.1 Ensaios Toxicológicos de <i>Xylopi langsdorffiana</i> A. St.-Hil. & Tul.	76
4.1.1 Determinação da Concentração Letal 50% (CL ₅₀)	76
4.1.2 Triagem Comportamental e Determinação da Dose Letal 50% (DL ₅₀) ...	77
4.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de <i>Xylopi langsdorffiana</i> A. St.-Hil. & Tul.	79
4.2.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/Etanol	79
4.2.2 Úlceras Gástricas Induzidas por Etanol	80
4.2.3 Úlceras Gástricas Induzidas por Estresse (Imobilização e Frio)	82
4.2.4 Úlceras Gástricas Induzidas por Antiinflamatório-não-esteroidal (Piroxicam)	83
4.2.5 Indução da Úlcera Gástrica por Contensão do Suco Gástrico	84
4.2.6 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos do Suco Gástrico após Ligadura do Píloro (v.o. e i.d.)	86
4.2.7 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	88
4.2.7.1 Determinação da concentração de muco aderido à parede gástrica	88
4.2.7.2 Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na gastroproteção	89
4.2.7.3 Avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção	92
4.3 Avaliação da Atividade Cicatrizante de <i>Xylopi langsdorffiana</i>	94
4.3.1 Úlcera Gástrica Induzida por Ácido Acético	94
4.3.1.1 Avaliação da toxicidade de doses repetidas do EEtOH e da FaHex de <i>Xylopi langsdorffiana</i> durante 14 dias no modelo de ácido acético	95
A) Avaliação do consumo de água e ração	96
B) Avaliação ponderal	96
C) Avaliação do peso dos órgãos	97
D) Avaliação dos parâmetros bioquímicos	97

E) Avaliação dos parâmetros hematológicos	97
5 DISCUSSÃO	101
6 CONCLUSÃO	120
7 PERSPECTIVAS	122
REFERÊNCIAS	125
ANEXOS	162

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Desde os tempos antigos, as plantas têm se mostrado poderosos agentes destinados ao tratamento dos males que acometem a humanidade. A busca por alívio e cura das doenças por meio da ingestão de ervas, nas mais diferentes formas de preparações (infusos, decoctos, tinturas, alcoolaturas, extratos, etc.), talvez, tenha sido um dos primeiros recursos terapêuticos utilizados (VIEGAS-JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Sendo assim, por suas propriedades curativas ou tóxicas, as plantas adquiriram fundamental importância na medicina tradicional (MARTINS et al., 2003).

O Brasil é o país com a maior diversidade vegetal do mundo e possui cerca de 20 % do número total de espécies do planeta (CALIXTO, 2003; OMENA, 2007; SOUZA; FELFILI, 2006), contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (SANDES; DI BLASI, 2000). Com sua biodiversidade, apresenta um grande potencial para a descoberta de princípios ativos (SIMÕES et al., 2004).

A importância ecológica, medicinal e econômica de espécies nativas brasileiras, bem como o risco de sua extinção pela ação predatória do homem, tem motivado o estudo com plantas, visando sua preservação e aproveitamento racional (SOUZA et al., 2003). Ainda, com seu amplo patrimônio genético e sua variedade cultural, este país tem em mãos a oportunidade para estabelecer um modelo singular e excepcional no sistema único de saúde (SUS), com o uso sustentável de plantas medicinais (BRASIL, 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 65 a 80 % da população, principalmente em países em desenvolvimento, usam como medicamentos extratos ou porções oriundas de plantas para tratar suas enfermidades, devido à falta de recursos e o difícil acesso à medicina moderna (CALIXTO, 2005; GURIB FAKIM, 2006). No entanto, as plantas medicinais da flora brasileira são utilizadas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Cerca de 50% das drogas introduzidas no mercado, durante os últimos anos, são derivadas, direta ou indiretamente, de pequenas moléculas biogênicas (VUORELA et al, 2004). As plantas e os fitoterápicos, hoje, representam uma classe de produtos com grande potencialidade de crescimento no Brasil, uma vez que as vendas têm crescido de 10 a 15% ao ano, porém, com participação de 2%, em média, no mercado farmacêutico (BRASIL, 2010).

O estímulo à pesquisa, produção e comercialização de espécies vegetais brasileiras gera trabalho, renda, desenvolvimento e integração regional, enfim, possibilidades econômicas importantes ao desenvolvimento do país, visando à sustentabilidade (BRASIL, 2010). Dessa forma, os produtos naturais oferecem maiores oportunidades para encontrar moléculas potencialmente ativas que levem a novos fármacos úteis no tratamento de diversas afecções (GULLO; HUGHES, 2005), incluída a terapêutica da úlcera péptica.

As lesões ulcerativas são as mais comuns dentre as doenças gastrintestinais, afetando um número considerável de pessoas em todo o mundo, sendo consideradas afecções dos tempos modernos, por estarem relacionadas ao estilo de vida estressante da população, aos vícios como o tabagismo e o consumo de álcool, além do uso prolongado de antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs) e da infecção bacteriana ocasionada pelo *Helicobacter pylori* (ANDREO et al., 2006; JAMAL et al., 2006; VONKEMAN et al., 2007).

As intervenções terapêuticas na úlcera péptica estão centradas na redução da acidez gástrica bem como no fortalecimento da proteção da mucosa gástrica (HOOGERWERF; PASRICHA, 2006). No entanto, essas injúrias podem persistir entre 10-20 anos, caracterizadas por episódios de cicatrização intercalados pela recidiva (BAKUMOV et al., 2003), o que torna nítida a ineficiência dos medicamentos disponíveis no mercado.

Tratar a sintomatologia da úlcera péptica com vegetais é uma prática comum na medicina tradicional em todo o mundo (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005) e seguindo esse princípio, este trabalho visa contribuir para o uso seguro de plantas, colaborar com a pesquisa científica por meio de metodologias padronizadas, tendo como finalidade a busca de novas alternativas terapêuticas para as doenças do trato gastrintestinal, em especial a úlcera péptica.

1.2 Formação e Secreção Ácida Gástrica

Funcionalmente, o estômago é responsável por armazenar o alimento, absorver ferro, vitamina B12 e cálcio, digerir proteínas, formar o quimo, permitir lentamente a passagem do bolo alimentar para o intestino delgado e eliminar microorganismos (SCHUBERT, 2003; MÖSSNER; CACA, 2005).

O pepsinogênio, o bicarbonato (HCO_3^-), o muco fluido, os eletrólitos, o fator intrínseco e o ácido clorídrico (HCl) constituem a secreção gástrica (KONTUREK; KONTUREK; OCHMANSKI, 2004), fisiologicamente importante no processo digestório, por induzir a ativação de zimogênios (pepsinogênio) e matar bactérias, assegurando um ambiente intragástrico estável (JAIN et al., 2007).

As células parietais localizadas na mucosa gástrica oxíntica secretam ácido clorídrico a uma concentração de aproximadamente 160 mM (SCHUBERT, 2007). A fim de evitar danos aos tecidos, essa secreção é fortemente regulada pela interrelação de três vias de ativação da célula parietal: estimulação neuronal com liberação de acetilcolina (ACh) via nervo vago, estimulação endócrina através da liberação de gastrina das células G e estimulação parácrina culminando na liberação de histamina a partir das células enterocromafins “like” (ECL) (SCARPIGNATO; PELOSINI; DI MARIO, 2006; JAIN et al., 2007; SCHUBERT, 2007; SCHUBERT; PEURA, 2008).

Esses secretagogos ativam receptores acoplados as duas principais vias de transdução de sinal: cálcio intracelular (Ca^{2+}) por ativação da fosfolipase C (PLC) no caso da acetilcolina e gastrina e adenilil ciclase (AC) para a histamina (SCARPIGNATO; PELOSINI; DI MARIO, 2006; SCHUBERT; PEURA, 2008). Quanto à inibição da secreção ácida gástrica, a somatostatina, liberada a partir de células D pilóricas e oxínticas, é a principal detentora dessa função. Cada um desses agentes age diretamente na célula parietal bem como, indiretamente, modulando a secreção nas células neuroendócrinas (SCHUBERT; PEURA, 2008).

O SNC é considerado o principal colaborador para o início da secreção ácida, sendo o nervo vago o responsável por monitorar o meio mecânico e químico do estômago, transmitindo informações ao cérebro (SCHUBERT, 2007). Na via neuronal, a ACh estimula diretamente a secreção de ácido gástrico ao se ligar aos receptores muscarínicos M_3 localizados na membrana basolateral das células

parietais (JAIN et al., 2007; SCHUBERT, 2007). Esses receptores estão acoplados a proteína $G_{q/11}$ induzindo a ativação de fosfolipase C (PLC) com geração de 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3) e liberação de cálcio intracelular (HOU; SCHUBERT, 2006).

A Ach também estimula, indiretamente, a secreção ao interagir com receptores M_2 e M_4 nas células D relacionados com a inibição da secreção de somatostatina (JAIN et al., 2007; SCHUBERT 2007; SCHUBERT; PEURA, 2008), além de, induzir a liberação de gastrina pelas células G do antro e de histamina das células ECL no fundo gástrico. (JAIN et al., 2007).

A gastrina, o principal estimulante da secreção ácida durante a ingestão de alimentos, é produzida nas células G do antro gástrico e em quantidades muito menores e variáveis, no intestino delgado proximal, cólon e pâncreas (SCHUBERT; PEURA, 2008). A sua liberação está sob regulação neuronal, distensão local e conteúdo gástrico (JAIN et al., 2007).

Esse agonista medeia os seus efeitos principalmente via receptor CCK-2 acoplado a proteína $G_{q/11}$, ativando PLC e liberando cálcio para o meio intracelular (KULAKSIZ et al., 2000; HOU; SCHUBERT, 2006; SCHUBERT, 2007; SHUBERT; PEURA, 2008). Gastrina ainda induz a expressão da enzima histidina descarboxilase (HDC), que promove a descarboxilação da L-histidina e, assim, controla a síntese de histamina nas células ECL (LINDSTROM et al., 2001; ZANNER et al., 2002) e essa é, atualmente, considerada a principal via pela qual esse hormônio estimula a secreção de ácido (SCHMITZ et al., 2001; SCHUBERT; PEURA, 2008).

A histamina estimula as células parietais, diretamente, por meio da ligação aos receptores H_2 acoplados à ativação da AC e geração de adenosina 3' 5' monofosfato-cíclico (AMP_c). Esse agente também induz a secreção de ácido, indiretamente, pela interação aos receptores H_3 ligados à inibição da somatostatina e, portanto, à estimulação da secreção de histamina e de ácido (HOU; SCHUBERT, 2006; SCHUBERT; PEURA, 2008).

Todas essas ações culminam na secreção ácida, via estimulação da bomba de prótons ($H^+K^+ATPase$) que se dá pela fusão das vesículas, contendo as $H^+K^+ATPase$, à membrana apical da célula parietal, formando extensas invaginações. Esta enzima possui 2 subunidades que catalizam a troca de K^+ luminal por H^+

citoplasmático (SCHUBERT; PEURA, 2008) (Figura 1), ocorrendo a secreção de íons hidrogênio no lúmen gástrico, em troca de íons potássio (HERSEY; SACHS, 1995; SCARPIGNATO; PELOSINI; DI MARIO, 2006).

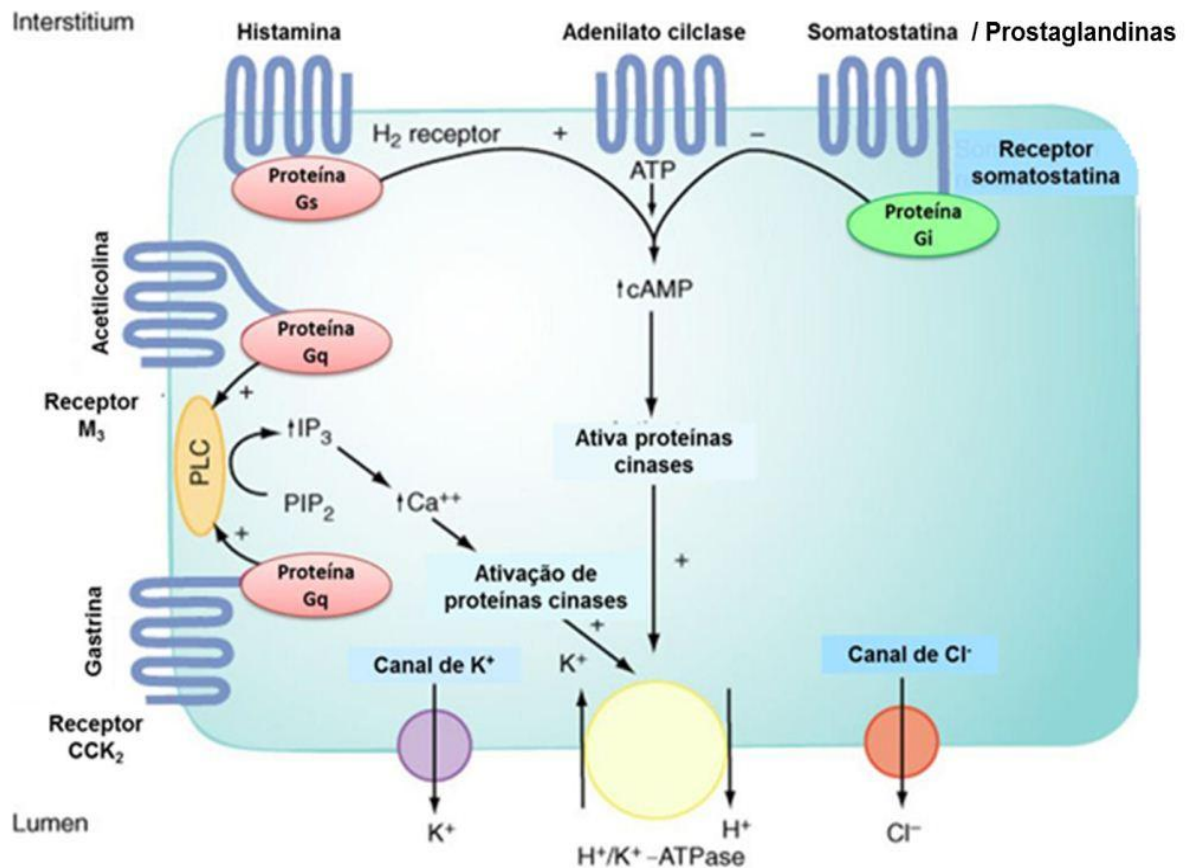


Figura 1 - Mecanismo molecular envolvido na secreção gástrica. (Fonte: <http://www.misodor.com/estomago%20cirurgical.html> (Adaptado) - Acesso em: 14 jan 2011).

Quanto à inibição da secreção ácida, esta pode se dar por meio da somatostatina, da colecistocinina (CCK), do peptídeo atrial natriurético (ANP) e das prostaglandinas.

Uma diminuição do pH estimula a liberação de somatostatina das células D, localizadas na mucosa antral e fúndica e seus efeitos na secreção ácida são mediados por receptores SST₂ acoplados a proteína Gi, inibindo, assim, a atividade da AC e reduzindo os níveis de AMPc (HERSEY; SACHS, 1995; SCARPIGNATO; PELOSINI; DI MARIO, 2006).

A CCK liberada a partir de células intestinais enteroendócrinas, em resposta à presença de lipídios luminais, estimula a somatostatina e, portanto, inibe a secreção ácida. Receptores CCK-1 estão presentes tanto nos terminais nervosos vagais aferentes quanto nas células D gástricas contendo somatostatina (SCHUBERT, 2007).

Os peptídeos natriuréticos compreendem uma família de proteínas estruturalmente relacionadas, que inclui o ANP, peptídeo natriurético cerebral e o peptídeo natriurético tipo C. O ANP está presente em células ECL da mucosa gástrica. O percentual de células que sintetizam ANP é maior no fundo, intermediário no antro, e menor no corpo (LI et al., 2006). Em todas as regiões, o ANP estimula a secreção de somatostatina (GOWER et al., 2003). No estômago, mais precisamente na região fúndica, a estimulação da somatostatina leva à inibição de histamina enquanto que no antro inibe a secreção de gastrina, e, conseqüentemente, a secreção ácida (SCHUBERT, 2007).

As prostaglandinas (PGs) também modulam a secreção ácida ao atuarem em seus diferentes subtipos de receptores EP (EP₁, EP₂, EP₃ e EP₄), destacando-se o EP₃ o qual, uma vez ativado, desencadeia uma cascata de sinalização semelhante a da somatostatina, culminando na inibição do suco gástrico. Todas as vias convergem e modulam a atividade luminal da H⁺-K⁺-ATPase (AIHARA et al., 2003; SCARPIGNATO; PELOSINI; DI MARIO, 2006).

1.3 Principais Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica

A defesa da mucosa gástrica abrange processos dinâmicos que incluem mecanismos locais e neuro-hormonais, permitindo ao TGI suportar a contínua exposição a fatores agressores como, HCl, pepsina, álcool e sais biliares (LAINE, TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; WALLACE, 2008; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

A integridade da mucosa é mantida pelos seguintes mecanismos: fatores pré-epiteliais (muco, bicarbonato e fosfolipídios), defesa epitelial (células epiteliais), defesa sub-epitelial (fluxo sanguíneo), inervação sensorial, reconstituição do epitélio gástrico, óxido nítrico (NO), geração de prostaglandinas (PGs) e sistema de defesa

antioxidante (LAINE, TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; ZHU; KAUNITZ, 2008) (Figura 2).

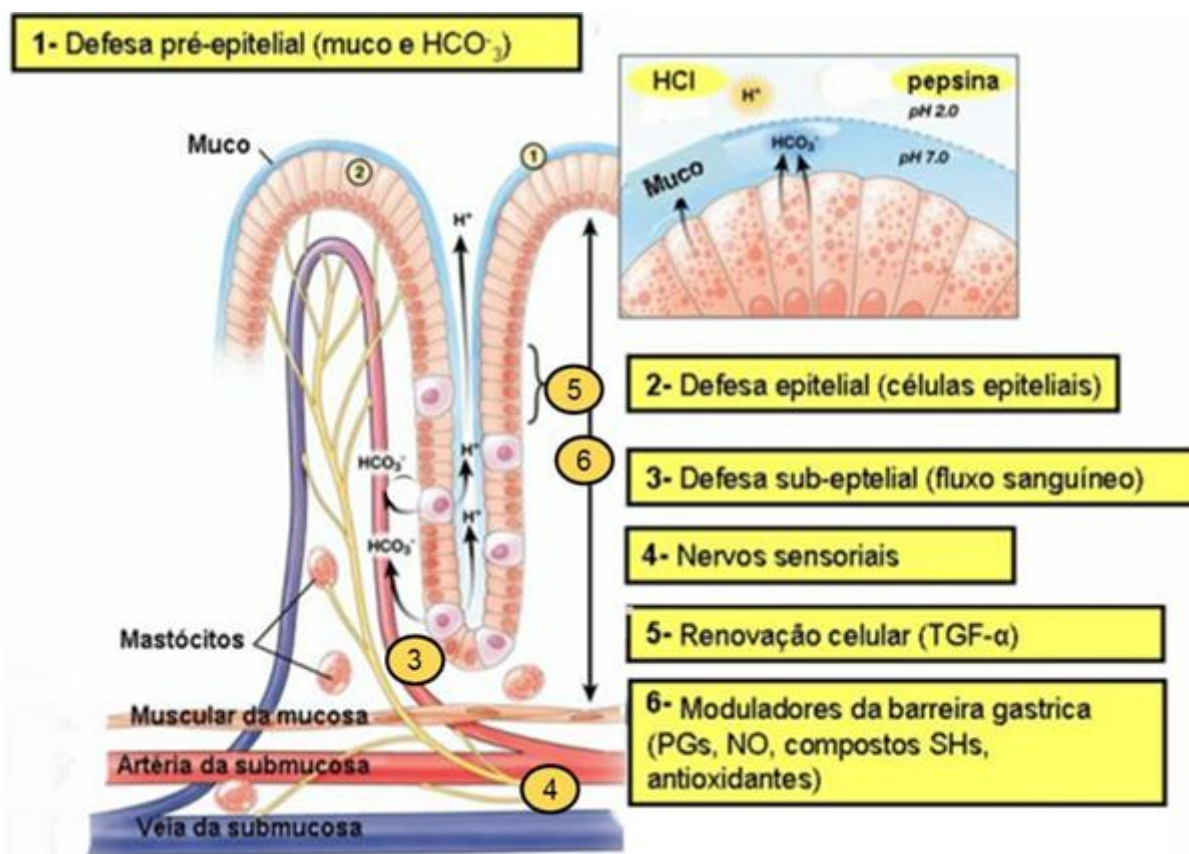


Figura 2 - Fatores protetores da mucosa (Adaptado de LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A) Defesa Pré-epitelial: Muco-Bicarbonato-Fosfolipídios

A constante renovação desta primeira linha de defesa, formada por muco, bicarbonato e fosfolipídios tensoativos, cobrindo o trato gastrointestinal (TGI), funciona como uma barreira entre o conteúdo luminal e a mucosa (PHILLIPSON et al., 2008) e tem por finalidade manter um microambiente neutro, impedindo a ação proteolítica da pepsina (ATUMA et al., 2001; ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005).

O muco, um gel transparente, viscoso e aderente formado por cerca de 95 % de água e 5 % de glicoproteínas (mucina), além de pequenas quantidades de lipídios, ácidos nucleicos e proteínas (REPETTO; LLESUY, 2002; ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005), é secretado pela região apical das células epiteliais superficiais estimuladas por hormônios gastrintestinais (secretina), PGE_2 e agentes

colinérgicos (MONTROSE et al., 2006). É considerado um importante fator de proteção uma vez que reveste toda a mucosa gastrintestinal, proteção, esta, atribuída não apenas a sua estrutura, mas também a quantidade ou espessura que cobre a superfície da mucosa (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

Este gel atua como um lubrificante, reduzindo os danos físicos e dificultando o acesso das bactérias ao epitélio (LIÉVIN-LE; SERVIN, 2006; MEYER-HOFFERT; HORNEF; HENRIQUES-NORMARK, 2008), além de reter o bicarbonato secretado, que auxilia na manutenção do pH neutro (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005).

A superfície luminal do muco é revestida por uma película de fosfolipídios surfactantes com fortes propriedades hidrofóbicas que impede a difusão de ácidos ionizáveis, como HCl do lúmen gástrico, em direção à mucosa gástrica (LICHTENBERGER, 1999; KONTUREK; KONTUREK; OCHMANSKI, 2004; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010). Entretanto, esses fosfolipídios não são capazes de impedir que algumas substâncias, como os sais biliares e o ácido acetilsalicílico, atravessem a camada de muco e causem danos ao epitélio gástrico (KONTUREK; KONTUREK; OCHMANSKI, 2004), uma vez que as mesmas diminuem a hidrofobicidade desse fator protetor (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005).

B) Defesa Epitelial

Uma camada contínua de células epiteliais superficiais interligadas por “gap junctions” previne a retrodifusão do ácido gástrico e da pepsina e secreta muco, bicarbonato, fosfolipídios, prostaglandinas (PGs), “Heat Shock Protein” – Proteínas de choque térmico - (HSPs), catelicidinas, β -defensinas e peptídeos da família do fator trefoil (TFFs) (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005; MONTROSE et al., 2006; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

HSPs são proteínas ativadas em resposta a estímulos estressantes, como pH ácido, temperatura elevada e presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) (TANAKA et al., 2007; MAUCHLEY et al., 2010) e têm como função impedir que as células entrem em apoptose, por meio da prevenção da desnaturação protéica intracelular, estabilizando filamentos de actina, inibindo enzimas-chave envolvidas no processo de morte celular (GARRIDO et al., 2006; LAINE; TAKEUCHI;

TARNAWSKI, 2008) e, adicionalmente, favorecendo a cicatrização de úlceras gástricas (OKABE; AMAGASE, 2005).

Estudos têm demonstrado que catelicidinas e β defensinas aceleram a cicatrização de úlceras em células epiteliais gástricas além de serem importantes peptídeos catiônicos que impedem a colonização bacteriana (YANG et al., 2006). Em se tratando dos TFFs, esses fatores regulam a reepitelização da mucosa, exercendo ação protetora (TAUPIN; PODOLSKY, 2003; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

C) Defesa Sub-epitelial (Fluxo Sanguíneo)

A microcirculação da mucosa garante o suprimento de oxigênio e de nutrientes e mantém o pH do microambiente relativamente elevado (WALLACE, 2008; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010). Na presença de substâncias irritantes ou da própria retrodifusão ácida ocorre um aumento significativo no fluxo sanguíneo da mucosa, levando à hiperemia gástrica, evento mediado por nervos aferentes sensoriais (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010) e, em parte, pelo NO (HOLZER, 2006).

Se o fluxo sanguíneo para o estômago é interrompido, o pH diminui bruscamente causando lesões hemorrágicas e, possivelmente, necrose. Isto é observado em casos de oclusão mecânica da artéria gástrica ou pela administração de um vasoconstritor, como endotelina (WALLACE; MCKNIGHT, 1990; WALLACE, 2008).

O controle do fluxo sanguíneo se dá por ações do SNC e entérico, pela regulação parácrina de hormônios, pelos fatores de crescimento e eicosanóides, tendo destaque para a produção local das PGs (BI; KAUNITZ, 2003).

As células endoteliais que revestem os microvasos geram potentes vasodilatadores, como óxido nítrico (NO) e prostaciclina (PGI_2), que protegem o epitélio gástrico contra lesões e danos ocasionados por substâncias vasoconstritoras, tais como leucotrienos C_4 , tromboxano A_2 e endotelina, sendo, dessa maneira, responsáveis pela manutenção da viabilidade celular endotelial, impedindo a agregação plaquetária e aderência de leucócitos, prevenindo, assim, o comprometimento da microcirculação (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

D) Inervação Sensorial da Mucosa Gástrica

Uma resposta imediata às altas concentrações de ácido na mucosa gástrica é possível devido aos nervos aferentes sensoriais (WALLACE, 2008) que envolvem vasos da mucosa e submucosa formando naquela um denso plexo (HOLZER, 2006; HOLZER, 2007).

Esses neurônios liberam neurotransmissores como a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), resultando no relaxamento do músculo liso que cerca as arteríolas, com consequente elevação do fluxo sangüíneo na mucosa. O efeito relaxante do CGRP no músculo liso vascular é mediado pelo óxido nítrico (agindo na guanilil ciclase solúvel - GCs), mas também há indícios da participação de prostaglandinas nessa resposta vasodilatadora (HOLZER, 1998; EVANGELISTA, 2006; OHNO et al., 2008; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

E) Reconstituição do Epitélio Gástrico

A reepitelização e manutenção da mucosa gástrica são processos dinâmicos associados com a proliferação e migração de células epiteliais e do tecido conjuntivo, necessários à recuperação e manutenção da arquitetura das camadas gástricas (JOHNSON, 1994; INEU et al., 2008), constituindo um processo chave na cicatrização de úlceras pépticas (TARNAWSKI et al., 2001; INEU et al., 2008).

Envolve uma série de eventos complexos que interligam mecanismos de proteção e reparação de danos, resultando na reconstrução tissular (HOLZER, 2001; INEU et al., 2008) e permitindo a substituição das células superficiais epiteliais danificadas ou envelhecidas (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A proliferação das células pró-genitoras é controlada por fatores de crescimento (fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), dentre outros) que estimulam proliferação, deslocamento, contratilidade e diferenciação celulares (TARNAWSKI et al., 2001; KUMAR et al., 2005).

Além da recuperação das estruturas epiteliais, novos microvasos são gerados para assegurar um adequado suprimento de oxigênio e nutrientes para a

cicatrização da mucosa (TARNAWSKI et al., 2001; GUO et al., 2002; SÁNCHEZ-FIDALGO et al., 2004).

A restituição da superfície do epitélio depois de um dano ocorre dentro de minutos, a completa renovação se dá entre 3-7 dias e a substituição das células glandulares é observada dentro de alguns meses (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

1.3.1 Fatores Moduladores da Mucosa Gástrica

A) Óxido Nítrico

O óxido nítrico é um mediador gasoso, lipossolúvel e instável, gerado endogenamente com grande importância na manutenção da integridade da mucosa gástrica, compartilhando muitos efeitos biológicos com as PGs (MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

Trata-se de uma pequena molécula sintetizada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) que existe em três isoformas, duas enzimas constitutivas (cNOS) dependentes de Ca^{2+} /calmodulina - NOS neuronal (nNOS) e a NOS endotelial (eNOS) - e uma forma induzida (iNOS), que é independente de Ca^{2+} (MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

Geralmente, eNOS e nNOS produzem baixas quantidades de óxido nítrico que executa muitas funções fisiológicas como a reparação e cicatrização da úlcera, aumentando o fluxo sanguíneo da mucosa e promovendo a angiogênese (através do estímulo do VEGF). Por outro lado, iNOS pode participar da cicatrização da úlcera por promover o fluxo sanguíneo ou, inversamente, induzir a lesão da mucosa através do aumento da apoptose, dependendo de fatores como o tipo do tecido, a quantidade e duração da expressão da NOS e, provavelmente, do estado redox dos tecidos (CALATAYUD; BARRACHINA; ESPLUGUES, 2001; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

O NO é reconhecido por acentuar a secreção de muco, bicarbonato e fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e por inibir a secreção ácida gástrica, evitar a ativação de neutrófilos e aderência ao endotélio vascular, proporcionando

gastroproteção (CHANDRANATH et al., 2002; FERREIRA et al., 2008; BRZOZOWSKI, 2003; BRZOZOWISK et al., 2008).

As diversas funções delegadas ao NO estão relacionadas ao envolvimento da via da guanilil ciclase solúvel (GCs), com a produção do monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), o qual ativa a proteína cinase dependente de GMPc (PKG), iniciando uma cascata de fosforilação, ativando alvos como fosfodiesterases e canais iônicos para a obtenção de respostas celulares as quais irão contribuir para a homeostase (DENNINGER; MARLETTA, 2001; MONCADA; HIGGS, 2006; LANAS, 2008).

B) Prostaglandinas (PGs)

As PGs são metabólitos ativos do ácido araquidônico, formadas pela ação das enzimas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) (MOTILVA et al., 2005; POONAM; VINAY; GAUTAM, 2005). Aquelas formadas por ação da COX-1 (enzima constitutiva) estão envolvidas com a citoproteção por meio de regulações da acidez gástrica, fluxo sanguíneo e motilidade, além da produção de muco e bicarbonato, enquanto que as provenientes da COX-2 (indutiva) são responsáveis pelo processo inflamatório, pela regulação da aderência leucocitária nos vasos, angiogênese e reparo celular através de fatores de crescimento (KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005). Outra isoforma das ciclooxigenases, é a COX-3 (CHANDRASEKHARAN et al., 2002), uma variante da COX-1, no entanto, não possui atividades enzimáticas que leve à produção de eicosanóides (BOTTING; AYOUB, 2005).

A integridade da defesa da mucosa gástrica depende da produção contínua de prostaglandina E_2 (PGE_2) e prostaciclina (PGI_2), mediada pela COX-1 e COX-2, que catalisa a etapa limitante na conversão do ácido araquidônico em prostaglandina endoperóxido (PGG_2) e prostanóides. PGE_2 e PGI_2 são potentes vasodilatadores e controlam quase todos os aspectos de defesa e cicatrização da mucosa gástrica (DEY; LEJEUNE; CHADEE, 2006).

As diversas funções da PGE_2 são mediadas por quatro receptores acoplados à proteína G (EP_1 a EP_4) e as da PGI_2 por receptores IP (DEY; LEJEUNE; CHADEE, 2006). Em se tratando dos receptores EP, eles utilizam diferentes vias de

sinalização: PGE₂ induz a produção de Ca²⁺ intracelular quando acoplada aos receptores EP₁ (inibindo motilidade gástrica e estimulando secreção de bicarbonato) (BAUMGARTNER et al., 2004; TANAKA et al., 2005; TAKEUCHI et al., 2006); aumenta AMPc ao ativar receptores EP₂ (inibindo apoptose e aderência neutrofílica e suprimindo a expressão de TNFα) (TAIRA; WATANABE; TANIGAWA et al., 2007) e EP₄ (acentua a secreção de muco e bicarbonato, acelera o processo de cicatrização, além de inibir apoptose e aderência neutrofílica e suprimir a expressão de TNFα) (LARSEN; HANSEN; BINDSLEV, 2005; HATAZAWA et al., 2007; TAIRA; WATANABE; TANIGAWA et al., 2007).

PGE₂ ainda pode diminuir a concentração de AMPc quando sinaliza ao se ligar aos receptores EP₃, o que culmina na inibição da secreção ácida (KATO et al., 2005; NISHIO et al., 2007). Por sua vez, a ativação de receptores IP, pela PGI₂, ocasiona redução da secreção gástrica e aumenta a resistência aos danos gástricos induzidos por isquemia e reperfusão (KOTANI et al., 2006; WALLACE, 2008).

C) Sistema de Defesa Antioxidante e Grupamentos Sulfidrilas

Radical livre é definido como qualquer átomo, grupo de átomos ou molécula com um elétron não pareado ocupando uma órbita externa, conferindo alta instabilidade química. Como exemplos, há o ânion superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$) e o óxido nítrico ($\bullet\text{ON}$) (DROGE, 2002; VANCINI et al., 2005).

Entretanto, existem compostos igualmente reativos que não possuem elétron desemparelhado na última camada eletrônica, (recebendo uma nomenclatura mais ampla) sendo denominados, portanto, de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de nitrogênio (ERN), incluindo o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o cátion nitrosonium (NO⁺), o ânion nitroxila (NO⁻) e o peroxinitrito (ONOO⁻) (DROGE, 2002; VANCINI et al., 2005).

A produção de EROs e de ERN, entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas, possuindo importantes funções biológicas, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor (VASCONCELOS et al., 2007).

As EROs, pelo fato de serem formadas pela redução incompleta do oxigênio, apresentam elevada reatividade química, sendo responsáveis por alterações celulares severas, atacando proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, resultando no comprometimento de funções biológicas, na formação de compostos tóxicos e até em morte celular (necrose e apoptose), como consequência do estresse oxidativo (KAHARAMAN et al., 2003; INEU et al., 2008; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Dentre os componentes celulares passíveis à ação dessas espécies reativas, a membrana celular constitui um importante alvo, tendo em vista a grande disponibilidade e susceptibilidade dos ácidos graxos poliinsaturados, o que leva a peroxidação lipídica. Os produtos finais desse processo são os hidroperóxidos lipídicos, que podem se decompor em aldeídos, sobretudo malondialdeído (MDA), sendo considerado biomarcador de lesão oxidativa, além de hidrocarbonetos voláteis, como o etano e o pentano (ROVER-JÚNIOR, 2001; SOUZA, FERNANDES; CYRINO, 2006).

O estresse oxidativo é o resultado de uma produção exacerbada de EROs, a partir de um desequilíbrio entre os sistemas pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes (DROGE, 2002; VANCINI et al., 2005; FINKEL; HOLBROOK, 2000; SCHAFER; BUETTNER, 2001; VASCONCELOS et al., 2007). Para garantir a homeostasia, o organismo conta com um sistema antioxidante enzimático e não-enzimático.

O sistema enzimático é representado, principalmente, pelas enzimas antioxidantes: a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 , a catalase (CAT) que atua na decomposição de H_2O_2 a O_2 e H_2O e a glutathione peroxidase (GPx), que age sobre peróxidos em geral, com utilização da glutathione (VASCONCELOS et al., 2007).

O sistema antioxidante não enzimático é formado por muitas substâncias, com destaque para a glutathione (GSH), principal composto antioxidante intracelular, além dos tocoferóis, ascorbato, ácido úrico e β -caroteno, proteínas de transporte de metais de transição, como a transferrina (transporte do ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre e oxidação do ferro para ser captado pela transferrina) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

A glutathiona é o mais abundante tiol de baixa massa molecular, encontrado intracelularmente em altas concentrações, essencial em todos os organismos aeróbicos, possuindo papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo (JOSEPH; MANNERVIK; MONTELLANO, 1997; HUBER; ALMEIDA; DE FÁTIMA, 2008).

Muitas das reações da GSH envolvem o grupo sulfidril (SH), altamente polarizável, tornando-o um bom nucleófilo para reações com compostos químicos eletrofílicos. Esta habilidade de doar elétrons a outros compostos faz da glutathiona um bom redutor. A combinação de sua abundância nos organismos aeróbicos e das propriedades químicas do grupo sulfidril sustentam a hipótese de que a GSH surgiu na evolução bioquímica como um protetor contra espécies reativas de oxigênio e compostos eletrofílicos gerados por processos oxidativos no organismo (HUBER; ALMEIDA; DE FÁTIMA, 2008).

Os metais de transição são potenciais formadores de espécies reativas através da reação com outros compostos, uma vez que sofrem reações redox. Decorre, daí, a necessidade de serem transportados associados a proteínas, impedindo que essas reações ocorram (VASCONCELOS et al., 2007).

Assim, o sistema de defesa antioxidante constitui uma importante proteção contra injúrias gástricas, uma vez que há evidências consideráveis sobre a participação de EROs na etiologia e fisiopatologia da úlcera péptica (REPETTO; LLESUY, 2002; KHOSLA et al, 2004; AL-MOFLEH et al., 2006).

1.4 Etiologia da Úlcera Péptica

Úlcera péptica é um termo convenientemente utilizado para se referir às lesões que acometem o trato gastrointestinal (LIU; CRAWFORD, 2005). Elas atingem a superfície da mucosa esofágica, gástrica ou intestinal, podendo lesionar vasos, nervos e as camadas teciduais mais profundas como a camada muscular, conduzindo à necrose tissular (TARNAWSKI, 2005) (Figura 3).

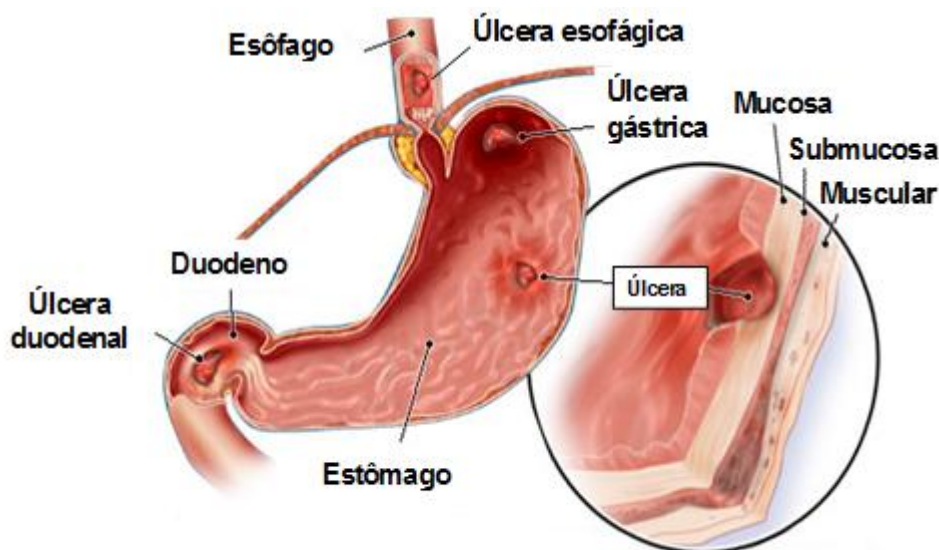


Figura 3 - Úlcera péptica e as camadas lesionadas. (Modificado de <http://hopkinsgi.nts.jhu.edu/images>).

O sintoma predominante da úlcera péptica é a dor epigástrica, que pode ser acompanhada por eventos dispépticos como plenitude pós-prandial, distensão abdominal, saciedade precoce, náuseas, vômitos e perda de peso, pelo receio em ingerir a comida. Em pacientes com úlcera duodenal, a dor epigástrica ocorre, normalmente, durante o jejum ou à noite e, geralmente, é aliviada pela ingestão de alimentos ou antiácidos. Cerca de um terço dos pacientes também têm azia e a maioria não apresenta esofagite erosiva (MALFERTHEINER; DENT; ZEIJLON, 2002; MALFERTHEINER; CHAN; MCCOLL, 2009; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

A complicação mais frequente e grave da úlcera péptica é o sangramento, o que é relatado em 50-170 para cada 100 mil, com o maior risco em pessoas com idade superior a 60 anos. A perfuração é ainda menos frequente com uma incidência de 7-10 para cada 100 mil. As lesões crônicas podem ser assintomáticas e, em particular, isto é visto nos casos de úlceras ocasionadas por AINEs, nas quais a primeira manifestação clínica é a hemorragia digestiva ou perfuração (GUSTAVSSON, 1992; LONGSTRETH, 1995; GISBERT; PAJARES, 2003; MALFERTHEINER; CHAN; MCCOLL, 2009).

Essa afecção tem etiologia multifatorial, agrupando distúrbios fisiopatológicos, fatores genéticos e ambientais, sendo considerada uma das doenças crônicas mais

comuns nos dias atuais (CRAWFORD; WHITE, 2002; KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005).

Os danos na mucosa gástrica podem se desenvolver a partir de um desequilíbrio entre agentes citodestrutivos endógenos juntamente com os fatores ambientais (secreção de ácido e pepsina, geração de EROs culminando em estresse oxidativo e associados ao consumo de álcool, estilo de vida estressante, terapêutica prolongada com antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs), tabagismo e a presença da bactéria *Helicobacter pylori*,) e os fatores citodefensores do estômago (muco e bicarbonato, fluxo sanguíneo, óxido nítrico (NO), prostaglandinas (PGs), fatores de crescimento e regeneração celular e sistema de defesa antioxidante) (KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005; LIMA et al., 2006; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

O uso abusivo do álcool induz dano intenso à mucosa gástrica por promover distúrbios da microcirculação, isquemia e geração de radicais livres, liberação de endotelina, degranulação de mastócitos com liberação de histamina, aumento dos mediadores IL-1 β e TNF α (KWIECIEN; BRZOZOWSKI; KONTUREK, 2002; BARBASTEFANO et al., 2007), inibição de prostaglandinas e diminuição da produção de muco gástrico (PARK et al., 2004; ARAWWAWALA; THABREW; ARAMBEWELA, 2010). Esse agente químico também aumenta o fluxo de Na⁺ e K⁺ para o lúmen e estimula a secreção de pepsina juntamente com a liberação de histamina (SZABO; BROWN, 1987; MORIMOTO et al., 1991; MORAES et al., 2009). O etanol no organismo é metabolizado à substâncias tóxicas, a exemplo do acetaldeído, ocorrendo a liberação de ânion superóxido e hidroperóxido (UMAMAHESWARI et al., 2007) que afetam a integridade celular, especialmente, devido aos danos mitocondriais que conduzem ao estresse oxidativo (HIROKAWA et al., 1998; JAINU; DEVI, 2006).

O estilo de vida estressante ligado à exposição a situações aversivas ocasiona irritabilidade, ansiedade, impulsividade, dificuldade de concentração, perda ou excesso de apetite, depressão e pânico (MARSOLLA, 2009). A patogênese da lesão da mucosa relacionada ao estresse tem sido associada ao comprometimento de mecanismos protetores da mucosa, como microcirculação e sistema antioxidante, além do aumento da secreção gástrica (LIMA et al., 2008).

Eventos estressantes ocasionam ações sobre a glândula supra-renal, liberando adrenalina e cortisol que por feedback no hipotálamo estimulam o sistema nervoso simpático, ocorrendo a liberação de mais catecolaminas e glicocorticóides. Em decorrência do aumento do cortisol liberado no organismo, observa-se o aumento na secreção de ácido clorídrico e pepsinogênio e diminuição do muco protetor intestinal, já o excesso de adrenalina acarreta vasoconstrição com liberação de EROs, podendo culminar em injúrias gástricas (MARSOLLA, 2009).

As ações dos glicocorticóides na formação da úlcera têm sido estudadas há várias décadas e o relato acima se refere à idéia inicial, no qual os referidos hormônios são caracterizados como prejudiciais para a mucosa gástrica (GRAY; BENSON; REIFENSTEIN, 1951; WEISS, 1971; MURPHY; WIDEMAN; BROWN, 1979; BLACK, 1988; KUWAYAMA; MATSUO; EASTWOOD, 1991; WEUSTEN; JACOBS; BIJLSMA, 1993; CARPANI DE KASKI et al., 1995). Em contraste, outra visão vem se consolidando, na qual um número considerável de investigações demonstram um importante papel gastroprotetor (URUSHIDANI; KASUYA; OKABE, 1979; TAKEUCHI et al., 1989) relacionado tanto aos níveis basais de glicocorticóides endógenos quanto aos estimulados pelo estresse (FILARETOVA, 1990; FILARETOVA; FILARETOV; MAKARA, 1998; FILARETOVA et al., 1999), se contrapondo à ação ulcerogênica de um tratamento prolongado com doses farmacológicas desse hormônio (FILARETOVA; BAGAEVA; MAKARA, 2002). Esses estudos sugerem e são argumentos fortes de que a ativação do eixo Hipotalâmico-Pituitária-Adrenal (HPA) induzida pelo estresse, culminando na liberação de glicocorticóides, constitui um fator citoprotetor (FILARETOVA, 2006).

As mitocôndrias são capazes de armazenar grandes quantidades de cálcio e, ao mesmo tempo são as principais fontes geradoras de radicais livres nas células (MUTHURAMAN; SOOD, 2010). Alguns estudos demonstram que o aumento de cálcio pode estimular a geração de radicais livres, favorecendo o desenvolvimento de úlcera péptica (LUTNICKI et al., 1992; LUTNICKI et al., 2006).

O estresse oxidativo está relacionado com ameaças à função e viabilidade celular, resultando na ativação dos mecanismos de reparo ou apoptose e, às vezes, necrose. O processo de apoptose (morte celular programada) desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das injúrias gástricas (MUTHURAMAN; SOOD, 2010). Assim, entende-se que as úlceras induzidas por estresse envolvem

danos por EROs e alterações de enzimas antioxidantes, além da participação de ácido e pepsina (DAS; BANERJEE, 1993; SAIRAM et al., 2002; SAHIN; GUMUSLU, 2007).

As drogas antiinflamatórias não-esteróides (AINEs) são ácidos orgânicos fracos (pK_a 3-5) que contêm um grupo ácido monocarboxílico em sua estrutura (BJARNASON et al., 2007). Permanecem como terapia de primeira linha para o tratamento da osteoartrose e artrite reumatóide (ABDALLAH, 2010) e são amplamente prescritos para o tratamento da dor, febre, inflamação e trombose (BLANDIZZI et al., 2009). No entanto, seu uso está associado à ocorrência de relevantes efeitos adversos ou toxicidade gastrointestinal, tais como erosões gástricas, ulcerações, hemorragias, perfurações e predisposição a complicações de úlceras pré-existentes (WALLACE, 2001; GRIFFIN; SCHEIMAN, 2001; BLANDIZZI et al., 2009).

As lesões gástricas induzidas pelos AINEs se dão através de duas vias principais: efeitos citotóxicos diretos no epitélio (ação local) e a inibição da atividade das enzimas ciclooxigenases COX-1 e/ou COX-2 (efeito sistêmico) que é o mais relevante no desenvolvimento dessa doença (WALLACE, 2008).

A ação local ocorre devido à presença do grupo carboxílico na estrutura dos AINEs, o qual confere propriedade emulsificante e habilita essas drogas a se associarem quimicamente aos fosfolípidios presentes na membrana, prejudicando as propriedades hidrofóbicas da barreira, a fluidez dos lipídios, a espessura da camada protetora, a resistência à flexão e ocasiona formação de poros. Isso permite a retrodifusão do ácido, levando à morte celular por apoptose e necrose e desenvolvimento de úlceras gástricas (DARLING et al., 2004; LICHTENBERGER et al., 2006).

O efeito sistêmico é decorrente da propriedade dos AINEs em suprimir a síntese de prostaglandinas (AKARCA, 2005; WALLACE, 2008), ocasionar infiltração neutrofílica (WALLACE; KEENAN; GRANGER, 1990; KONTUREK et al., 2002), comprometer o balanço do óxido nítrico (SLOMIANY; PIOTROWSKI; SLOMIANY, 1999a,b; KONTUREK et al., 2002), produzir radicais livres (UTSUMI et al., 2006), que representam um papel proeminente na injúria microvascular (NAITO; YOSHIKAWA, 2006) e morte celular (KUSUHARA et al., 1999; KONTUREK et al., 2002). Diante disso, as propriedades irritantes gastrointestinais dos AINEs devem

constituir o maior entrave à sua utilização como antiinflamatórios (CHIBA et al., 2008).

A nicotina, um alcalóide solúvel em água, é rapidamente absorvida pelo sistema respiratório, trato gastrintestinal, pele e membranas mucosas e, principalmente, metabolizada no fígado (EJAZ; LIM, 2005). Os efeitos nocivos do cigarro sobre a mucosa gástrica são atribuídos aos fatores vasculares (HUI et al., 1991), diminuição da síntese de prostaglandinas (BAUMEISTER et al., 1995; WONG et al., 2002), supressão da liberação de óxido nítrico (MA et al., 1999), redução no conteúdo de muco e dos níveis de glutathione (WONG et al., 2002), aumento no recrutamento de polimorfonucleares (PMN), como neutrófilos, no tecido gástrico (QUI et al., 2004), aumento da concentração de sais biliares, elevação do nível de vasopressina endógena, aumentando a produção de fator ativador de plaquetas e endotelina, e reduzindo o nível de circulação de fator de crescimento epidérmico (MAITY et al., 2003; DENIZ et al., 2009). Além disso, o tabagismo também potencializa as úlceras causadas por álcool, estresse, AINEs e *H. pylori* (MAITY et al., 2003).

A infecção pelo *Helicobacter pylori* possui um papel importante no desenvolvimento de úlceras gástricas (CORREA; HOUGHTON, 2007). O bacilo gram-negativo *H. pylori* que coloniza todo o epitélio gástrico, tem sido associado à úlcera gástrica e duodenal. Foi constatado que a erradicação dessa bactéria está relacionada à cura definitiva da úlcera péptica (MALFERTHEINER; LEODOLTER; PEITZ, 2000; MALFERTHEINER; CHAN; McCOLL, 2009).

Essa bactéria tem alta atividade ureásica, produzindo amônia para se proteger do ambiente gástrico. A produção de amônia pelas bactérias no epitélio e nas glândulas do antro impede a sensibilidade das células D para os verdadeiros níveis de acidez, levando a inapropriada inibição da somatostatina, ao aumento da gastrina e, conseqüentemente, ao excesso da secreção ácida. O efeito trófico de hipergastrinemia induzida por *H. pylori* induz também hiperplasia das células ECL e das células parietais (DIXON, 2000; MALFERTHEINER; CHAN; McCOLL, 2009).

Pacientes com infecção por *H. pylori* têm os níveis de gastrina aumentado, apresentam diminuição da produção de muco gástrico e da secreção de bicarbonato na mucosa duodenal, favorecendo a formação de úlcera péptica (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

H. pylori causa uma resposta inflamatória na mucosa gástrica, com a indução de citocinas (predominantemente interleucina 8 e interleucina 1 β), influxo de neutrófilos e macrófagos na mucosa gástrica, com liberação de enzimas lisossomais, leucotrienos e EROs, além dos efeitos dos fatores de virulência *cagA* e *vacA*, prejudicando a defesa da mucosa e impulsionando o processo imunopatogênico da ulcerogênese (DHAR et al., 2003; STOICOV et al., 2004; MALFERTHEINER; CHAN; McCOLL, 2009).

Recomenda-se que, especialmente, pacientes idosos e/ou com sintomas graves devam ser submetidos à endoscopia, além de ser aconselhada a realização do teste de infecção por *H. pylori*, descontinuação do uso de AINEs, da prática do tabagismo e do consumo de álcool (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

1.5 Epidemiologia

A prevalência de úlcera péptica é estimada em aproximadamente 10% na população mundial (ZAPATA-COLINDRES et al., 2006) acometendo cerca de 14,5 milhões de pessoas (SRIKANTA; SIDDARAJU; DHARMESH, 2007).

Aproximadamente 500 mil pessoas desenvolvem úlcera péptica nos EUA a cada ano. Em 70 % dos pacientes, esta doença surge entre 25 e 64 anos. Os custos diretos e indiretos anuais com os tratamentos estão estimados em cerca de 10 bilhões de dólares (SONNENBERG; EVERHART, 1996; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

Tanto as úlceras duodenais quanto as gástricas acometem mais homens que mulheres. As duodenais numa proporção de 4:1 enquanto que as gástricas, 3,5:1 (MOHAN, 2002; JAIN et al., 2007), sendo a faixa etária de maior incidência de 30-55 anos e de 50-70 anos, respectivamente (ABITOL, 2005).

Essa diferença na incidência das úlceras quanto ao sexo está relacionada, provavelmente, às ações dos esteróides sexuais endógenos (LÁSZLÓ et al., 1997; DRAGO et al., 1999; SZEPEs et al., 1999), pois alguns estudos demonstram que a testosterona endógena parece ter ações danosas significativas para a mucosa gastroduodenal, durante o desenvolvimento de úlceras provocadas por cisteamina ou etanol, por aumentar a expressão de receptores para vasopressina, um agente

vasoconstritor (LÁSZLÓ et al., 1992; LÁSZLÓ et al., 1993; LÁSZLÓ et al., 1997). Já com relação aos esteróides sexuais femininos, a progesterona e o estrógeno apresentam papéis opostos sobre a mucosa gastroduodenal, visto que a progesterona exerce uma ação protetora, por aumentar a espessura da camada de muco e mediar a permeabilidade microvascular no estômago e duodeno (MONTONERI; DRAGO, 1997; LÁSZLÓ et al., 1997; DRAGO et al., 1999), ao passo que o estrógeno/17 β -estradiol tem efeito agressor, (DRAGO et al., 1999; SZEPEŠ et al., 1999; MORSCHL et al., 2000), possivelmente, por levar a inativação de prostaglandinas no estômago (ELEGBE, 1978).

Nos países ocidentais, as úlceras duodenais são mais frequentes, enquanto que nos países orientais há predominância das úlceras gástricas. Estas diferenças são atribuídas à genética e a dieta diferenciada da população. As estratégias terapêuticas, nessas regiões, também divergem: nos países ocidentais, a terapia convencional tem como intenção a erradicação do *H. pylori* enquanto que no oriente, os antagonistas dos receptores H₂ são comumente usados juntamente com os inibidores de bomba de prótons (ROBERTS; McDONALD, 2003; JAIN et al., 2007).

O *H. pylori* e o uso contínuo de AINEs são causas predominantes de úlcera péptica nos Estados Unidos contabilizando 48 % e 24 % dos casos, respectivamente (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

A infecção por *Helicobacter pylori* é superior a 80% em países em desenvolvimento; entretanto, apenas 15% das pessoas infectadas desenvolvem essa afecção (MAJUMDAR et al., 2007). Dessa forma, a erradicação dessa bactéria reduz a recorrência da úlcera de 67 para 6% em pacientes com úlceras duodenais e de 59 para 4% em pacientes com úlceras gástricas (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

Diante disso, observa-se que a incidência das injúrias gástricas está declinando, possivelmente como resultado da redução dos índices de infecção por *H. pylori* e aumento da administração de inibidores de receptores H₂ e de H⁺-K⁺-ATPase (KANG et al., 2002 apud RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

No Brasil, a maioria dos casos relacionados às úlceras são subnotificados, tornando impossível obter dados epidemiológicos confiáveis (MOTA, 2009).

1.6 Terapêutica

O tratamento farmacológico da úlcera péptica está relacionado ao uso de substâncias que neutralizem ou inibam a secreção ácida, reduzam a ação de fatores agressores ou que promovam o estímulo dos mecanismos protetores da mucosa gástrica (AIHARA et al., 2003; UMAMAHESWARI et al., 2007). Assim, vários fármacos foram desenvolvidos, buscando a cura ou alívio dos sintomas, sendo eles: antiácidos, antagonistas dos receptores muscarínicos, antagonistas dos receptores histaminérgicos H_2 , inibidores de bomba de prótons, citoprotetores, além dos fármacos com função de erradicar o *H. pylori* (JAIN et al., 2007) (Figura 4).

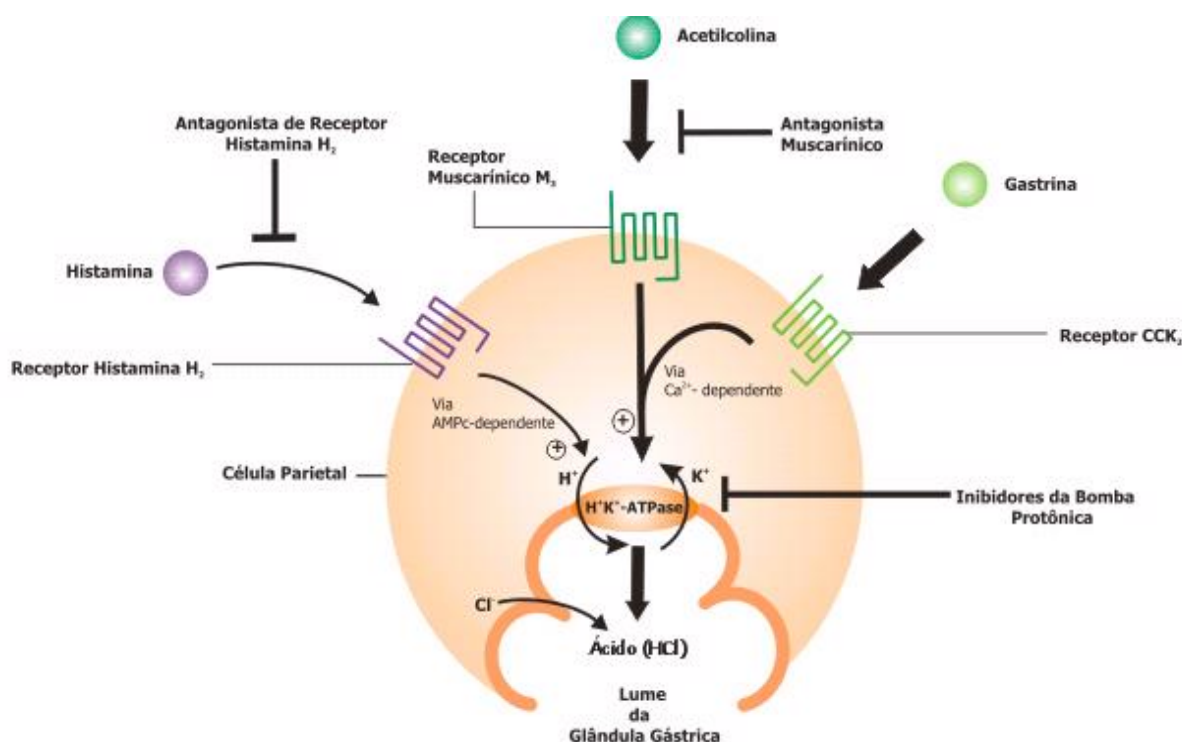


Figura 4 - Alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera péptica. (Fonte: Adaptado de OLBE; CARLSSON; LINDBERG, 2003).

Os antiácidos (bicarbonato de sódio, hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio) foram introduzidos com o objetivo de neutralizar a acidez gástrica reagindo com HCl para formar H_2O e CO_2 . No entanto, agem apenas no alívio dos sintomas e desenvolvem efeitos indesejáveis como flatulência, náuseas, diarreia ou constipação. Devido ao surgimento de fármacos mais eficazes, esta classe tornou-se pouco usual (JAIN et al., 2007; AIHARA, et al., 2003; MÖSSNER; CACA, 2005; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

Na perspectiva de inibir a secreção ácida, surgiram as substâncias anticolinérgicas (pirenzepina e telenzepina), que podem reduzir a produção basal de ácido em cerca de 40-50%, mas, em decorrência de efeitos colaterais como taquicardia, boca seca, visão turva e constipação, o uso delas está cada vez mais restrito (AIHARA et al., 2003; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005; JAIN et al., 2007).

Os antagonistas dos receptores histaminérgicos do tipo H_2 , (cimetidina, ranitidina, famotidina, nizatidina e roxatidina) impedem a interação da histamina com os receptores H_2 , reduzindo o volume do suco gástrico, bem como a concentração de íons H^+ . São drogas consideradas seguras, entretanto, com certa incidência de efeitos adversos como, diarreia, cefaléia, tontura, fadiga, dor muscular, prisão de ventre, náusea, rash cutâneo, efeitos hematológicos e alteração na função do sistema imune. E ainda podem desenvolver ginecomastia em homens e galactorréia em mulheres (AIHARA et al., 2003; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005; JAIN et al., 2007).

Os inibidores da bomba de prótons atuam ligando-se a H^+,K^+ -ATPase na membrana da célula parietal, inibindo a liberação de íons H^+ para o lúmen gástrico. Utilizam-se clinicamente omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol e esomeprazol sendo consideradas as drogas mais prescritas e eficazes no controle da secreção ácida. Alguns dos efeitos adversos incluem náuseas, diarreia, tontura, hipergastrinemia (JAIN et al., 2007; SCHUBERT; PEURA, 2008).

Também têm sido relatados agentes farmacológicos capazes de acentuar os fatores protetores da mucosa, a exemplo do sucralfato (polissacarídeo que estimula a síntese de prostaglandinas, a produção local de fator de crescimento epidérmico e a absorção de pepsina), do misoprostol (análogo das prostaglandinas que atua inibindo a secreção de ácido, aumentando o fluxo sanguíneo e a secreção de muco e de bicarbonato, mas ocasiona diarreias, cólicas abdominais e abortos) e da carbenoxolona (um derivado do ácido glicirrízico, agindo modificando a composição e quantidade de muco gástrico, mas devido aos efeitos adversos como hipertensão e retenção de líquidos, é atualmente utilizada como ferramenta farmacológica) (BRUNTON, 2001; MÖSSNER; CACA, 2005; ALTMAN, 2005; JAIN et al., 2007).

Terapias que envolvem a associação de antimicrobianos com drogas antissecretórias são usadas com sucesso no tratamento de úlceras pépticas

associadas à infecções por *H. pylori*. Terapia tripla com metronidazol, compostos bismúticos e tetraciclina ou amoxicilina durante duas semanas é recomendado em infecções por essa bactéria. Entretanto, observa-se que náuseas, diarreia e tonturas constituem limitações a esta terapêutica (JAIN et al., 2007; MAJUMDAR; BEBB; ATHERTON, 2007).

A terapêutica da úlcera tem apresentado grandes avanços, havendo relatos de que a taxa de cura está em torno de 95% nos dias atuais (FAN et al., 2005), estando associada a introdução dos antagonistas dos receptores H_2 e aos inibidores de H^+, K^+ -ATPase (ORLANDO; LENARD; ORLANDO, 2007). No entanto, os sérios efeitos colaterais desenvolvidos pelo uso desses medicamentos, bem como a elevada taxa de recidiva da doença, demonstram uma ineficiência desses fármacos, sendo necessária a busca por agentes antiulcerogênicos que sejam menos tóxicos e mais eficazes (ORLANDO; LENARD; ORLANDO, 2007; MASSIGNANI et al., 2009).

É nesse contexto que as plantas medicinais têm sido utilizadas como matéria-prima para a síntese de substâncias ativas, representando, assim, uma importante e promissora fonte de novos agentes terapêuticos (ANDREO et al., 2006).

1.7 Plantas Medicinais

O emprego de plantas medicinais, como medicamento, tem uma grande importância na terapêutica (KINGHORN, 2002). Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80 % da população mundial fazem uso delas no tratamento de suas afecções, a maioria nos países em desenvolvimento, (GURIB FAKIM, 2006), podendo ser utilizadas ainda na preparação de fitomedicamentos (RATES, 2001), além da possibilidade do isolamento de substâncias bioativas destinadas a síntese de novos fármacos (CECHINEL-FILHO; YUNES, 2001).

A crescente busca por agentes terapêuticos derivados de espécies vegetais justifica-se pelo surgimento de doenças ainda sem tratamento apropriado, pelo crescimento do conhecimento científico a respeito dos fitoterápicos, como importantes alternativas terapêuticas (GUARRERA, 2005) e pela falta de acesso à medicina moderna por grande parte da população brasileira, constituindo, dessa

maneira, uma alternativa para os medicamentos mais dispendiosos (LIMA et al., 2006).

A pesquisa envolvendo plantas medicinais é complexa e apresenta um caráter multidisciplinar, envolvendo as áreas da botânica, química, farmacologia e toxicologia, principalmente quando o objetivo é encontrar substâncias ativas úteis à terapêutica (SOUZA-BRITO, 1996; RATES, 2001).

Segundo Holetz et al. (2002), a escolha com base no conhecimento popular (etnofarmacologia) seria óbvia, devido ao acúmulo milenar das informações. Porém, a seleção com base nos constituintes químicos (quimiotaxonômicos) presentes em um dado gênero ou família torna-se interessante, principalmente pela possibilidade de se encontrar quantidades elevadas de compostos ativos.

No Brasil, as espécies nativas mais citadas como de uso popular estão representadas nas famílias Bignoniaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Leguminosae, Annonaceae, Apocynaceae, Lamiaceae e Euphorbiaceae (BRANDÃO et al., 2006), cujas várias espécies já tiveram sua atividade antiulcerogênica comprovada cientificamente.

1.7.1 Plantas com Atividade Antiulcerogênica

Na flora mundial um grande número de espécies são usadas na medicina popular para o tratamento de distúrbios gastrintestinais (CORRÊA, 1984), a exemplo da *Momordica charantia* (GURBUS et al., 2000), *Matricharia recutita*, *Melissa officinalis*, *Mentha piperita*, *Silybum marianum* (KHAYYAL et al., 2001), *Brassica oleracea*, *Maytenus aquifolium*, *Symphytum officinalis*, *Sorocea blomplandii*, *Zolernia ilicifolia* (ALONSO, 1998) que são utilizadas no tratamento da úlcera gástrica por reduzirem a secreção ácida, aumentarem a secreção de mucina, além da produção de PGE2 e diminuição de leucotrienos (REPETTO; LLESUY, 2002); *Humulus lupulus*, que atua assemelhando-se ao bicarbonato de sódio na diminuição da acidez. Já as raízes e rizomas da *Glycyrrhiza glabra* e inflorescências da *Chamomilla recutita* são usadas nas inflamações estomacais como fortalecedoras da barreira da mucosa gástrica (LEWIS; HANSON, 1991; BRUNTON, 1996; BROWN; DATTNER, 1998); *Bidens pilosa* apresenta atividade antissecretória (ALVAREZ, et al., 1999); *Kaempferia parviflora*, relacionada com a capacidade de

manutenção da secreção de muco (RUJJANAWATE et al., 2005); e, ainda, *Cissus quadrangularis*, que possui ação antioxidante além de suprimir citocinas pró-inflamatórias (JAINU; DEVI, 2006).

No Brasil, várias plantas tiveram a sua atividade antiulcerogênica comprovada, dentre elas: *Baccharis illinita* (BAGGIO et al., 2003), *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira (BATISTA et al., 2004), *Byrsonima crassa* (SANNOMIYA et al., 2005), *Alchornea castaneaefolia* (HIRUMA-LIMA et al., 2006a), *Qualea grandiflora* (HIRUMA-LIMA et al., 2006b), *Pradosia huberi* (KUSHIMA et al., 2005), *Syngonanthus bisulcatus* (COELHO et al., 2006), *Praxelis clematidea* (FALCÃO, 2007), *Hancornia speciosa* (MORAES et al., 2008), *Herissantia crispa* (LIMA, 2008), *Maytenus rígida* (SANTOS, 2008), *Byrsonima fagifolia* (LIMA et al., 2008), *Virola surinamensis* (HIRUMA-LIMA et al., 2009), *Maytenus obtusifolia* (MOTA, 2009), etc. Essa atividade farmacológica pode ser atribuída aos diversos metabólitos secundários, podendo-se citar os alcalóides, compostos polifenólicos e terpenóides (sesquiterpenos, triterpenos e diterpenos) (BORRELLI; IZZO, 2000).

1.7.2 Família Annonaceae e Gênero *Xylopia*

A família Annonaceae pertencente à ordem Magnoliales (CRONQUIST, 1981), apresenta 2.300 espécies, distribuídas em aproximadamente 130 gêneros (MAAS et al., 2001). As plantas dessa família são arbóreas, sendo as trepadeiras também muito freqüentes (HEGNAUER, 1964).

No Brasil, a Annonaceae possui 26 gêneros e 260 espécies (MAAS et al., 2001), dentre os quais se inclui o gênero *Xylopia* que possui aproximadamente 160 espécies (TAKAHASHI; VIEIRA; BOAVENTURA, 2001). Na Paraíba há 7 gêneros de Annonaceae e 12 espécies de *Xylopia* (PONTES et al., 2004).

Essa família é conhecida principalmente por seus frutos comestíveis, tais como a pinha, fruta do conde ou ata (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.), por suas sementes serem fontes de óleos fixos utilizados como comestíveis ou para o preparo de sabão. Outras espécies têm sido empregadas na produção de álcool, na perfumaria e na medicina popular para vários propósitos (LEBOEUF et al., 1982).

Um grande número de componentes químicos tem sido isolado do gênero *Xylopia*, incluindo acetogeninas (ALFONSO et al., 1996), consideradas muito importantes devido aos seus efeitos citotóxico, antimicrobiano e inseticida (RUPRECHT et al., 1990), dentre elas a xylopiena e xylomatenina com atividade citotóxica superior a adramicina para três linhagens de células tumorais (COLMAN-SAZARITORIA et al., 1994), diterpenos do tipo caurano e labdano (VILEGAS et al., 1991; MARTINS et al., 1999; MELO et al., 2001; ANDRADE et al., 2004), sesquiterpenos (MOREIRA et al., 2007; MARTINS et al., 1998), alcalóides (MARTINS et al., 1998; HARRIGAN et al., 1994), lignóides (WAHL et al., 1995) e flavonóides (SANTOS; SALATINO, 2000).

Os diterpenos são substâncias comuns ao gênero *Xylopia*, passando a caracterizá-lo, bem como às suas espécies (VILEGAS et al., 1991) e se tornaram potencialmente importantes como marcadores quimiotaxonômicos.

Na literatura há alguns relatos do uso de espécies do gênero *Xylopia* na medicina tradicional. Os frutos de *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich são usados para tratar transtornos estomacais, biliares, disenteria, bronquite, possuindo também efeitos carminativo e tônico pós-parto (IWU, 1994). As sementes de *Xylopia frutescens* Aubl. (Annonaceae) são usadas no Brasil como antimicrobiano e anti-reumático. O ácido caurenóico (diterpeno tipo caurano), abundante nas sementes dessa espécie apresentou atividade antiprotozoária frente ao *Trypanosoma cruzi* e ao *Plasmodium falciparum*, justificando seu uso na medicina popular (JENETT-SIEMS et al., 1999; MELO et al., 2001). Osorio e colaboradores (2007) demonstraram que *X. aromática* (Lam) apresenta atividades leishmanicida e trypanossomicida.

1.7.3 *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul.

Xylopia langsdorffiana A. St.-Hil. & Tul. (Figura 5) é uma árvore que mede entre 5 e 7 metros de altura (MAAS et al., 2001), e é popularmente conhecida como “pimenteira-da-terra” (CORRÊA, 1984). Um estudo prévio realizado com o caule dessa espécie mostrou o isolamento de alcalóides, todos derivados do núcleo isoquinolínico (TAVARES, 2004).



Figura 5 - Fotos de *Xylopia langsdorffiana*. Árvore completa e detalhe das folhas (Fernando A. C. Viana).

O estudo fitoquímico realizado com o extrato hexânico das folhas de *Xylopia langsdorffiana* levou ao isolamento de duas substâncias, o ácido 8(17),12E,14-labdatrien-18-óico (labdano 302) (ANDRADE et al., 2002; TAVARES et al., 2007a) e do diterpeno atisano ent-atisano-7 α ,16 α diol, o qual foi dado o nome usual de xylodiol (TAVARES et al., 2007a). A partir do extrato hexânico do caule de *X. langsdorffiana* foram isolados dois novos diterpenos: o ácido ent-7 α -acetoxitrachylobano-18-óico (trachylobano-360) e o ácido ent- α -hidroxitrachylobano-18-óico (trachylobano-318) (TAVARES et al., 2006).

Em se tratando dos relatos sobre atividades farmacológicas conferidas aos diterpenos existentes na espécie *Xylopia langsdorffiana* tem-se que o labdano 302 apresentou efeito relaxante em traquéia de cobaia e aorta isolada de rato, bem como atividade espasmolítica em íleo de cobaia e em útero de rata (RIBEIRO, 2003), sendo esta última ação por modulação positiva dos canais para potássio (SKCa) e de fosfodiesterases (TRAVASSOS, 2010). Exibiu, ainda, atividade hipotensora em

ratos normotensos não anestesiados, mediada por diminuição da resistência vascular envolvendo a enzima NOS e ciclooxygenase endotelial, além de vasorelaxamento dependente e independente do endotélio vascular (OLIVEIRA et al., 2006; OLIVEIRA, 2004).

O xylodiol e o trachylobano 360 exibiram uma potente atividade citotóxica para células tumorais e fraca citotoxicidade frente à fibroblastos V79 e hepatócitos (células não tumorais) (TAVARES et al., 2006); além de inibir o crescimento, induzir diferenciação em células leucêmicas HL60 e K526 (CASTELLO-BRANCO et al., 2009) e exibir atividade antitumoral in vivo sem sinais de toxicidade e in vitro em células de sarcoma 180, este último resultado também observado para o trachylobano 318 (PITA, 2010). Já o óleo essencial das folhas de *X. langsdorffiana* apresentou atividade moluscicida (TAVARES et al., 2007b).

1.7.4 Diterpenos Bioativos

Os terpenos, derivados biossinteticamente de unidades de isopreno (C_5H_8) são um dos maiores grupos de metabólitos secundários com papéis importantes em processos fisiológicos e patológicos. São classificados de acordo com a quantidade de unidades isoprênicas, sendo assim, chamados: monoterpenos (C_5H_8)₂, sesquiterpenos (C_5H_8)₃, diterpenos (C_5H_8)₄, triterpenos (C_5H_8)₅ e tetraterpenos (C_5H_8)₆ (DEWICK, 2002; BREITMAIER, 2006).

Diterpenos como os ácidos caurenóico, diidro-caurenóico e xylópico isolados de *Xylopia aethiopica* e *Alepidea amatymbica* têm demonstrado atividade cardiovascular e diurética em ratos (SOMOVA et al., 2001). Os do tipo labdano têm apresentado atividades antiinflamatória (DE LAS HERAS et al., 1994); citotóxica, citostática e antineoplásica (DIMAS et al., 1999; TANAKA et al., 2000; DIMAS et al., 2001; KO et al., 2001; ROENGSUMRAN et al., 2001), antiespasmódica uterina (VEDERNIKOV et al., 2000); anti-hipertensiva (TANDON et al., 1992) e vasorelaxante (LINCOLN; FISHER-SIMPSON, 1983; LINDGREN; ANDERSSON, 1991). O ácido ent-15alfa-acetoxicaur-16-en-19-óico (CA-acetoxi), um diterpeno caurano isolado de *Guatteria juruensis* Diels (Annonaceae), apresentou efeito hipotensor e bradicárdico parecendo envolver a participação da via NO-GMPc (RIBEIRO, 2005).

Nos últimos anos vários terpenos contidos em extratos de plantas medicinais, têm sido descritos como gastroprotetores (GIORDANO et al., 1990; LEWIS; HANSON, 1991; MATSUDA et al., 1998; RODRÍGUEZ et al., 2002; SEPÚLVEDA et al., 2005; ARRIETA et al., 2003; SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005; MORIKAWA et al., 2006), apresentando potente atividade em diferentes modelos de indução de lesões gástricas, em animais (SOUZA-BRITO et al., 1998; MATSUDA et al., 2002; MELO et al., 2003) e promovendo a cicatrização de injúrias crônicas em ratos (RODRÍGUEZ et al., 2003).

Diterpenos dos tipos labdano ou abietano isolados de espécies do gênero *Plectranthus* ou de outras plantas como a *Croton cajucara* têm apresentado significativa atividade gastroprotetora, em modelos animais (HIRUMA-LIMA et al., 1999; SCHMEDA-HIRSCHMANN; RODRÍGUEZ; ASTUDILLO, 2002; RODRÍGUEZ et al., 2005; RODRÍGUEZ et al., 2006; SCHULTZ et al., 2007). Foi relatado que o diterpeno labdano solidagenona e seus produtos semi-sintéticos reduziram significativamente as lesões gástricas produzidas por etanol acidificado na dose de 100 mg/kg (SCHMEDA-HIRSCHMANN; RODRÍGUEZ; ASTUDILLO, 2002). Comparativamente, diterpenos quinonóides da espécie *Plectranthus grandis* demonstraram maior eficácia, proporcionando gastroproteção em doses extremamente pequenas (5 e 10 mg/kg) (ARAÚJO-RODRIGUES et al., 2010).

Diante dessas premissas, o presente estudo é de grande relevância, uma vez que busca investigar a atividade gastroprotetora de *X. langsdorffiana*, levando em consideração o ineditismo do estudo dessa espécie vegetal frente à atividade farmacológica relatada e da necessidade de investigar novas alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera gástrica.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato etanólico bruto (EEtOH) e da fase hexânica (FaHex) obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. em modelos animais que mimetizam a úlcera no homem, contribuindo para um melhor entendimento da fisiopatologia da injúria gástrica, bem como, investigar drogas com maior potencial terapêutico ou que sirvam como ferramenta farmacológica.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a Concentração Letal 50% (CL50) do EEtOH obtido das folhas de *Xylopia langsdorffiana* através do bioensaio com *Artemia salina* Leach;
- Executar uma triagem farmacológica comportamental e determinar a Dose Letal 50 % do EEtOH;
- Avaliar, através de triagem farmacológica, o efeito gastroprotetor do EEtOH frente ao agente lesivo HCl/etanol;
- Avaliar a atividade gastroprotetora do EEtOH e da FaHex em modelos clássicos de indução aguda de úlceras;
- Investigar o efeito do EEtOH e da FaHex sobre os parâmetros bioquímicos da secreção gástrica (pH, concentração de íons H⁺, volume de suco gástrico);
- Elucidar os possíveis mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor da *Xylopia langsdorffiana*;
- Avaliar a atividade cicatrizante do EEtOH e da FaHex em modelo crônico de úlcera gástrica;
- Investigar a toxicidade do EEtOH e da FaHex após 14 dias de tratamento da úlcera induzida por ácido acético, através dos parâmetros: consumo de água e ração, peso corpóreo, peso dos órgãos e análises bioquímicas e hematológicas.

Material e Métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Local da Pesquisa

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ensaio Toxicológicos (LABETOX) do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF) da Universidade Federal da Paraíba no período de março/2009 a dezembro/2010.

3.1.2 Material Botânico

O material vegetal utilizado nos experimentos de toxicidade aguda e investigação da atividade antiulcerogênica em animais foram obtidos das folhas da espécie *Xylopia langsdorffiana* A. St. Hil. & Tul. coletadas no município de Cruz do Espírito Santo, Estado da Paraíba, em Julho de 2002. Esta espécie foi identificada pela Dra. Maria de Fátima Agra e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) da UFPB, sob código de identificação M. F. Agra et al., 5541.

O extrato etanólico bruto (EEtOH) e a fase hexânica (FaHex) obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. foram fornecidos pelo colaborador da fitoquímica, Prof. Dr. Josean Fechine Tavares e sua equipe, todos do LTF/UFPB.

3.1.3 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto e da Fase Hexânica de *Xylopia langsdorffiana*

O material vegetal seco e pulverizado das folhas de *Xylopia langsdorffiana* (4000 g) foi submetido à maceração exaustiva com etanol (EtOH) a 95 %, resultando numa solução etanólica, a qual foi filtrada e concentrada em um rotaevaporador, obtendo-se o extrato etanólico bruto (EEtOH) – 300 g.

O EEtOH (100 g) foi submetido a uma partição líquido-líquido utilizando seguidamente os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e n butanol, para

obtenção das fases hexânica (15,79 g), clorofórmica, acetato de etila e n-butanólica, respectivamente (Figura 6).

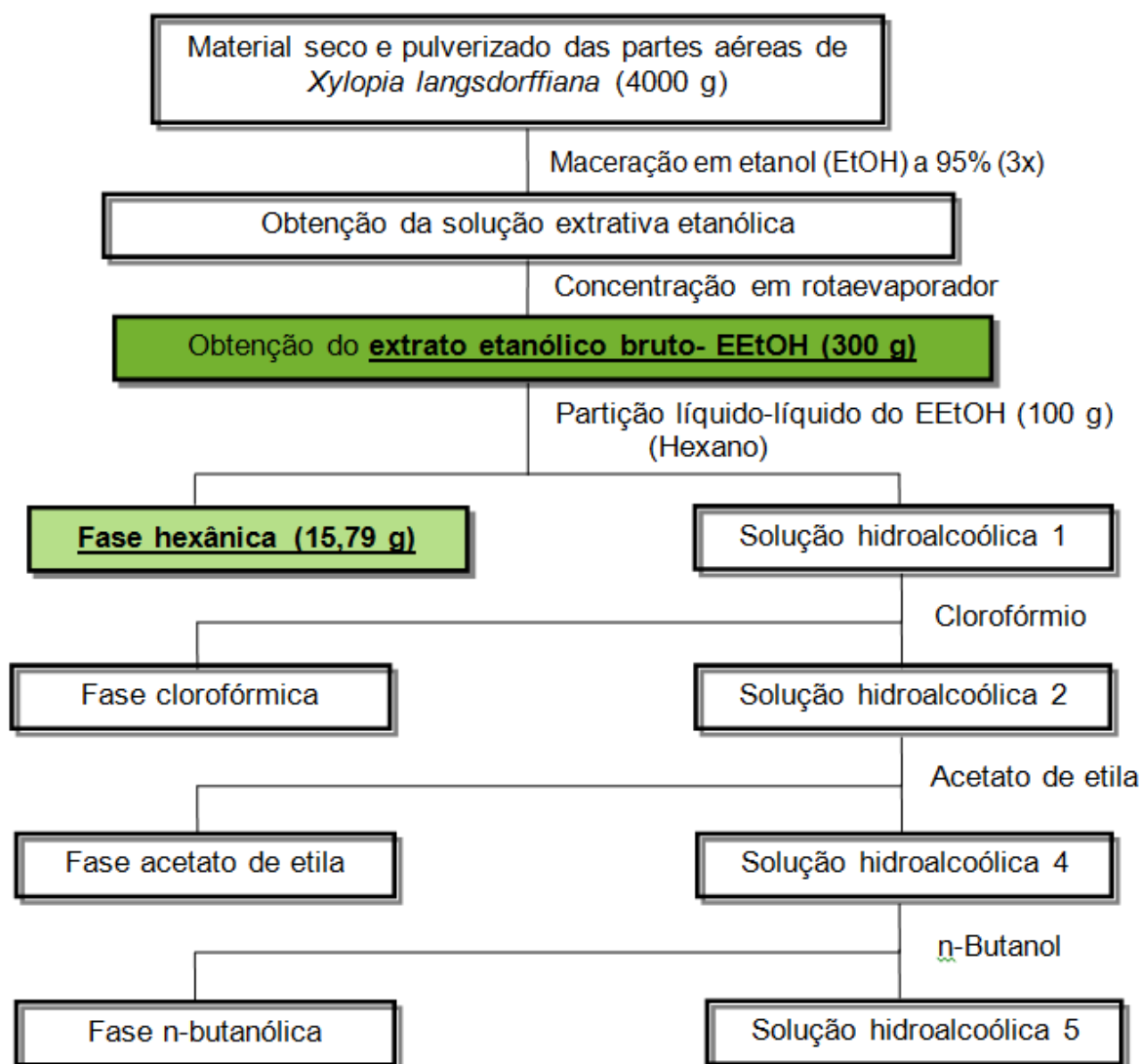


Figura 6 - Marcha fitoquímica para obtenção do EEtOH e da FaHex das folhas de *Xylopia langsdorffiana*. (Realizada pelo grupo de pesquisa do professor Dr. Josean Fachine Tavares/LTF/UFPB).

3.1.4 Animais

Para a determinação da concentração letal 50% (CL50) foram usados cistos de *Artemia salina* L., provenientes do LABETOX/LTF/UFPB guardados sob resfriamento de 4° C até a execução do experimento.

Os animais utilizados nos modelos experimentais de toxicidade aguda e investigação da atividade antiulcerogênica de *Xylopia langsdorffiana* foram camundongos (*Mus musculus*) albinos machos e fêmeas, linhagem Swiss pesando

entre 25-35 g (Figura 7A) e ratos (*Rattus norvegicus*) albinos machos, linhagem Wistar pesando entre 180-250 g (Figura 7B), procedentes do Biotério “Prof. Thomas George” do LTF/UFPB. Os animais foram aclimatados às condições do biotério local, por cerca de sete dias, antes dos ensaios experimentais, sob temperatura (23 ± 20 C) e ciclos claro escuro controlado de 12 horas. Os animais foram alimentados com ração Purina tipo pellets e água ad libitum.

Para a realização dos experimentos, os animais foram submetidos a um jejum (12-36h) que variou de acordo com o preconizado nas metodologias empregadas. Os animais (n = 5-9) foram distribuídos em grupos controle negativo (solução tween 80 12%), controle positivo (droga de referência ou ferramenta farmacológica) e amostra vegetal (EEtOH e FaHex).

Todos os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, seguindo os princípios internacionais para o estudo com animais de laboratório (ZIMMERNANN, 1983) e quando necessário de acordo com o protocolo experimental, foram anestesiados com cloridrato de quetamina 5% (anestésico) e cloridrato de xilazina 2 % (relaxante muscular), no intuito de diminuir a dor e o sofrimento.

Para a realização do presente trabalho, todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEPA/LTF/UFPB com o registro nº 0106/09 (ANEXO 1).

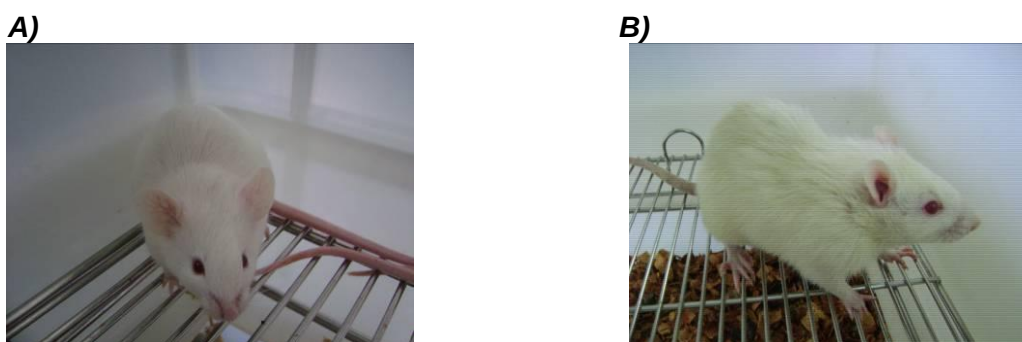


Figura 7 - Animais utilizados: (A) camundongo Swiss (*Mus musculus*) e (B) rato Wistar (*Rattus norvegicus*). Foto: Arquivo do Laboratório de Farmacologia do TGI, 2008.

3.1.5 Drogas Utilizadas

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizadas as seguintes drogas: carbenoxolona (SIGMA Chemical Co, U.S.A), cimetidina (SIGMA Chemical Co, U.S.A), piroxicam 20 mg (HEXAL, Brasil), N-etilmaleimida (SIGMA Chemical Co, U.S.A), N-nitro-L-arginina-metil-éster (SIGMA Chemical Co, U.S.A), cloreto de sódio P.A. (QUIMEX-MERCK, Brasil), hidróxido de sódio (QUIMEX-MERCK, Brasil), fenoftaleína (RIEDEL-DE HAËN, Germany), tween 80 (MERCK, Germany), etanol (MERCK, Germany) e alcian Blue (SIGMA Chemical Co, U.S.A), ácido acético (SYNTH), ácido clorídrico (MERCK, Germany), ketamina 5% (VETANARCOL), xilazina 2 % (DORCIPEC), cloreto de magnésio (MERCK) e sacarose (SIGMA Chemical Co, U. S. A).

O EEtOH e a FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* foram solubilizados em solução tween 80 12%. As substâncias utilizadas como controle positivo, carbenoxolona e cimetidina, assim como os bloqueadores do óxido nítrico e grupamentos sulfidrílicos, N-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) e o N-etilmaleimida (NEM), respectivamente, foram solubilizadas em solução salina 0,9%.

3.2 Métodos

3.2.1 Ensaios Toxicológicos de *Xylopiia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul.

3.2.1.1 Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀) (MEYER et al., 1982; NASCIMENTO; ARAÚJO, 1999)

A toxicidade do extrato etanólico de *Xylopiia langsdorffiana* foi avaliada utilizando-se o teste de letalidade com *Artemia salina*. Os cistos de *A. salina* (San Francisco Bay Brand®, EUA) foram armazenados sob resfriamento a 4 °C até a execução do experimento. Foram utilizadas larvas de *Artemia salina* L. (*Brine shrimp* Test), microcrustáceo da classe Anostracea, na forma de náuplio, utilizando-se a Concentração Letal Média (CL₅₀) como parâmetro de avaliação da atividade biológica.

Em um recipiente retangular de vidro com uma divisória contendo furos de aproximadamente 0,02 cm de espessura e distribuídos uniformemente, foi adicionada água salina artificial preparada pela solubilização de 38 g de sal marinho (Marinex®) em 1 litro de água destilada. Cistos de *Artemia salina* foram incubados durante 24 horas (22 - 29 °C) em um dos lados do recipiente que permaneceu sob iluminação. A parte do sistema contendo os cistos foi coberta com papel alumínio, para que as larvas, após a eclosão dos cistos, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, sendo coletadas com auxílio de uma pipeta de Pasteur.

O extrato foi solubilizado em DMSO (4%) e água salina artificial, a fim de se obter uma solução-mãe de 10 mg/mL. A partir desta, foram efetuadas diluições para concentrações inferiores de 0 - 1000 µg/mL. Foram colocados 5 mL de cada uma dessas soluções em tubos de ensaio aos quais foram adicionados 10 náuplios. Cada concentração foi testada em triplicata e repetida em pelo menos três experimentos. Um grupo controle foi preparado contendo apenas os solventes e as larvas. O conjunto permaneceu em incubação sob luz artificial por 24 h e então foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas, para posterior determinação da CL50.

3.2.1.2 Triagem comportamental e determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀) (ALMEIDA et al., 1999)

Este protocolo experimental foi realizado objetivando a avaliação das alterações comportamentais frente ao SNC e SNA (ANEXO 2), o consumo de água e ração, a avaliação dos órgãos alvos e índice de letalidade (DL₅₀). Para isso foram utilizados camundongos albinos machos e fêmeas da linhagem Swiss pesando entre 25-35 g. Os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas, em seguida divididos em 4 grupos, 2 grupos animais de machos e 2 grupos de animais fêmeas. Cada grupo recebeu o veículo tween 80 12% (10 ml/Kg) que foi considerado controle negativo ou o EEtOH de *Xylopija langsdorffiana* na dose de 2000 mg/kg, por via oral (gavagem).

Os animais foram observados durante 72 horas para verificar a ocorrência de morte, informação, esta, utilizada para determinação da DL₅₀.

Durante o intervalo de 1 a 14 dias após a administração oral do EEtOH-XI (2000 mg/Kg), foi mensurado como parâmetro ingestão de água e ração pelos animais.

A pesagem dos camundongos foi realizada antes da administração do EEtOH e no 14º dia após o tratamento. Ao término desse período os animais foram eutanasiados e seus órgãos (coração, fígado, baço e rins) pesados e examinados macroscopicamente.

3.2.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de *Xylopi* *langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul.

Para avaliar se o EEtOH obtido de *Xylopi* *langsdorffiana* apresenta atividade gastroprotetora, inicialmente foi realizada uma triagem farmacológica com diferentes doses usando o modelo de indução aguda de úlcera tendo como agente lesivo etanol acidificado.

Na avaliação da atividade antiulcerogênica do EEtOH-XI e FaHex-XI foram utilizados modelos experimentais de indução aguda de úlceras gástricas (etanol absoluto, estresse por imobilização e frio, AINEs (piroxicam) e contensão de suco gástrico, os quais garantem reprodutibilidade e mimetizam as causas da úlcera gástrica no homem.

Para corroborar os resultados obtidos nesses estudos, foi realizada a avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico (volume do suco gástrico, pH e concentração de íons H⁺) utilizando o modelo de ligadura de piloro.

Uma vez constatado o efeito gastroprotetor do EEtOH-XI e da FaHex-XI, partiu-se para a elucidação dos possíveis mecanismos de ação envolvidos nessa atividade farmacológica, avaliando a participação dos grupamentos sulfidrílicos, do óxido nítrico e do muco.

Por fim, verificou-se a atividade cicatrizante das amostras vegetais de *Xylopi* *langsdorffiana* no modelo de indução de úlcera por ácido acético.

Os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e o estômago aberto ao longo da grande curvatura, as lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa OLYMPUS Optical TL3 – SZ40 e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU) (Figura 8), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI; THIEMER, 1978):

Nível 1: pontos hemorrágicos e ulcerações até 1mm;

Nível 2: ulcerações com 2 mm;

Nível 3: ulcerações profundas a partir de 3 mm.

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

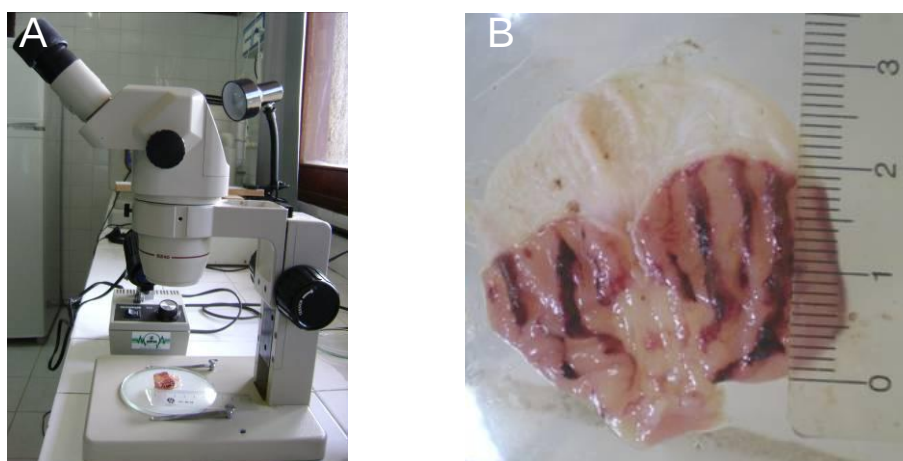


Figura 8 - (A) lupa OLYMPUS Optical TL3 – SZ40 e (B) estômago de rato ulcerado com etanol absoluto (→), para determinação do ILU (Foto: Arquivo do grupo de farmacologia do TGI).

3.2.2.1 Modelos de indução aguda de úlcera gástrica

3.2.2.1.1 Úlcera gástrica induzida por HCl/Etanol (Triagem farmacológica) (MIZUI; DOTEUCHI, 1983, modificado)

Os camundongos (n=6-7) foram submetidos a um jejum de 24 horas, divididos em grupos, em seguida pré-tratados oralmente com carbenoxolona (100 mg/Kg), para o controle positivo, veículo tween 80 12% (10 mL/Kg) para controle negativo e EEtOH obtido das folhas de *Xylopia langsdorffiana* nas doses 62,5, 125, 250 e 500

mg/kg. Após 50 min foi administrada solução do agente lesivo 0,3M HCl/Etanol 60% - 0,2 mL, por via oral e uma hora após, os camundongos foram eutanasiados, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.2.2.1.2 Úlceras gástricas induzidas por etanol (MORIMOTO et al., 1991, modificado)

Os ratos (n=5-7) foram submetidos a um jejum inicial de 24 horas, posteriormente, pré-tratados por via oral com carbenoxolona 100 mg/Kg (controle positivo), veículo tween 80 12% (controle negativo) e EEtOH ou FaHex obtidos das folhas de *Xylopija langsdorffiana* nas doses 62,5, 125, 250 e 500 mg/kg. Após 1 hora, foi administrado 4mL/Kg de etanol absoluto (agente lesivo) aos animais por via oral. Decorrida 1 hora dessa administração, os ratos foram eutanasiados por deslocamento cervical, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.2.2.1.3 Úlceras gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio) (LEVINE et al., 1971, com modificações)

Os camundongos (n=5-7) submetidos a um jejum de 24 horas, foram pré-tratados, por via oral, com cimetidina 100 mg/Kg (controle positivo), veículo tween 80 12% (controle negativo) e EEtOH ou FaHex obtidos das folhas de *Xylopija langsdorffiana* nas doses 62,5, 125, 250 e 500 mg/kg. Trinta minutos após a administração dos diferentes tratamentos, os animais foram imobilizados pelas patas dianteiras e traseiras, colocados em contêntores de policloreto de vinila (PVC) (9 cm de comprimento x 3,5 cm de diâmetro) e submetidos a uma temperatura de 4° C ($\pm$ 1°C) por um período de 3 horas para indução das úlceras gástricas. Decorrido esse tempo, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, os estômagos

retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.2.2.1.4 Úlceras gástricas induzidas por Antiinflamatório-não-esteroidal (Piroxicam) (PUSCAS et al., 1997, com modificações)

Para realização deste protocolo experimental, camundongos (n=5-7) foram submetidos a um jejum de 24 horas, posteriormente pré-tratados, por via oral, com cimetidina 100 mg/Kg, antagonista dos receptores H₂ (controle positivo), veículo tween 80 12% (10 mL/Kg) (controle negativo) e EEtOH ou FaHex obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* nas doses 62,5, 125, 250 e 500 mg/kg. Decorridos 30 min do pré-tratamento, os animais receberam piroxicam 30 mg/Kg (agente lesivo) por via subcutânea (s.c.) e 4 horas após essa administração, os camundongos foram eutanasiados, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.2.2.1.5 Indução da úlcera gástrica por contensão do suco gástrico (SHAY et al., 1945, com modificações)

Após jejum de 36 horas, os ratos (n = 6-7) foram anestesiados com cloridrato de quetamina 5 % (relaxante muscular) e cloridrato de xilazina 2 % (anestésico) e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo da apófise xifóide para ligadura (amarração) do piloro. Em seguida foi realizada a administração intraduodenal (i.d.) das substâncias: cimetidina 100 mg/Kg (controle positivo), tween 80 12 % (10 ml/Kg) (controle negativo) e com a melhor dose do EEtOH ou da FaHex. Quando a via de administração foi a oral, o tratamento ocorreu 30 min antes da ligadura do piloro. Logo após esse procedimento cirúrgico, as incisões dos animais foram suturadas e decorridas quatro horas após a ligadura, os ratos foram eutanasiados, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do índice de lesão ulcerativo (ILU) (SZELENYI; THIEMER, 1978).

3.2.2.1.6 Avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico após ligadura do piloro (v.o. e i.d.) (SHAY et al., 1945, modificado)

Após o jejum 36 horas, os ratos (n=5-7) foram anestesiados com cloridrato de xilazina 2 % (relaxante muscular) e cloridrato de quetamina 5% (anestésico) e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo da apófise xifóide para ligadura (amarração) do piloro. Em seguida, foi realizada a administração intraduodenal (i.d.) das substâncias: cimetidina 100 mg/Kg (controle positivo), tween 80 12% (controle negativo) e a melhor dose do EEtOH ou da FaHex. Quando a via de administração foi a oral, o tratamento ocorreu 30 min antes da ligadura do piloro. Logo após esse procedimento cirúrgico, as incisões dos animais foram suturadas e decorridas quatro horas após a ligadura, os ratos foram eutanasiados por deslocamento cervical, as incisões reabertas e os estômagos retirados para que fosse coletado o conteúdo com a finalidade de se determinar os parâmetros bioquímicos do suco gástrico: volume, pH e concentração de íons hidrogênio na secreção gástrica, de acordo com o estabelecido pela metodologia citada.

O conteúdo do estômago foi pesado e, em seguida, calculado o volume do suco gástrico expresso em g/4h. O pH foi verificado com o auxílio de um pHmetro digital PG 2000 (GEHAKA, Brasil) após centrifugação do conteúdo estomacal a 3000 rpm por 10 minutos e expresso em unidades. Em seguida, foram retirados 10mL do sobrenadante e distribuídos em alíquotas de 5mL em 2 erlenmeyer para que fosse prosseguida a titulação do suco gástrico e determinada a concentração de H⁺ expressa em mEq/mL/4h. A titulação foi realizada utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N e fenolftaleína, uma solução indicadora, com auxílio de uma bureta digital Solarus® (HIRSHMANN LABORGERATE, U.S.A.).

3.2.3 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de *Xylopija langsdorffiana*

3.2.3.1 Determinação da concentração de muco aderido à parede gástrica (RAFFATULLAH et al., 1990, modificado)

Após o jejum de 36 horas, os ratos (n = 7-8) foram distribuídos em grupos e posteriormente tratados via oral com 10 mL/kg de veículo tween 80 12% (controle negativo), carbenoxolona 200 mg/kg (controle positivo), melhor dose da FaHex obtidos das folhas de *Xylopija langsdorffiana*. Após 1 hora de cada administração, os animais, previamente anestesiados com cloridrato de ketamina 5 % e de xilazina 2%, foram submetidos a um procedimento cirúrgico abaixo da apófise xifóide para que fosse realizada a ligadura do piloro com. Transcorrido 4 horas de cada ligadura, os animais foram eutanasiados, o esôfago foi pinçado para que não ocorressem perdas de conteúdo estomacal. O estômago retirado e lavado em água gelada foi aberto ao longo da grande curvatura. A porção glandular do estômago foi separada, pesada e imersa, por duas horas, em 10 mL de solução de alcian blue. O excesso de alcian blue foi removido lavando-se o estômago por duas vezes sucessivas, com 7 mL de solução sacarose 0,25 mol/L; sendo a primeira por 15 min e a segunda por 45 min. O corante, complexado ao muco aderido à parede estomacal, foi extraído com 10 mL de cloreto de magnésio 0,5 mol/L, agitando-se intermitentemente por um minuto, a cada 30 min, durante 2 horas. Desse material, foi retirada uma alíquota de 4 mL e adicionada a 4 mL de éter etílico e esta foi agitada por 2 min. A emulsão obtida foi centrifugada por 10 min a 3600 rpm e o sobrenadante, descartado. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (modelo Multisca, marca Labsystems) a 598 nm. A determinação da concentração de alcian blue foi feita por intercalação em uma curva padrão com várias concentrações de alcian blue. Os resultados foram expressos em mg de alcian blue/g de tecido.

3.2.3.2 Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na gastroproteção (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Ratos Wistar machos (n=5-7) foram colocados em jejum por 24 horas e distribuídos em oito grupos. Conforme o pré-tratamento, 4 grupos receberam o veículo tween 80 12% e os outros 4 grupos receberão N-etilmaleimida (NEM) 10 mg/kg (i.p.), um bloqueador dos grupamentos sulfidrilas. Após 30 minutos da administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com o veículo tween 80 12% (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo) e a melhor

dose do EEtOH e da FaHex. Após 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos mais 60 min, os animais foram eutanasiados, os estômagos retirados e abertos para determinação do ILU.

3.2.3.3 Avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção (SIKIRIC; SEIWERTH; GRABAREVIC, 1997)

Após jejum de 24 horas, ratos Wistar machos (n=5-7) foram divididos em 8 grupos conforme o pré-tratamento: 4 grupos receberam o veículo (tween 80 12 %) e 4 grupos receberam N-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) 70 mg/kg (i.p.), um agente bloqueador da enzima sintase de óxido. Após 30 minutos da administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com o veículo tween 80 12 % (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo), e com a melhor dose do EEtOH (500 mg/Kg) ou da FaHex (250 mg/Kg) das folhas de *Xylopija langsdorffiana*. Decorridos mais 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos mais uma hora os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, os estômagos retirados e abertos para determinação do ILU.

3.2.4 Avaliação da Atividade Cicatrizante de *Xylopija langsdorffiana*

3.2.4.1 Úlcera gástrica induzida por ácido acético (OKABE; AMAGASE, 2005, com modificações)

Após jejum de 24 horas, ratos Wistar machos (n=9) foram divididos aleatoriamente nos grupos Sham, Tween 80 12 % (controle negativo), cimetidina 100 mg/Kg (controle positivo), EEtOH-XI (500 mg/Kg) e FaHex-XI (250 mg/Kg), anestesiados com cloridrato de xilazina 2 % (relaxante muscular) e cloridrato de quetamina 5% (anestésico) e tiveram o abdômen aberto para exposição do estômago. Um tubo plástico de 5,0 mm de diâmetro, com um pellet de algodão inserido no seu interior, foi firmemente aplicado à superfície serosa da parede do

estômago, para que fosse aplicada uma solução de 100 µL de ácido acético (P.A) por 60 segundos. Logo após, o ácido foi removido completamente, para em seguida proceder à sutura do abdômen. Após 48 h da exposição do estômago ao ácido acético, as substâncias para o tratamento foram administradas aos animais por via oral uma vez ao dia durante 14 dias consecutivos. Ao final do tratamento, após jejum de 12 horas, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e seus estômagos foram removidos e abertos no sentido da grande curvatura, para a determinação da área da lesão ulcerativa - ALU (mm²) com a ajuda de um paquímetro digital Digimatic (Mitutoyo Corporation da Caliper-Japão).

As fórmulas utilizadas para obtenção da ALU e % da taxa de cura foram as seguintes:

$$ALU = (c) \cdot (l) = \text{mm}^2$$

$$(\%) \text{ da taxa de cura} = \frac{(ALU) C - (ALU) T}{(ALU) C} \times 100$$

c = comprimento (mm)

l = largura (mm)

ALU (C) = área da lesão ulcerativa do grupo controle negativo;

ALU (T) = área da lesão ulcerativa do grupo tratado.

Após a determinação da ALU, a região que circunscreve a lesão foi removida para posterior análise histológica. Ao final dos 14 dias de tratamento o sangue foi coletado e as vísceras retiradas para avaliação da toxicidade, conforme descrito a seguir.

3.2.4.1.1 Avaliação da toxicidade de doses repetidas do EEtOH e da FaHex de *Xylopija langsdorffiana* durante 14 dias no modelo de ácido acético

Para corroborar com os resultados anteriores, foram avaliados os possíveis efeitos das amostras vegetais sobre os animais submetidos ao tratamento diário com o EEtOH (500 mg/kg) ou a FaHex (250 mg/kg) durante 14 dias. Foram

avaliados: consumo de água e ração, peso corporal e dos órgãos e parâmetros bioquímicos e hamatológicos.

A) Avaliação do consumo de água e ração

Durante os 14 dias de tratamento, foi avaliada a quantidade de água e ração consumidas. A ração era colocada diariamente e, no dia seguinte avaliada a quantidade consumida pelos ratos. Para avaliar o consumo de água, seguiu-se a mesma metodologia colocando-se mamadeiras graduadas e, no dia seguinte, o volume de água ingerido pelos animais era mensurado.

B) Avaliação ponderal

A pesagem dos ratos foi realizada no 1º dia antes de iniciar os respectivos tratamentos com o EEtOH (250 mg/kg) ou a FaHex (250 mg/kg), cimetidina 100 mg/kg (controle positivo) e solução tween 80 12 % 10 mL/kg (controle negativo), e no último dia, correspondente ao 14º dia.

C) Avaliação do peso dos órgãos

Outro parâmetro avaliado no modelo de indução de úlcera por ácido acético, foi o peso dos órgãos. Ao final do experimento, os ratos foram eutanasiados e tiveram seus órgãos (coração, fígado, rins, baço e pulmão) pesados.

D) Avaliação dos parâmetros bioquímicos e hematológicos

Ao final do tratamento durante o período de 14 dias, os animais passaram por um jejum de 12 horas, em seguida foram eutanasiados e amostras de sangue foram coletadas através de punção cardíaca. Para análises bioquímicas, o sangue foi acondicionado em tubos contendo gel separador, que foram centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm, para obtenção do soro, destinado às dosagens dos seguintes parâmetros: uréia, creatinina e ácido úrico marcadores da função renal, bem como

aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), marcadores da função hepática.

Para a análise hematológica o sangue foi coletado em tubos contendo anticoagulante (EDTA) para avaliação dos seguintes parâmetros: contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), contagem global e diferencial de leucócitos. Foram realizados esfregaços sanguíneos que após coloração foram analisados em microscópio óptico para confirmação e controle da contagem diferencial de células sanguíneas.

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos foram determinados utilizando-se kits específicos para o analisador bioquímico automático Cobas Mira Plus® (Roche Diagnostic System) (Figura 12A) e para o analisador hematológico celular automático Animal Blood Counter (Vet) (Figura 12B), respectivamente. Os esfregaços sanguíneos foram corados automaticamente no HEMATEL 200® e analisados em microscópio óptico TAIMIN®, para confirmação e controle da contagem de células.



Figura 9 - (A) Analisador bioquímico automático Cobas Mira Plus® (Roche Diagnostic System); (B) Analisador hematológico celular automático Animal Blood Counter (Vet) (Foto: João Carlos Pita).

3.3 Análise Estatística

Para os resultados obtidos a partir dos ensaios de toxicidade aguda foi realizado o teste “t” de Student e Mann-Whitney. Já para os resultados farmacológicos obtidos em ensaios de indução de úlcera gástrica utilizou-se a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido por pós-teste (Dunnett e/ou Tukey). Todos os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (d.p.) da média e o nível de significância mínimo foi de $p < 0,05$.

Todos os resultados foram analisados com o software, GraphPad Prisma 5.0, San Diego, CA, EUA.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Ensaios Toxicológicos de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul.

4.1.1 Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀) (MEYER et al., 1982; NASCIMENTO; ARAÚJO, 1999)

O ensaio de letalidade com *Artemia salina* foi utilizado para avaliar a toxicidade do extrato etanólico de *Xylopia langsdorffiana*, utilizando a CL₅₀ como parâmetro da atividade biológica.

A viabilidade das larvas foi reduzida de maneira dose dependente após o tratamento com o extrato de *X. langsdorffiana* em concentrações até 1000 µg/mL (Gráfico 1 e Tabela 1). Dessa forma o valor da CL₅₀ obtido através do bioensaio foi de 611,8 (562,5 – 665,5) µg/mL, sugerindo que o EEtOH-XI possui substâncias bioativas.

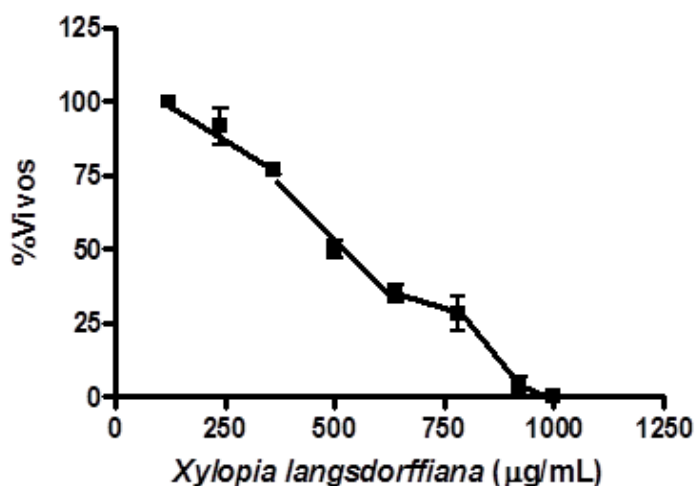


Gráfico 1 - Viabilidade das larvas do microcrustáceo *Artemia salina* após tratamento com EEtOH de *Xylopia langsdorffiana* (µg/mL). Cada ponto representa média ± erro padrão da média de três experimentos em três replicatas.

Tabela 1- Valor de CL₅₀ obtido através do bioensaio com *A. salina* para o EEtOH de *Xylopia langsdorffiana*

Extrato	Concentração letal 50 %
<i>Xylopia langsdorffiana</i>	611,8 µg/mL (562,5 – 665,5)

Os resultados estão expressos em µg/mL com seus respectivos limites de confiança (95%).

4.1.2 Triagem Comportamental e Determinação da Dose Letal 50% (DL₅₀) (ALMEIDA et al., 1999)

Levando em considerando os parâmetros citados por Almeida et al. (1999), o EEtOH-XI administrado na dose única de 2000 mg/kg, v.o. induziu irritabilidade e hiperatividade apenas nos camundongos fêmeas e esses sinais foram revertidos na 3ª hora após o tratamento, quando comparado ao respectivo grupo controle (tween 80 12 %).

Ao ser avaliado o consumo de ração, foi observado que o extrato promoveu um aumento significativo no consumo de ração apenas pelas fêmeas tratadas em comparação com o grupo que recebeu tween 80 12% (controle negativo) (Tabela 2). Em relação à ingestão de água, foi observado que o EEtOH-XI não promoveu alteração significativa no consumo dessa pelas fêmeas enquanto que houve um aumento significativo da mesma pelos machos tratados com esse mesmo extrato quando comparado ao seu respectivo grupo controle (tween 80 12%) (Tabela 2).

Na avaliação ponderal foi observado um aumento no peso das fêmeas ao término do ensaio agudo, o que corrobora ao resultado anterior, em que foi constatado um aumento na ingestão de ração pelas fêmeas tratadas com o EEtOH-XI (Tabela 2).

Não foi observada nenhuma mudança significativa no peso nem nas características macroscópicas dos órgãos dos animais que receberam o EEtOH-XI em comparação ao grupo controle negativo (tween 80 12 %). Os dados estão apresentados na Tabela 2.

O EEtOH não causou mortes aos animais durante os 14 dias de observação após a administração, impossibilitando a determinação da DL₅₀.

Tabela 2 - Efeito da administração oral do EEtOH obtido das folhas de *Xylopia langsdorffiana* na evolução ponderal, peso dos órgãos, consumo de água e ração por camundongos machos e fêmeas, durante 14 dias

Parâmetros	Sexo	Tratamentos	
Consumo de ração (g)		Controle Tween 80 (12%)	EEtOH (2000 mg/Kg)
	Fêmeas	8,15 ± 1,49	10,78 ± 2,13 ***
	Machos	9,2 ± 2,7	11,21 ± 3,49
Consumo de água (mL)			
	Fêmeas	7,84 ± 1,19	8,34 ± 1,41
	Machos	11,99 ± 2,95	16,10 ± 3,85 **
Evolução Ponderal (g)			
	Fêmeas		
Inicial		29,63 ± 2,01	32,52 ± 1,37
Final		32,92 ± 2,00	37,62 ± 1,80 **
	Machos		
Inicial		28,38 ± 1,73	31,62 ± 2,61
Final		30,07 ± 2,64	34,32 ± 5,23
Peso dos órgãos			
	Fêmeas		
Fígado		13,6 ± 0,5	13,6 ± 0,7
Coração		4,2 ± 0,8	3,8 ± 0,42
Rins		6,0 ± 0,5	6,0 ± 0,4
Baço		4,2 ± 0,75	3,9 ± 0,3
	Machos		
Fígado		14,24 ± 1,2	14,6 ± 1,28
Coração		3,90 ± 0,34	3,8 ± 0,27
Rins		6,4 ± 0,27	6,7 ± 0,28
Baço		3,7 ± 0,6	3,9 ± 0,5

Os resultados estão expressos como média ± d.p (n=6). Teste t student, **p<0,01, ***p<0,001, comparados a tween 80 12%. Para a avaliação dos órgãos, os valores estão expressos como média ± d.p. do arco-seno da divisão do peso dos órgãos pelo peso dos animais; teste "t" de Student p>0,05.

A análise desses parâmetros sugere que, nas condições avaliadas, os camundongos apresentaram sinais de baixa toxicidade quando tratados com EEtOH (2000 mg/kg, v.o.).

4.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora de *Xylopija langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul.

4.2.1 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/Etanol (Triagem Farmacológica) (MIZUI; DOTEUCHI, 1983, modificado)

Inicialmente foi realizada uma triagem farmacológica preliminar para avaliar se o EEtOH apresenta efeito gastroprotetor frente ao modelo de indução aguda de úlceras em camundongos, utilizando como agente lesivo o etanol acidificado.

Os resultados mostram que o EEtOH (62.5, 125, 250 e 500 mg/kg v.o.) e carbenoxolona (100 mg/kg) reduziram de forma significativa o índice de lesão ulcerativa (ILU) de 29, 38, 52, 60 e 43 %, respectivamente, quando comparado com o grupo controle negativo (solução tween 80 12%) (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito da administração oral do EEtOH-XI e da carbenoxolona em úlceras induzidas por HCl/etanol em camundongos

Tratamento	Dose (mg/kg)	ILU (média $\pm$ d.p.)	Inibição (%)
Solução tween 80 12%		161,7 $\pm$ 34,3	
Carbenoxolona	100	92,5 $\pm$ 33,6***	43
EEtOH-XI	62,5	115 $\pm$ 19,9*	29
	125	99,8 $\pm$ 21,35**	38
	250	78 $\pm$ 16,6***	52
	500	64,1 $\pm$ 19,4***	60

Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F(5,32) = 11,24$; Seguido do teste de Dunett * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (solução tween 12 %) ($n = 6-7$).

De acordo com os dados apresentados o extrato etanólico bruto de *X. langsdorffiana*, nas doses avaliadas, apresentou atividade gastroprotetora.

4.2.2 Úlceras Gástricas Induzidas por Etanol (MORIMOTO et al.,1991, modificado)

Os resultados obtidos para este modelo de indução de úlceras gástricas em ratos demonstram que o EEtOH-XI (62,5, 125, 250 e 500 mg/kg) e carbenoxolona (100 mg/kg) via oral diminuíram, de forma significativa, o ILU em cerca de 37, 41, 64, 83 e 40 %, respectivamente, quando comparado com o grupo tratado com solução tween 80 12% (controle negativo) (Tabela 4a).

Resultado semelhante foi conferido à FaHex-XI (62,5, 125, 250 e 500 mg/kg) e carbenoxolona (100 mg/Kg) via oral em que os danos na mucosa gástrica foram significativamente reduzidos em 23, 51, 81, 84 e 37 %, respectivamente, em comparação ao controle negativo (Tabela 4b).

Tabela 4 - Efeito da administração oral do EEtOH-XI, da FaHex-XI e carbenoxolona em úlceras induzidas por etanol em ratos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(a) Tween 80 12%		250,8 ± 51	-
Carbenoxolona	100	151 ± 55,4**	40
EEtOH-XI	62,5	158,8 ± 56,6*	37
	125	149 ± 60,7**	41
	250	89,8 ± 26,7***	64
	500	46 ± 10,15***	83
Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(b) Tween 80 12%		251 ± 20,63	-
Carbenoxolona	100	157,3 ± 28,46***	37
FaHex-XI	62,5	194 ± 60,96*	23
	125	122,2 ± 18,06***	51
	250	47 ± 11,8***	81
	500	41,33 ± 14,6***	84

(a)Resultado do EEtOH-XI e (b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): F(5,29) = 11,68 (n=5-6) para o EEtOH e F(5,30) = 46,63 (n=5-7) para a FaHex; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução tween 12 %), *p<0,05 **p<0,01, ***p<0,001.

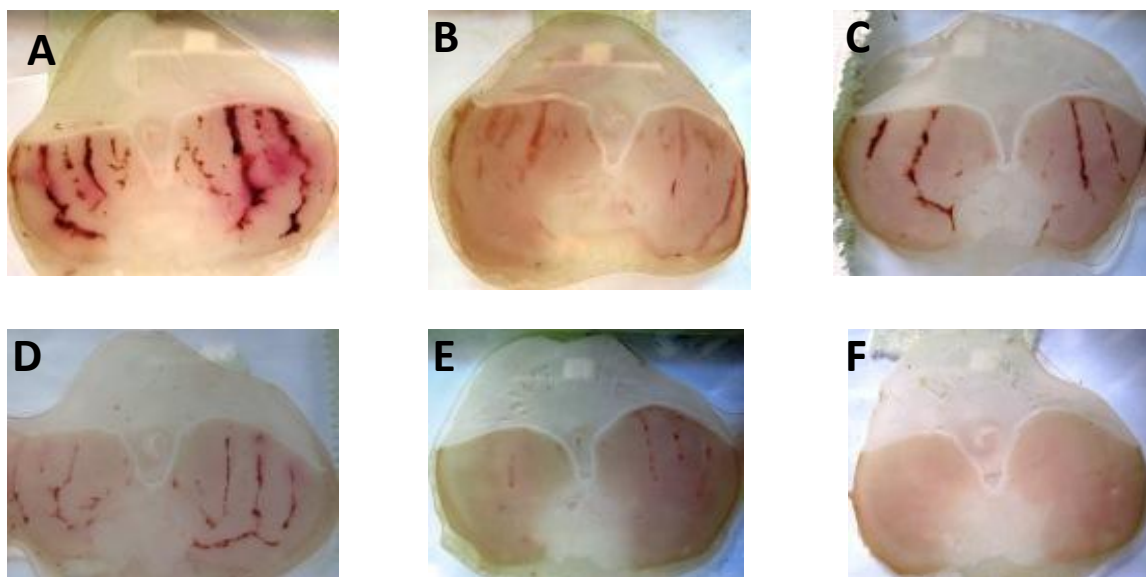


Figura 10 - Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução tween 80 12 % (A), carbenoxolona 100 mg/kg (B), EEtOH-XI (62,5 mg/kg) (C), EEtOH-XI (125 mg/kg) (D), EEtOH-XI (250 mg/kg) (E), EEtOH-XI (500 mg/kg) (F) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).

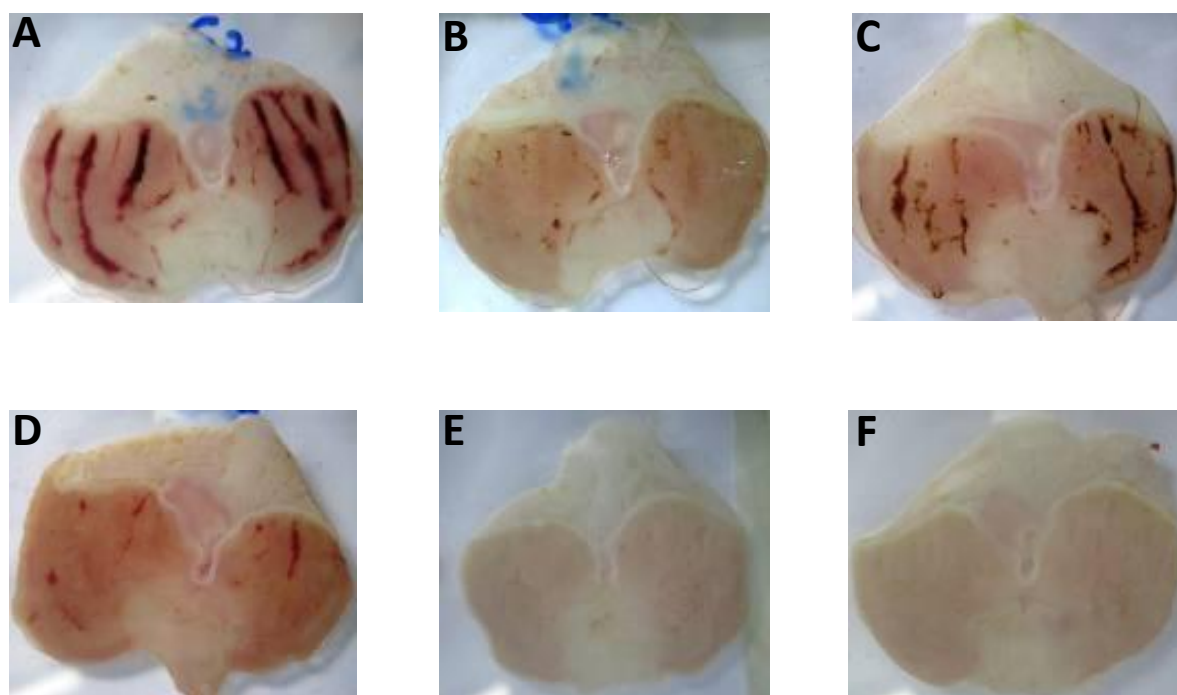


Figura 11 - Estômagos de ratos pré-tratados v.o. com solução tween 80 12 % (A), carbenoxolona 100 mg/kg (B), FaHex -XI (62,5 mg/kg) (C), FaHex-XI (125 mg/kg) (D), FaHex -XI (250 mg/kg) (E), FaHex -XI (500 mg/kg) (F) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).

Esses resultados indicam que tanto o extrato etanólico como a fase hexânica obtidos de *X. langsdorffiana* apresentaram atividade gastroprotetora frente às lesões gástricas agudas induzidas por etanol absoluto.

De acordo com os resultados obtidos nesse modelo, foi realizada uma comparação entre as diferentes doses dos grupos tratados com o EEtOH e a FaHex, utilizando o teste de Tukey, que mostrou a dose de 500 mg/kg e 250 mg/kg como as mais efetivas para o extrato etanólico bruto e fase hexânica, respectivamente. Tais doses foram selecionadas para os experimentos de avaliação dos parâmetros bioquímicos e determinação dos mecanismos de ação.

4.2.3 Úlceras Gástricas Induzidas por Estresse (Imobilização e Frio) (LEVINE et al., 1971, com modificações)

No modelo de indução aguda de úlcera gástrica tendo como agente lesivo o estresse por imobilização e frio em camundongos, os resultados da administração oral do EEtOH-XI (62,5, 125, 250 e 500 mg/kg v.o.) e da cimetidina (100 mg/kg) mostraram que houve redução significativa das lesões ulcerativas em 47, 50, 52, 48 e 50 %, respectivamente, quando comparados com o grupo controle negativo (solução tween 80 12%). Os dados se encontram expressos na Tabela 5a.

A FaHex-XI, nas doses já citadas anteriormente, apresentou resultado similar ao do extrato, inibindo o ILU em 32, 43, 56, 75 e 30 %, respectivamente, ao ser comparada à solução tween 80 12% (Tabela 5b).

Esses resultados apontam que as amostras vegetais obtidas de *X. langsdorffiana*, protegeram a mucosa gástrica dos camundongos das injúrias relacionadas ao estresse, indicando gastroproteção.

Tabela 5. Efeito da administração oral do EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina em úlceras induzidas por estresse por imobilização e frio em camundongos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
------------	--------------	-----	--------------

^(a) Tween 80 12%		178,3 ± 12,4	-
Cimetidina	100	89,8 ± 16,5***	50
EEtOH- XI	62,5	93,8 ± 11,7***	47
	125	88,7 ± 17,12***	50
	250	86 ± 2,8***	52
	500	93,2 ± 9,7***	48
Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(b) Tween 80 12%		167,6 ± 33,2	-
Cimetidina	100	117 ± 27,15**	30
FaHex-XI	62,5	113,7 ± 23,1**	32
	125	95,3 ± 21,4***	43
	250	73,9 ± 15,3***	56
	500	41,6 ± 11,2***	75

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(5,29)} = 47,88$ (n=5-6) para o EEtOH e $F_{(5,31)} = 22,37$ (n=5-7) para a FaHex; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução tween 12 %) **p<0,01, ***p<0,001.

4.2.4 Úlceras Gástricas Induzidas por Antiinflamatório-não-esteroidal (Piroxicam) (PUSCAS et al., 1997, com modificações)

Analisando a tabela 6 (a e b), pode-se observar que tanto o EEtOH quanto a FaHex obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* e cimetidina, nas doses já relatadas, inibiram de forma significativa o ILU em cerca de 31, 70, 71, 72 e 50 % respectivamente, e 42, 58, 61 e 44 % para a FaHex-XI quando comparados ao grupo tratado com solução tween 80 12% (controle negativo).

Tabela 6. Efeito da administração oral do EEtOH-XI, da FaHex e cimetidina em úlceras induzidas por AINE (Piroxicam) em camundongos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
------------	--------------	-----	--------------

^(a) Tween 80 12%		97 ± 11,8	-
Cimetidina	100	48,5 ± 6,3***	50
EEtOH- XI	62,5	67,1 ± 12,2***	31
	125	29,5 ± 10,3***	70
	250	28,3 ± 2,9***	71
	500	27,2 ± 1,6***	72
Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(b) Tween 80 12%		120,7 ± 8,9	-
Cimetidina	100	67,83 ± 20,56***	44
FaHex-XI	62,5	110 ± 20,49	9
	125	69,33 ± 20,98***	42
	250	50,3 ± 24,5***	58
	500	47,4 ± 13***	61

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(5,29)} = 54,43$ (n=5-7) para o EEtOH e $F_{(5,29)} = 15,14$ (n=5-6) para a FaHex; seguido do teste de Dunnett, comparado ao controle negativo (solução tween 12 %) **p<0,01, ***p<0,001.

De acordo com estes dados, o EEtOH e a FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* apresentaram significativa atividade gastroprotetora frente aos danos gástricos agudos provocados por AINE (piroxicam) em camundongos.

4.2.5 Indução da úlcera gástrica por contensão do suco gástrico (SHAY et al., 1945, com modificações)

Os resultados obtidos para as amostras vegetais de *X. langsdorffiana* em estudo frente à contensão da secreção gástrica, utilizando o modelo de ligadura de piloro em ratos, demonstraram que o EEtOH-XI (500 mg/kg) e a cimetidina (100 mg/kg), administradas por via oral, inibiram em 54 e 25 % o índice de lesões ulcerativas, respectivamente, resultado este também observado para a FaHex-XI

(250 mg/kg) e a cimetidina que reduziram o ILU em 34 e 22 %, respectivamente, quando comparadas ao controle negativo (Tabela 7a e 7b).

Tabela 7. Efeitos da administração oral do EEtOH, FaHex e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por contensão da secreção gástrica através da ligadura de piloro em ratos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(a) Tween 80 12%		156,2 ± 22,77	---
Cimetidina	100	117,3 ± 14,98**	25
EEtOH-XI	500	72,57 ± 18,19***	54
Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(b) Tween 80 12%		134,4 ± 19,01	---
Cimetidina	100	104,2 ± 11,09*	22
FaHex-XI	250	88,6 ± 15,32***	34

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(2,15)} = 30.09$ para o EEtOH; $F_{(2,13)} = 11.8$ para o FaHex-XI (n=6-7); Seguido do teste de Dunett *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (solução tween 12 %).

Na avaliação das amostras de *X. langsdorffiana* administradas por via intraduodenal, o EEtOH-XI (500 mg/kg) e a cimetidina (100 mg/kg), inibiram em 36 e 34 %, respectivamente, o índice de lesões ulcerativas, condição, esta, também observada para a FaHex-XI (250 mg/kg) e seu respectivo controle positivo que reduziram o ILU em 45 e 30 % quando comparado ao controle negativo (Tabela 8a 8b).

Tabela 8. Efeitos da administração intraduodenal do EEtOH, FaHex e cimetidina nas lesões gástricas induzidas por contensão da secreção gástrica através da ligadura de piloro em ratos

Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(a) Tween 80 12%		213,7 ± 18,52	---
Cimetidina	100	140,3 ± 20,12***	34
EEtOH-XI	500	137,5 ± 23,14***	36
Tratamento	Dose (mg/Kg)	ILU	Inibição (%)
^(b) Tween 80 12%		185,2 ± 9,9	---
Cimetidina	100	129 ± 12,5***	30
FaHex-XI	250	101,2 ± 18,19***	45

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(2,15)} = 26.15$ para o EEtOH; $F_{(2,15)} = 56.40$ para a FaHex ($n = 6$); Seguido do teste de Dunett *** $p < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (solução tween 12 %).

De acordo com os resultados obtidos, as amostras vegetais apresentaram uma significativa atividade gastroprotetora nas condições avaliadas, diante o modelo de indução da úlcera gástrica por contensão do suco gástrico.

4.2.6 Avaliação dos Parâmetros Bioquímicos do Suco Gástrico após Ligadura do Píloro (v.o. e i.d.)

No modelo de ligadura do píloro, foram avaliados parâmetros bioquímicos do conteúdo estomacal dos ratos, como pH, concentração de íons H^+ e volume do suco gástrico, após a administração oral (v.o.) e intraduodenal (i.d.) da solução tween 80 12 %, cimetidina (100 mg/kg), EEtOH (500 mg/kg) ou FaHex (250 mg/kg) obtidos de *X. langsdorffiana*.

As amostras vegetais não alteraram nenhum dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico avaliados (pH, concentração de H^+ e volume do suco gástrico) quando comparado com o grupo controle negativo, em ambos os tratamentos. Como exposto nas tabelas 9 (a e b) por via oral e 10 (a e b) por via intraduodenal. Entretanto, no grupo dos animais que recebeu a cimetidina (antagonista do receptor H_2) como esperado, foi observado aumento do pH, redução da concentração de íons H^+ e do volume gástrico (este apenas para o tratamento v.o.).

Tabela 9. Parâmetros bioquímicos do suco gástrico de ratos submetidos à ligadura de piloro, tratados com EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina por via v.o.

Tratamento	pH (unidades)	[H ⁺] (mEq/mL/4h)	Volume gástrico (g)
^(a) Tween 12%	3,1 ± 0,2	11,8 ± 1,9	1,6 ± 0,57
Cimetidina (100 mg/kg)	6,5 ± 0,9***	4,7 ± 1,5***	0,62 ± 0,25***
EEtOH-XI (500 mg/kg)	3,09 ± 0,2	13,9 ± 1,3	1,84 ± 0,3
Tratamento	pH (unidades)	[H ⁺] (mEq/mL/4h)	Volume gástrico (g)
^(b) Tween 12%	3,3 ± 0,3	14,3 ± 2,8	1,2 ± 0,4
Cimetidina (100 mg/kg)	6,7 ± 0,42***	6,6 ± 2,3***	0,69 ± 0,3*
FaHex-XI (250 mg/kg)	3,1 ± 0,35	14,4 ± 4,2	1,6 ± 0,3

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(2, 17)} = 86.15$ (EEtOH) / $F_{(2, 17)} = 224.2$ (FaHex) para pH; $F_{(2, 15)} = 53.82$ (EEtOH) / $F_{(2, 16)} = 13.47$ (FaHex) para [H⁺]; $F_{(2, 18)} = 17.88$ (EEtOH) / $F_{(2, 14)} = 12.83$ (FaHex) para volume gástrico, seguido do teste de Dunnett *p<0,05, ***p<0,001. (n=5-7).

Tabela 10. Parâmetros bioquímicos do suco gástrico de ratos submetidos à ligadura de piloro, tratados com EEtOH-XI, FaHex-XI e cimetidina por via i.d.

Tratamento	pH (unidades)	[H ⁺] (mEq/mL/4h)	Volume gástrico (g)
^(a) Tween 12%	3,7 ± 0,50	12,5 ± 2,5	0,6 ± 0,2
Cimetidina (100 mg/kg)	4,5 ± 0,70*	7,7 ± 2,9**	0,57 ± 0,2
EEtOH-XI (500 mg/kg)	3,4 ± 0,08	13,2 ± 1,3	0,60 ± 0,2
Tratamento	pH (unidades)	[H ⁺] (mEq/mL/4h)	Volume gástrico (g)
^(b) Tween 12%	2,8 ± 0,3	13,8 ± 1,7	0,9 ± 0,3
Cimetidina (100 mg/kg)	3,3 ± 0,1***	9,3 ± 1,3***	0,63 ± 0,18*
FaHex-XI (250 mg/kg)	2,7 ± 0,2	14,7 ± 0,6	0,7 ± 0,2

^(a)Resultado do EEtOH-XI e ^(b)Resultado da FaHex-XI. Os resultados estão expressos como média ± d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(2, 18)} = 9.3$ (EEtOH) / $F_{(2, 17)} = 15.11$ (FaHex) para pH; $F_{(2, 17)} = 10.59$ (EEtOH) / $F_{(2, 15)} = 31.44$ (FaHex) para [H⁺]; $F_{(2, 15)} = 0.04203$ (EEtOH) / $F_{(2, 17)} = 3.051$ (FaHex) para volume gástrico, seguido do teste de Dunnett *p<0,05, ***p<0,001. Resultados expressos como média ± d.p (n=5-7).

Diante desses resultados, pode-se sugerir que a gastroproteção promovida pelo extrato e fase da espécie vegetal *Xylopija langsdorffiana* aparentemente não está ligada a mecanismos antissecretores.

4.2.7 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Gastroprotetora de *Xylopija langsdorffiana*

Na perspectiva de elucidação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade gastroprotetora de EEtOH e FaHex-XI foram avaliadas a participação do muco aderido à mucosa, dos grupamentos sulfidrilas e do óxido nítrico, nessa atividade.

4.2.7.1 Determinação da concentração de muco aderido à parede gástrica (RAFFATULLAH et al., 1990, modificado)

Para verificar o envolvimento do muco na citoproteção produzida por carbenoxolona (200 mg/kg – indutor da produção de muco) e FaHex-XI (250 mg/kg) foi utilizado o modelo de muco aderido à mucosa gástrica, pela determinação da concentração de acian blue aderido ao muco do estômago de ratos, após ligadura do piloro. Os resultados demonstram que apenas a carbenoxolona (200 mg/kg), agente estimulador da produção de muco e bicarbonato, foi capaz de aumentar a concentração de muco, de forma significativa, quando comparada ao grupo controle negativo (tween 80 12 %) (Gráfico 2).

O resultado exposto indica que possivelmente a FaHex-XI não promove gastroproteção por aumento de muco aderido à mucosa.

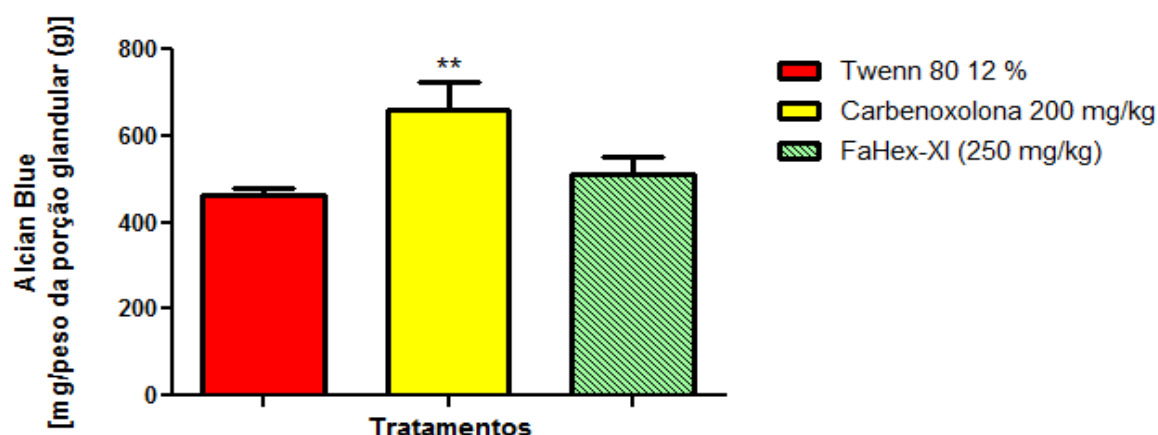


Gráfico 2. Efeito da administração oral de FaHex-XI e carbenoxolona sobre o conteúdo de muco gástrico após ligadura do piloro em ratos. Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Análise de variância de uma via (ANOVA): $F_{(2, 19)} = 5,47$, seguido do teste de Dunnett ** $p < 0,01$ ($n=7-8$).

4.2.7.2 Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na gastroproteção (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Na avaliação do envolvimento dos grupamentos sulfidrilas no efeito gastroprotetor promovido pelo extrato etanólico bruto e pela fase hexânica de *Xylopia langsdorffiana*, em ratos foi possível observar que nos grupos previamente tratados com solução tween 80 12 % e depois tratados com EEtOH-XI e carbenoxolona, ocorreu uma inibição significativa do ILU de 66 e 50 %, respectivamente. Entretanto, quando foram avaliados os grupos pré-tratados com o NEM, um bloqueador de grupamentos sulfidrílicos, e tratados com EEtOH-XI e carbenoxolona foi observada uma exacerbação do ILU com 38 e 47 % de inibição, respectivamente, quando comparados ao seu respectivo controle negativo (Gráfico 3).

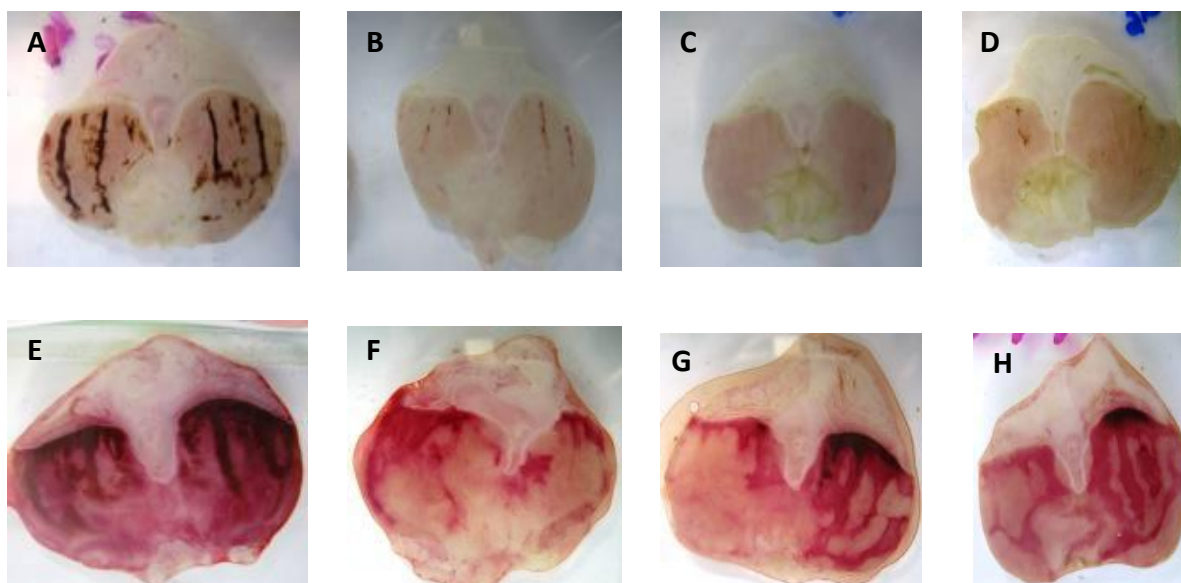


Figura 12. Estômagos de ratos ulcerados e tratados com tween/tween (A) tween/carbenoxolona (B), tween/EEtOH (C), tween/FaHex (D), NEM/tween (E), NEM/carbenoxolona (F), NEM/EEtOH (G), NEM/FaHex (H) (Modelo de avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na gastroproteção).

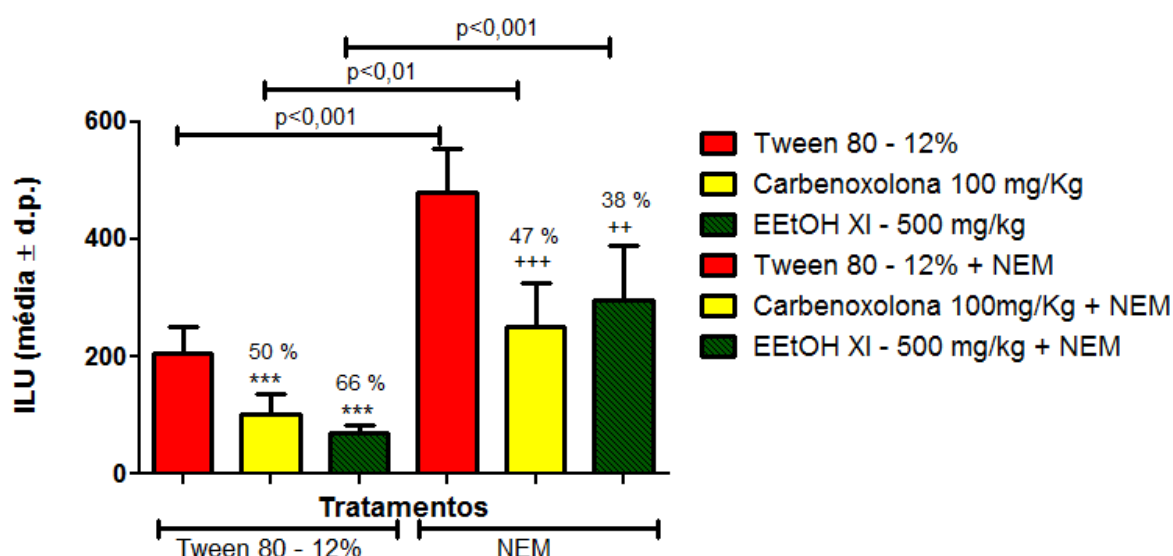


Gráfico 3. Efeito gastroprotetor do EEtOH-XI e carbenoxolona após pré-tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidrilas, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos. Os dados estão expressos como média $\pm$ d.p. (n = 5-7). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$ comparados à Tween 80 12 % (controle negativo); ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ comparando-se ao grupo solução tween 80 12% + NEM. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (tween 80 12 %).

Resultado similar foi observado para a FaHex-XI, onde nos animais dos grupos previamente tratados com solução tween 80 12 % e depois tratados com FaHex-XI ou carbenoxolona, foi possível observar uma inibição significativa do ILU de 63 e 38 %, respectivamente, ao se comparar com o grupo controle negativo. Todavia, quando foram avaliados os grupos pré-tratados com o NEM (bloqueador de grupamentos sulfidrilas) e tratados com FaHex-XI ou carbenoxolona foi observada uma exacerbação do ILU com 43 e 40 % de inibição, respectivamente, quando comparados ao seu controle negativo (Gráfico 4).

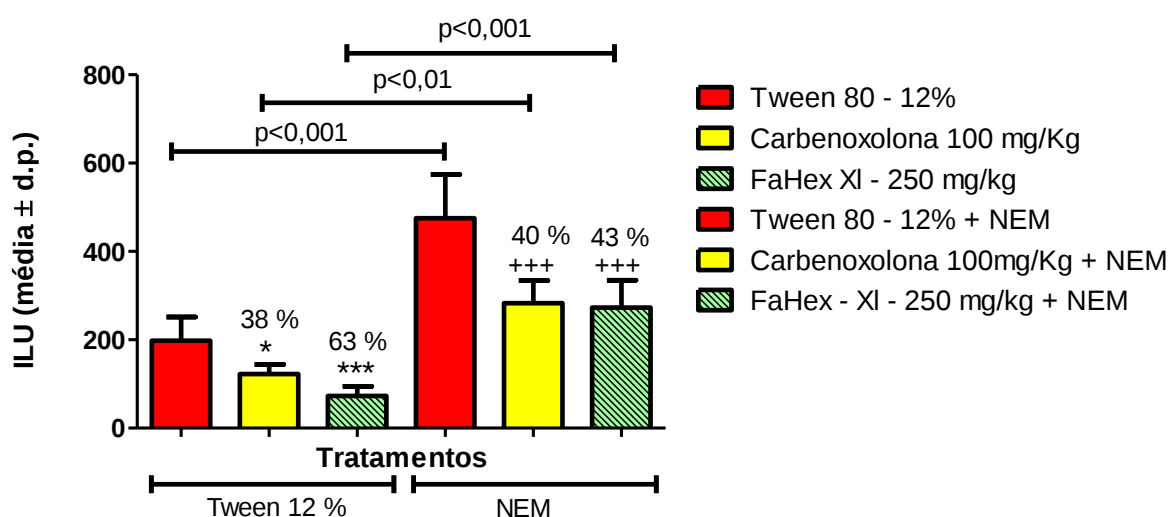


Gráfico 4. Efeito gastroprotetor da FaHex-XI e carbenoxolona após pré-tratamento com NEM, um inibidor dos compostos sulfidrilas, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos. Os dados estão expressos como média $\pm$ d.p. ($n = 5-6$). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ comparados à tween 80 12 % (controle negativo); +++ $p < 0,001$ comparando-se ao grupo solução tween 80 12% + NEM. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (tween 80 12 %).

Diante desses resultados, é possível sugerir que os grupamentos sulfidrilas estejam parcialmente envolvidos no mecanismo de ação gastroprotetor promovido tanto pelo EEtOH-XI quanto pela FaHex-XI obtidos de *X. langsdorffiana*.

4.2.7.3 Avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção (SIKIRIC; SEIWERTH; GRABAREVIC, 1997)

O efeito gastroprotetor do EEtOH-XI (500 mg/kg), FaHex-XI (250 mg/kg) e carbenoxolona (100 mg/kg), foi avaliado após pré-tratamento dos animais, por via intraperitoneal, com solução tween 80 a 12% ou o inibidor da enzima óxido nítrico sintase (L-NAME 70 mg/kg), utilizando o etanol como agente lesivo. Os resultados para esse experimento estão expressos nos gráficos 5 e 6.

O gráfico 5 mostra que nos grupos pré-tratados (via i.p.) tanto com solução tween 80 12% quanto com L-NAME e posteriormente tratados (por via oral) com EEtOH-XI e carbenoxolona ocorreu inibição significativa do ILU quando comparado com seu respectivo controle negativo. Entretanto, é possível observar que para os animais pré-tratados com L-NAME houve uma exacerbação do ILU quando comparados àqueles que receberam solução tween 80 12% (controle negativo) por via intraperitoneal.

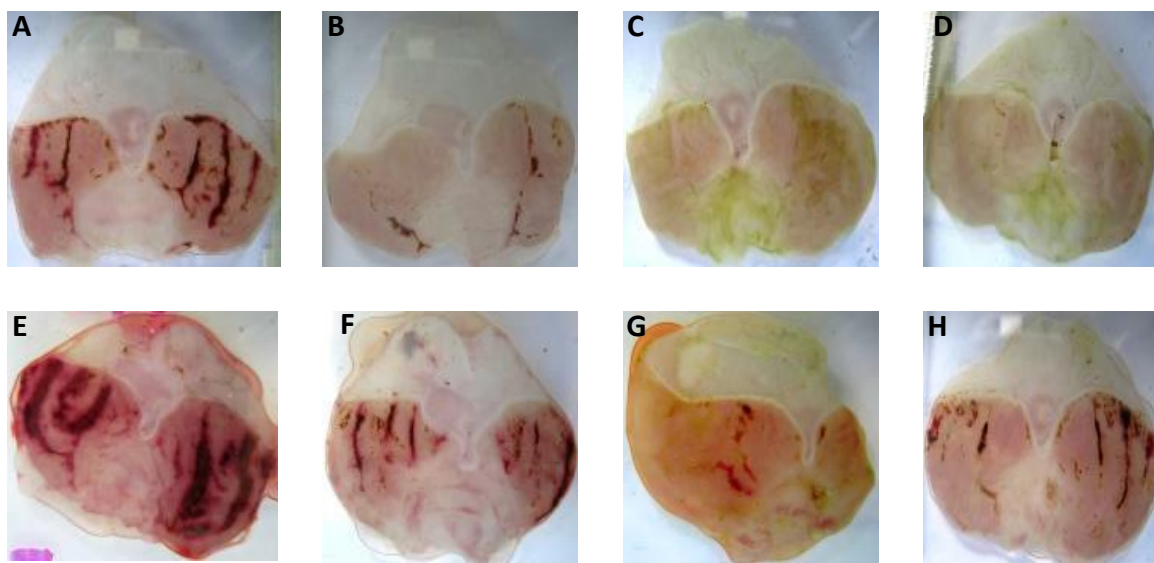


Figura 13. Estômagos de ratos ulcerados e tratados com tween/tween (A) tween/carbenoxolona (B), tween/EEtOH (C), tween/FaHex (D), L-NAME/tween (E), L-NAME/carbenoxolona (F), L-NAME/EEtOH (G), L-NAME/FaHex (H) (Modelo de avaliação da participação do óxido nítrico (NO) na gastroproteção).

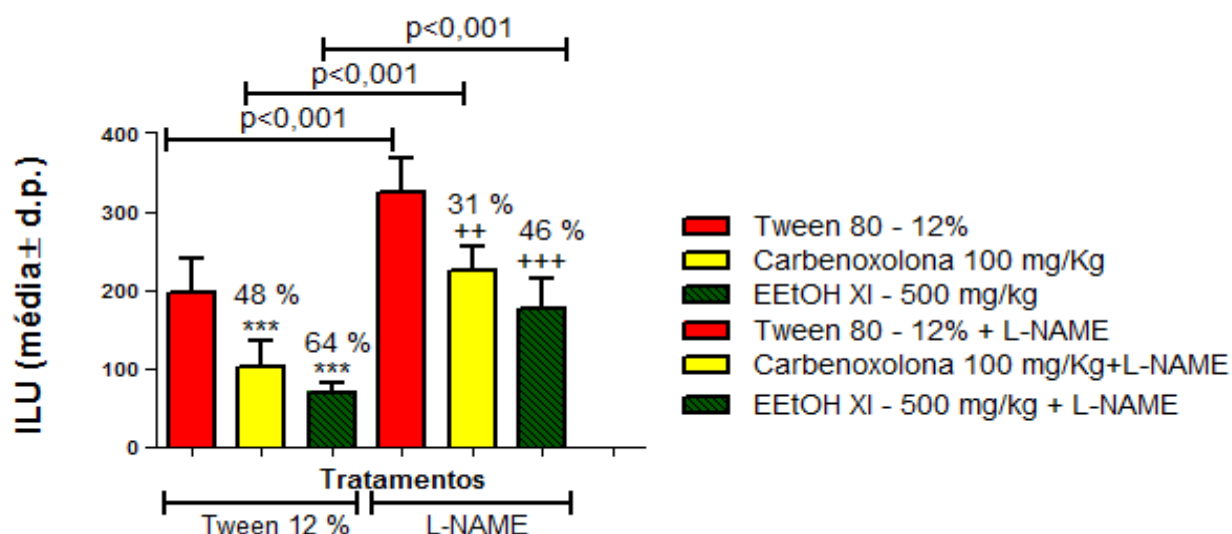


Gráfico 5. Efeito gastroprotetor do EEtOH-XI e da carbenoxolona após pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos. Os dados estão expressos como média $\pm$ d.p. ($n = 5-7$). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$ comparados à tween 80 12 % (controle negativo); ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ comparando-se ao grupo solução tween 80 12% + L-NAME. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (tween 80 12 %).

Em se tratando da participação do NO na gastroproteção promovida pela FaHex, foi observado resultado semelhante ao do EEtOH, anteriormente obtido, onde houve inibição do índice de lesão ulcerativo nos grupos pré-tratados com tween 80 12% e tratados com FaHex-XI e carbenoxolona, em cerca de 43 e 40 %, respectivamente, quando comparado ao grupo controle negativo. Entretanto ocorreu uma exacerbação do ILU dos grupos pré-tratados com L-NAME e tratados com FaHex-XI e carbenoxolona (39 e 34%) quando comparados com aqueles que receberam tween 80 12%, via i.p. (Gráfico 6).

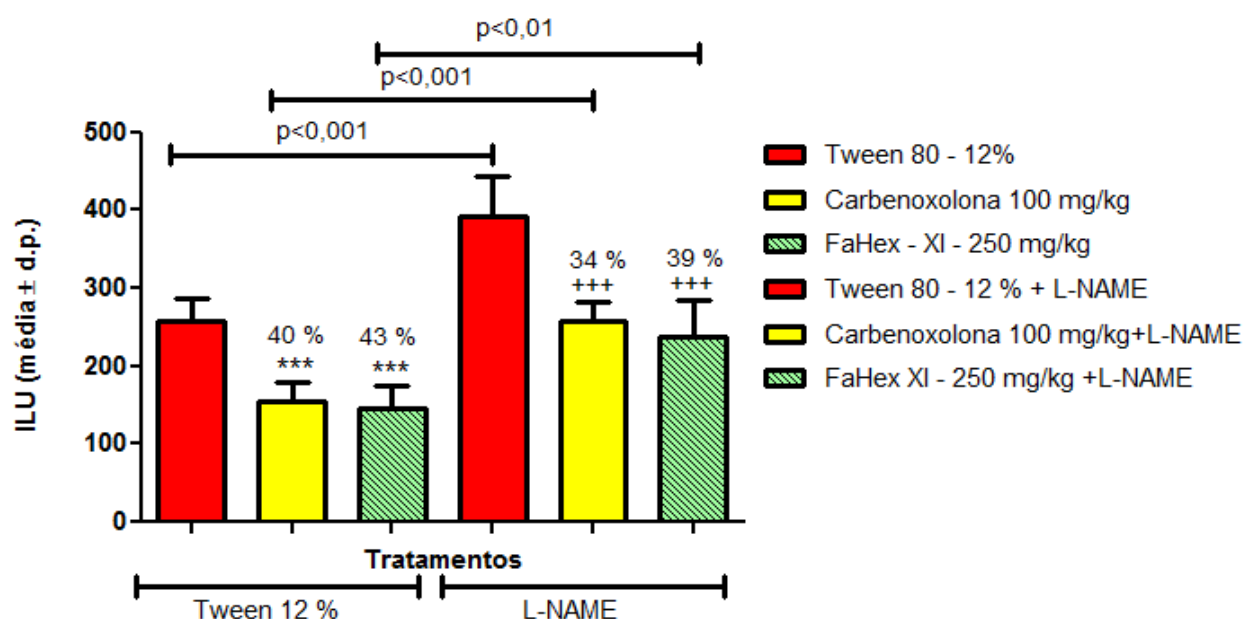


Gráfico 6. Efeito gastroprotetor da FaHex-XI e da carbenoxolona após pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima NO sintase, na úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em ratos. Os dados estão expressos como média $\pm$ d.p. ($n = 5-7$). ANOVA de um via, seguido do teste de Tukey, *** $p < 0,001$ comparados à tween 80 12 % (controle negativo); +++ $p < 0,001$ comparando-se ao grupo solução tween 80 12% + L-NAME. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo controle negativo (tween 80 12 %).

Os dados sugerem que há o envolvimento, de forma parcial, da via do NO na gastroproteção desempenhada pelo EEtOH e FaHex obtidos de *Xylopija langsdorffiana*.

4.3 Avaliação da Atividade Cicatrizante de *Xylopija langsdorffiana*

4.3.1 Úlcera Gástrica Induzida por Ácido Acético (OKABE; AMAGASE, 2005, com modificações)

No modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético, foi observado redução na área da lesão ulcerativa em 51, 36 e 60 %, após tratamento de 14 dias com EEtOH (500 mg/Kg, v.o), FaHex (250 mg/kg, v.o.) e cimetidina (100 mg/kg, v.o.), respectivamente (Gráfico 7). O grupo Sham, constituído por animais em que a úlcera não foi induzida, não apresentou lesão, como esperado. De acordo com

esses resultados tanto o extrato etanólico bruto como a fase hexânica apresentaram atividade cicatrizante da úlcera gástrica induzida pelo por este agente lesivo.

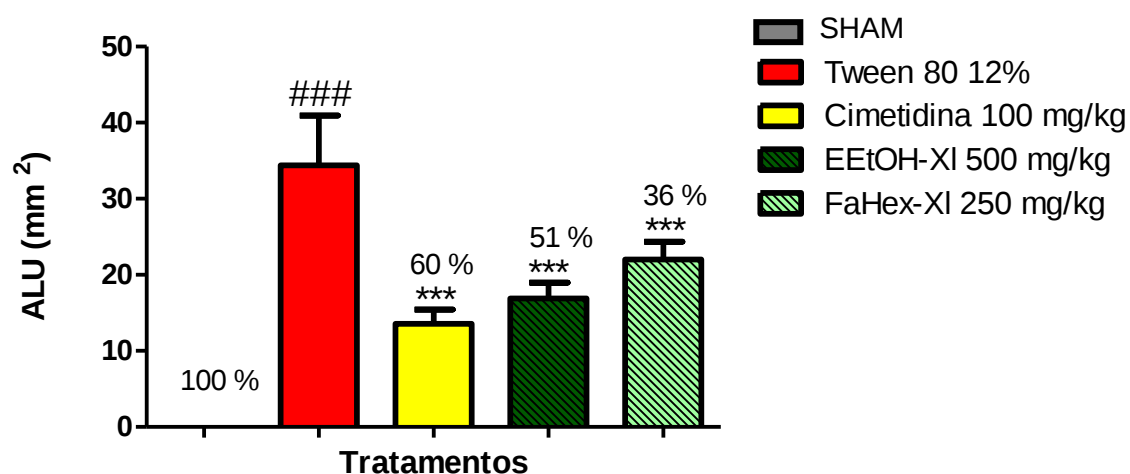


Gráfico 7. Efeito cicatrizante do EEtOH e da FaHex obtidos de *Xylopija langsdorffiana* no modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético em ratos. Os dados estão expressos como média $\pm$ d.p. (n = 6-11). ANOVA de uma via, seguido do teste de Tukey. *** p<0,001 tween 80 12 % vs EEtOH e FaHex. Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo tween 80 12 %.

4.3.1.1 Avaliação da toxicidade de doses repetidas do EEtOH e da FaHex de *Xylopija langsdorffiana* durante 14 dias no modelo de ácido acético

A) Avaliação do consumo de água e ração

Complementando a avaliação da atividade cicatrizante, foi realizado o acompanhamento do consumo diário de água e ração pelos ratos. Foi observado um aumento significativo na ingesta de água e ração pelos ratos tratados com EEtOH (500 mg/kg, v.o.), quando comparado ao controle negativo. Essa alteração não foi constatada para os grupos tratados com a FaHex (Tabela 11).

Tabela 11. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* durante 14 dias sobre o consumo de água e ração pelos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Tratamento	Dose	Consumo de água (mL)	Consumo de ração (g)
Sham	-	31,30 ± 2,53	25,64 ± 2,37
Tween 80 12 %	10 mL/kg	33,60 ± 2,30	22,93 ± 2,75
Cimetidina	100 mg/kg	32,28 ± 3,71	23,80 ± 5,03
EEtOH	500 mg/kg	43,98 ± 4,42***	30,01 ± 3,53***
FaHex	250 mg/kg	28,72 ± 7,03	21,10 ± 6,86

Os valores estão expressos como média ± d.p. (n = 6-11). ANOVA de uma via, seguido do teste de Dunnett, ***p<0,001 comparados ao tween 80 12 %.

B) Avaliação ponderal

Além dos resultados acima descritos, foi avaliada a toxicidade produzida por doses repetidas do EEtOH (500 mg/kg, v.o.) e da FaHex (250 mg/kg, v.o.) durante 14 dias de tratamento. Com isso foi observado que as amostras vegetais não promoveram alterações significativas no peso corporal dos ratos, quando comparados ao controle negativo (tween 80 12 %) (Tabela 12).

Tabela 12. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* durante 14 dias sobre o peso dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Tratamento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Aumento (%)
Sham	245,7 ± 20,14	298,2 ± 17,60	17,58 ± 5,21
Tween 80 12 %	204,6 ± 21,3	255,7 ± 15,65	19,95 ± 7,36
Cimetidina	223,3 ± 14,41	276,7 ± 25,15	19,03 ± 4,55
EEtOH	205,0 ± 5,98	268,1 ± 13,93	23,46 ± 2,28
FaHex	190,6 ± 10,42	247,3 ± 19,86	22,72 ± 3,56

Os valores estão expressos como média ± d.p. (n = 5-11). Análise de Variância de uma via ANOVA, seguido do teste de Dunnett, p<0,05 comparados ao tween 80 12 %.

C) Avaliação do peso dos órgãos

O tratamento durante 14 dias com o EEtOH (500 mg/kg, v.o.) ou FaHex (250 mg/kg, v.o.) não promoveu alteração significativa no peso dos órgãos dos ratos ulcerados com ácido acético, em comparação ao grupo controle negativo (tween 12 %) (Tabela 13).

Tabela 13. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* durante 14 dias sobre o peso dos órgãos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Órgãos	Sham	Tween 80 12 %	Cimetidina (100 mg/kg)	EEtOH (500 mg/kg)	FaHex (250 mg/kg)
Coração	3,40 ± 0,72	3,85 ± 0,12	3,72 ± 0,24	4,02 ± 0,27	3,77 ± 0,19
Fígado	11,00 ± 0,74	10,89 ± 0,74	11,36 ± 0,43	11,50 ± 0,56	11,02 ± 0,44
Rins	5,09 ± 0,13	5,34 ± 0,17	5,31 ± 0,23	5,39 ± 0,11	5,31 ± 0,11
Baço	2,78 ± 0,36	3,06 ± 0,31	2,80 ± 0,17	2,91 ± 0,26	3,22 ± 0,25
Pulmão	4,33 ± 0,72	4,95 ± 0,64	4,70 ± 0,45	4,32 ± 0,30	4,59 ± 0,34

Dados da razão do peso dos órgãos dividido pelo peso corpóreo e transformado em arco seno. Os dados estão expressos como média ± d.p. (n = 6-11). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett, $p > 0,05$ comparados ao tween 80 12 %.

D) Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Em relação à análise dos parâmetros bioquímicos avaliados, foi observado que apenas a FaHex (250 mg/kg, v.o.) promoveu diminuição significativa frente nos níveis de AST e ácido úrico, quando comparados ao controle negativo (tween 80 12 %) (Tabela 14), indicando possível ação hepatoprotetora ou inibitória sobre a xantina oxidase ou ainda atividade protetora renal.

E) Avaliação dos parâmetros hematológicos

Com relação aos parâmetros hematológicos, foi observado que durante 14 dias de tratamento, o EEtOH e a FaHex (250 mg/kg, v.o.) não alteraram de forma significativa os parâmetros hematológicos analisados (Tabela 15)

Tabela 14. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* durante 14 dias sobre os parâmetros bioquímicos de ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Parâmetros		Tratamentos			
Bioquímicos	Sham	Tween 80 12%	Cimetidina (100 mg/kg)	EEtOH (500 mg/kg)	FaHex (250 mg/kg)
Glicose (mg/dL)	198,3 ± 36,70	133,5 ± 34,46	208,9 ± 51,01**	192,2 ± 40,96	181,8 ± 26,33
Triglicerídeos (mg/dL)	93,00 ± 22,49	99,80 ± 17,64	93,29 ± 16,03	75,20 ± 10,66	110,8 ± 23,11
Colesterol (mg/dL)	58,09 ± 12,10	68,43 ± 11,84	62,71 ± 13,82	65,20 ± 4,97	67,43 ± 13,09
Uréia (mg/dL)	46,36 ± 8,33	42,57 ± 5,97	40,11 ± 5,86	46,33 ± 2,73	45,40 ± 7,64
Creatinina (mg/dL)	0,54 ± 0,09	0,51 ± 0,07	0,51 ± 0,061	0,47 ± 0,053	0,46 ± 0,05
Ácido úrico (mg/dL)	0,37 ± 0,13	0,52 ± 0,08	0,51 ± 0,12	0,42 ± 0,16	0,28 ± 0,04**
AST (U/l)	78,67 ± 10,46	124,0 ± 37,38	106,1 ± 19,42	101,0 ± 22,21	75,00 ± 14,91**
ALT (U/l)	40,45 ± 9,29	49,00 ± 6,16	45,44 ± 12,76	40,80 ± 7,36	41,00 ± 7,98

Os valores estão expressos como média ± d.p. (n = 5-11). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett, **p<0,01 comparados à solução tween 80 12 %.

Tabela 15. Efeito da administração oral do EEtOH e da FaHex obtidos de *X. langsdorffiana* durante 14 dias sobre os parâmetros hematológicos de ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Parâmetros	Tratamentos				
Hematológicos	Sham	Tween 80 12 %	Cimetidina (100 mg/kg)	EEtOH (500 mg/kg)	FaHex (250 mg/kg)
Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)	7,74 ± 0,33	7,50 ± 0,39	7,42 ± 0,31	7,13 ± 0,93	7,13 ± 0,45
Hemoglobina (g/dL)	14,50 ± 0,57	13,91 ± 0,66	14,10 ± 0,57	13,50 ± 1,22	13,21 ± 0,87
Hematócrito (%)	43,11 ± 2,25	41,53 ± 2,17	42,08 ± 2,11	40,88 ± 3,05	39,51 ± 2,60
VCM (μ^3)	55,66 ± 1,79	55,43 ± 2,20	56,71 ± 1,28	56,28 ± 1,33	55,41 ± 1,89
HCM (μg)	18,75 ± 0,45	18,60 ± 0,74	19,03 ± 0,37	19,05 ± 0,90	18,50 ± 0,33
CHCM (%)	33,70 ± 0,57	33,54 ± 0,29	33,49 ± 0,69	33,03 ± 0,73	33,46 ± 0,65
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	8,47 ± 1,51	9,68 ± 1,51	10,48 ± 1,53	8,00 ± 1,67	9,28 ± 1,01
Neutrófilo (%)	21,00 ± 5,10	31,00 ± 5,35	23,88 ± 4,82*	29,50 ± 5,43	29,00 ± 4,80
Eosinófilo (%)	1,00 ± 0,00	1,86 ± 0,90	1,33 ± 0,50	1,17 ± 0,41	1,00 ± 0,00
Monócitos (%)	4,33 ± 1,80	5,40 ± 1,51	5,67 ± 1,41	3,75 ± 1,47	3,64 ± 1,80

Os valores estão expressos como média ± d.p. (n = 6-11). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett, *p<0,05 comparados à solução tween 80 12 %.

Discussão

5 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, a importância dos organismos vegetais como fontes de substâncias detentoras de atividades biológicas reativaram interesses sociais e econômicos, superando obstáculos e incentivando a percepção das lideranças industriais que se ocupavam, quase que exclusivamente, da fabricação de produtos sintéticos (BRAZ-FILHO, 2010).

Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, pouco tem sido o acesso à utilização de medicamentos industrializados por grande parte da população (VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005) e, assim, as plantas têm exercido um papel chave nos cuidados com a saúde, contribuindo de forma essencial para o tratamento de doenças (CALIXTO, 2000).

Na medicina tradicional, várias espécies vegetais têm sido usadas para tratar distúrbios gastrintestinais, incluindo úlceras pépticas (CALVO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2008; SILVA et al., 2009), tendo destaque para os extratos, constituindo uma das fontes mais atrativas para produção de novos medicamentos, uma vez que apresentaram resultados promissores no tratamento dessas injúrias gástricas (BORRELLI; IZZO, 2000).

A pesquisa com produtos naturais com propriedade antiulcerogênica é incentivada e justificada por ser, a úlcera péptica, uma afecção crônica de incidência mundial relevante, quase sempre recorrente e que, normalmente, requer uma intervenção terapêutica e/ou cirúrgica, o que pode acarretar transtornos financeiros para o usuário e também para o sistema de saúde (BATISTA, 2003).

A matéria-prima utilizada na produção dos medicamentos, na maioria das vezes, é importada, tornando os fármacos cada vez mais dispendiosos, além de existir a possibilidade de desencadeamento de reações adversas no usuário, em decorrência da utilização dessas substâncias sintéticas. Aliado a isto, não existe no mercado farmacêutico nenhum produto com 100% de eficácia, podendo apresentar efeitos limitados nos tratamentos. Dessa forma, as plantas são fontes de constituintes químicos potencialmente ativos, o que representa uma grande oportunidade para a descoberta de novos fármacos (BATISTA, 2003).

Os metabólitos secundários das plantas como flavonóides, terpenos e taninos podem ser considerados substâncias ativas contra injúrias, atuando como fatores de

proteção da mucosa gástrica ou acentuando a atividade antioxidante (REPETTO; LLESUY, 2002).

Embora o modo de ação desses compostos, em especial, dos diterpenos ainda não tenha sido bem esclarecido, estudos sugerem que promovem proteção da mucosa gástrica, principalmente, por mecanismos que acentuam os fatores defensores do estômago (RODRÍGUEZ et al., 2006), incluindo a estimulação da síntese das prostaglandinas, o aumento da produção de muco e a supressão da secreção de ácido gástrico (HIRUMA-LIMA et al., 1999; HIRUMA-LIMA et al., 2002).

Diante dessas considerações, o presente trabalho foi realizado com o intuito de investigar a toxicidade e as atividades gastroprotetora e cicatrizante da espécie vegetal *X. langsdorffiana* em modelos animais, avaliando assim o efeito do EEtOH e da FaHex obtidos das folhas desta planta, em modelos de indução aguda de lesões gástricas por HCl/etanol (triagem farmacológica), etanol absoluto, estresse por imobilização e frio, AINEs (piroxicam) e contensão da secreção gástrica (ligadura do piloro), modelos estes que mimetizam as principais causas de úlcera no homem. Foram também avaliadas as interferências das referidas amostras sobre os parâmetros bioquímicos do suco gástrico, ainda no modelo de ligadura do piloro, além da realização de modelos elucidativos de mecanismos de ação envolvidos na gastroproteção e da avaliação da cicatrização da úlcera gástrica induzida por ácido acético.

O uso milenar de plantas medicinais mostrou que determinadas espécies vegetais apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, pesquisas mostraram que muitas delas possuem agentes químicos agressivos e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos (VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Esses riscos podem ser avaliados por meio de estudos toxicológicos pré-clínicos, sejam eles *in vitro* ou *in vivo* e estudos clínicos, subdivididos em fases (1-4). Dentro dos estudos toxicológicos pré-clínicos destaca-se o bioensaio com *Artemia salina* Leach, um microcrustáceo da família Artemiidae pertencente à classe Anostraceae, de fácil cultivo e estudo, sendo encontrado em águas salinas e salobras de todo o mundo (CALOW, 1993).

A. salina possui similaridades com células de mamíferos uma vez que realiza metabolismo de purinas e possui DNA e RNA polimerase. Esse ensaio é utilizado para uma avaliação toxicológica preliminar de extratos, frações ou compostos

oriundos de plantas (McLAUGHLIN; ROGERS; ANDERSON, 1998; AJAIYEOBA et al., 2006; PIMENTEL-MONTANHER et al., 2002), sendo caracterizado como um modelo simples, rápido e de baixo custo o que favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos de biomonitoramento (LUNA et al., 2005).

Na avaliação da toxicidade de produtos naturais usando o bioensaio com *A. salina*, valores de CL_{50} menores que 1000 $\mu\text{g/mL}$ sugerem que os produtos sejam bioativos (MEYER et al., 1982). Sendo assim, os resultados expressos no gráfico 1 e na tabela 1 ($CL_{50} = 611,8 \mu\text{g/mL}$) demonstraram que o extrato etanólico de *Xylopia langsdorfiana* apresenta bioatividade frente ao ensaio com o microcrustáceo, sugerindo, portanto, a presença de importantes substâncias bioativas no mesmo.

Em se tratando dos estudos pré-clínicos *in vivo*, a toxicidade aguda é um dos principais testes com o qual é possível observar sinais de intoxicação, determinar a DL_{50} conforme preconizado pela RE 90 (2004) e definir doses a serem usadas em estudos posteriores.

A triagem farmacológica comportamental foi realizada utilizando a metodologia padronizada por Almeida et al. (1999) com o objetivo de identificar alterações no SNC e SNA, pelo registro de alguns sinais ou alterações de condutas apresentados pelos animais, após serem tratados com o extrato (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006). Foi observado que o EEtOH-XI administrado na dose única de 2000 mg/kg, v.o. (OECD, 2001) induziu irritabilidade e hiperatividade apenas nos camundongos fêmeas, quando comparado ao respectivo grupo controle 10 mL/kg (tween 80 12 %), e esses sinais foram revertidos na 3ª hora após o tratamento, sugerindo uma ação no SNC, sendo os dados insuficientes para inferir toxicidade ao extrato.

Quando investigados o consumo de ração e de água pelos animais, foi observado um aumento no consumo de ração pelas fêmeas e de água pelos machos (Tabela 2). Apesar de serem parâmetros importantes no estudo da segurança de um produto com finalidade terapêutica (IVERSEN; NICOLAYSEN, 2003), não se pode inferir toxicidade ao extrato.

Além desses parâmetros, alterações no peso corporal e no peso dos órgãos podem ser um indicador de efeitos adversos promovidos pela droga. É considerado um sinal de toxicidade quando o animal perde mais que 10% do peso corpóreo inicial (RAZA et al., 2002; TEO et al., 2002).

Na avaliação ponderal observou-se um aumento no peso das fêmeas ao término do ensaio agudo, o que corrobora com o resultado anterior, onde se constatou um aumento na ingesta de ração pelas fêmeas tratadas com o EEtOH-XI (Tabela 2).

Alterações na massa relativa dos órgãos possui uma estreita relação com sinais de toxicidade conforme descrito por Dallegrave (2003). Na perspectiva de se comprovar essa teoria, o peso dos órgãos foi avaliado ao término do ensaio de toxicidade aguda e foi observado que o EEtOH-XI não ocasionou mudança significativa nesse parâmetro, quando comparado ao grupo controle (tween 80 12 %) (Tabela 2). Além disso, o extrato não causou mortes durante os 14 dias de estudo, impossibilitando a determinação da DL₅₀.

Apesar das alterações observadas, nas condições relatadas, não é possível inferir toxicidade ao extrato, uma vez que se tornam necessários experimentos complementares para tal conclusão. Dessa maneira, é possível sugerir que o EEtOH de *Xylopia langsdorffiana* na dose única de 2000 mg/kg apresentou baixa toxicidade, nas condições avaliadas, o que confere segurança na continuidade do estudo, passando a ser investigada as propriedades farmacológicas da espécie em questão, destacando-se a atividade gastroprotetora.

Considerando a não ocorrência de morte dos animais na dose de 2000 mg/kg (v.o.) e, conseqüentemente, a impossibilidade de determinação da DL₅₀, foi possível estabelecer as doses de 62,5; 125; 250 e 500 mg/kg para o EEtOH e a FaHex, a fim de prosseguir com a pesquisa da atividade gastroprotetora e cicatrizante. A escolha das doses encontra-se respaldada no que foi preconizado por Souza-Brito (1994), em que os extratos brutos e seus derivados devem ser testados, em estudos farmacológicos, em doses menores que 1000 mg/kg.

A avaliação do efeito gastroprotetor de *Xylopia langsdorffiana* foi iniciada por meio de uma triagem farmacológica preliminar utilizando como agente lesivo o etanol acidificado, em camundongos. A administração oral de solução de HCl/EtOH ocasiona lesões necrotizantes na mucosa gástrica por diminuir a proteção promovida pela camada de muco e aumentar a secreção ácida (MIZUI; DOTEUCHI, 1983; LIMA et al., 2009). Há também a geração de radicais livres (RODRÍGUEZ et al., 2006) que causam estresse oxidativo e peroxidação lipídica, podendo, levar à fragmentação do DNA (GONÇALES et al., 2001; LIMA et al., 2009).

Esse modelo avalia a habilidade da amostra vegetal em proteger a mucosa gástrica contra danos agudos. Os resultados obtidos na triagem farmacológica mostraram que o EEtOH, nas doses de 62,5, 125, 250 e 500 mg/kg, inibiu as lesões gástricas provocadas por HCl/Etanol (Tabela 3), possibilitando a continuidade do trabalho, utilizando outros modelos de indução aguda de úlceras.

A partir desse resultado, o próximo passo foi avaliar se o extrato e a fase protegem a mucosa gástrica de injúrias ocasionadas por etanol absoluto.

É muito comum utilizar o etanol, experimentalmente, bem como outros agentes lesivos, para ocasionar úlceras em ratos (NGUELEFACK et al., 2008; RAO et al., 2008) e avaliar a atividade gastroprotetora de produtos naturais (UMAMAHESWARI et al., 2007). Esse agente lesivo ocasiona danos às células e distúrbios no fluxo sanguíneo (BRZOZOWSKI, 2003; LIMA et al., 2009), provocando edema agudo do tecido, hemorragias subepiteliais, esfoliação celular, degranulação de mastócitos com liberação de histamina, infiltração de células inflamatórias (neutrófilos) com geração de espécies reativas de oxigênio (PARK et al., 2004; KWIECIEN; BRZOZOWSKI; KONTUREK, 2002; LIMA et al., 2008), especialmente aumento na produção de superóxido e radicais hidroxila, induzindo dano oxidativo por peroxidação lipídica (REPETTO; LLESUY, 2002).

Como consequência de sua extrema reatividade química, as EROs causam alterações graves, que podem culminar em morte celular (SALIM, 1991; BHARTI; WAHANE; KUMAR, 2010). Em nível molecular, essas espécies reativas atacam os componentes celulares essenciais, como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, o que pode causar a perda de sua função biológica e formação de compostos tóxicos (KAHARAMAN et al., 2003; INEU et al., 2008).

Após a absorção pelo estômago e pela parte superior do intestino, o etanol é oxidado à acetaldeído, um metabólito altamente tóxico que tem habilidade de se complexar à glutathione, diminuindo a disponibilidade deste antioxidante não enzimático (SALASPURO, 2003).

No modelo de indução aguda de úlceras por etanol em ratos, o EEtOH e a FaHex de *X. langsdorffiana*, nas doses anteriormente definidas, inibiram o ILU de forma significativa, em comparação com seus respectivos controles negativos, sugerindo, portanto, atividade gastroprotetora à espécie (Tabela 4). Entretanto, por se tratar de um modelo inespecífico, com o efeito gastroprotetor promovido pelas amostras vegetais podendo ter relação com o aumento do fluxo sanguíneo,

estimulação da produção de muco e bicarbonato ou ainda por uma possível atividade antioxidante.

Passou-se a investigar a influência do EEtOH-XI e da FaHex-XI sobre os reflexos vagovagais e sobre a redução de fatores citoprotetores, por meio dos modelos de indução aguda de úlceras por estresse (imobilização e frio) e por AINEs (piroxicam), respectivamente.

É relevante a sensibilidade do TGI, destacando o estômago, aos diversos estímulos estressantes (FILARETOVA, 2006), como choque séptico, queimaduras, traumas severos, estados pós-cirúrgico ou alterações psíquicas, resultando em lesões agudas na mucosa gástrica (GLAVIN; SZABO, 1992; HAMAGUCHI et al., 2001). Sendo assim, o estresse, como fator etiológico, pode ajudar a explicar a crescente tendência ao desenvolvimento e complicações da úlcera gástrica (SANTOS, 2008).

Em situações de estresse ocorre estimulação do sistema nervoso simpático (SNS) e parassimpático (SNP). O estímulo do SNP aumenta a motilidade com consequente acentuação da contração do músculo gastrintestinal, levando a isquemia mucosal e aumento da secreção de ácido. A estimulação simpática promove vasoconstrição arteriolar, por ativação de receptores α_1 , ocasionando redução significativa do fluxo sanguíneo, promovendo hipóxia local e isquemia, que gera EROs, peroxidação lipídica e depleção do conteúdo de glutatona (GUTH; PAULSEN; NAGATA, 1984; BANDYOPADHYAY et al., 2001).

As EROs diminuem os níveis de PGs resultando no aumento da produção das citocinas pró-inflamatórias fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 1β (IL- 1β), que induz um aumento na expressão da molécula de adesão 1 (ICAM-1), principais responsáveis pela infiltração de neutrófilos na mucosa gástrica (HAMAGUCHI et al., 2001; ODASHIMA et al., 2005).

O estresse por imobilização e frio leva a alterações no SNC, causando aumento na secreção e motilidade gástrica dependente do nervo vago e mediado pela secreção do hormônio liberador de tireotrofina (TRH). Este hormônio em associação com a diminuição da temperatura corporal, durante o estresse, promove liberação do hormônio estimulante da tireóide ou tireotrofina (TSH) (TAKEUCHI et al., 1999; TANAKA et al., 2007b).

Os danos ao estômago de animais ocasionados por estresse podem ter a participação do sistema neuroimunoendócrino, que estimula o sistema nervoso

autônomo (BANDYOPADHYAY et al., 2001), ativa o eixo hipotalâmico-pituitária-adrenal (HPA) (PRUETT, 2003; FILARETOVA, 2006) e estimula o sistema termogênico no cérebro (TANAKA et al., 2007b), resultando na modulação do sistema imune e, conseqüentemente, da resposta inflamatória (HAMAGUCHI et al., 2001; PRUETT, 2003; ODASHIMA et al., 2005; TANAKA et al., 2007b; FILARETOVA et al., 2007).

O envolvimento do eixo HPA é relativamente discutido e, até o momento, não há um consenso sobre o papel dos glicocorticóides na ulcerogênese, existindo dois pontos de vista. A idéia amplamente sustentada é que a ativação do eixo HPA, induzida pelo estresse, levando à liberação de glicocorticóides, constitui um fator ulcerogênico, sendo resultado da correlação positiva entre nível de cortisol induzido por estresse e ulceração gástrica (WEISS, 1971; MURPHY; WIDEMAN; BROWN, 1979), constatada a partir de dados experimentais (BLACK, 1988; KUWAYAMA; MATSUO; EASTWOOD, 1991; CARPANI DE KASKI et al., 1995) e clínicos (GRAY; BENSON; REIFENSTEIN, 1951; WEUSTEN; JACOBS; BIJLSMA, 1993).

Por outro lado, vários estudos sustentam a idéia de que glicocorticóides liberados durante a ativação do eixo HPA por alguns estímulos danosos à mucosa, atuam como gastroprotetores, promovendo múltiplas ações, incluindo manutenção da homeostase de glicose, do fluxo sanguíneo na mucosa gástrica, produção de muco e atenuação da motilidade gástrica e permeabilidade microvascular (SZABO et al., 1983; TAKEUCHI et al., 1989; HERNANDEZ; GLAVIN, 1990; FILARETOVA et al., 1999, 2001, 2002, 2003, 2004; 2006). Além disso, esses hormônios podem exercer um papel gastroprotetor compensatório nos casos de comprometimento de mecanismos protetores da mucosa promovidos pelo NO e PGs (FILARETOVA et al., 2007). Dessa forma, há um indicativo de que a ativação do eixo HPA pode ser considerada um importante fator citoprotetor, de forma contrária ao paradigma tradicional (FILARETOVA et al., 2007).

Conforme tem sido descrito na literatura, os distúrbios vasculares, o aumento da secreção de ácido e da liberação de histamina por degranulação de mastócitos, em conjunto com a geração de EROs inativam a síntese de PGs, culminando na perda da citoproteção, sendo, assim, essenciais para a geração de úlceras gástricas por estresse (BANDYOPADHYAY et al., 2001; HIRUMA-LIMA et al., 2006b).

No modelo experimental de úlcera gástrica induzida por estresse (imobilização e frio), o EEtOH e a FaHex nas doses avaliadas preveniram o

desenvolvimento das lesões gástricas (Tabela 5), sugerindo portanto que a atividade gastroprotetora de *X. langsdorffiana* pode ser atribuída a uma possível regulação da secreção ácida, por meio do controle na produção excessiva do ácido ou da inibição ou bloqueio de receptores ou devido ao aumento da produção de muco e bicarbonato, restabelecendo o fluxo sanguíneo e/ou impedindo a depleção de componentes antioxidantes endógenos por diminuir ou impedir a formação de radicais livres.

A próxima etapa do presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das amostras vegetais de *X. langsdorffiana* em úlceras induzidas por antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam).

Apesar do estilo de vida estressante contribuir para o desenvolvimento da úlcera gástrica, tem-se também associado a essa doença, o aumento no consumo de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (AINEs) (RIBEIRO; SEVALHO; CÉSAR, 2006), como indometacina e piroxicam.

Piroxicam, um membro da família oxicam e inibidor preferencial de COX-1, é amplamente utilizado, com eficácia comprovada em pacientes com diagnóstico confirmado de osteoartrite (BJORKENHEIM; HELLAND, 1985; WATERWORTH; WATERWORTH; TAYLOR, 1985; ZIZIC; SUTTON; STEVENS, 1985; VILLEGAS et al., 2004). Ele tem exibido atividade antiinflamatória, analgésica e antipirética, mas acarreta lesões hemorrágicas na mucosa gástrica em cerca de 20% dos pacientes com osteoartrite (BOHL; GAUSSMAN; VORBERG, 1990; VILLEGAS et al., 2004).

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

A ação citotóxica local dos AINEs compreende a diminuição da secreção de muco e bicarbonato (PHILLIPSON et al., 2002; BAUMGARTNER et al., 2004), causando injúrias severas à camada de fosfolipídios que recobre a superfície da mucosa (LICHTENBERGER et al., 2006) o que resulta na retrodifusão dos íons H^+ sobre às células mucosas e, como consequência, há a ocorrência dos danos pelo ácido (WALLACE, 2008).

O efeito sistêmico dos AINEs, levando ao desenvolvimento das lesões gástricas, tem relação com a sua capacidade de suprimir síntese de PGs, via inibição não seletiva das COX-1 e 2 (GUDIS; SAKAMOTO, 2005; AKARCA, 2005; WALLACE, 2008). Esse efeito na mucosa gástrica é decorrente também de

mecanismos independentes de COX, como disfunção mitocondrial pela redução da fosforilação oxidativa na mitocôndria, por inibição de cinases, ativação de apoptose (HUSAIN et al., 2001), por produção de leucotrienos, com consequente infiltração de neutrófilos (BIAS et al., 2005) e o comprometimento da renovação celular (FIORUCCI; ANTONELLI; MORELLI, 2001; PASTORIS, 2008).

Essa inibição das COXs via AINEs induz a supressão de prostaglandinas, em especial PGE₂ e prostaciclina PGI₂. A formação de prostaciclina pelo endotélio da microcirculação da mucosa é altamente relevante para assegurar uma inibição tônica da adesão de neutrófilos. Portanto, ao bloquear a biossíntese de prostaglandinas, os AINEs alteram o equilíbrio da mucosa, induzindo o recrutamento e adesão endotelial dos neutrófilos (RODRIGUEZ-TELLEZ et al., 2001; WHITTLE, 2002; BLANDIZZI et al., 2009).

Uma vez aderidos, neutrófilos obstruem a microcirculação, causando uma diminuição local no fluxo sanguíneo da mucosa e liberação de mediadores inflamatórios, incluindo enzimas proteolíticas e leucotrienos, que aumentam o tônus vascular, agravam a isquemia tecidual, estimulam a produção de EROs e promovem a destruição da matriz intestinal, levando a um grau severo de necrose tecidual, particularmente na presença de um baixo pH luminal (WHITTLE, 2002; JIMÈNEZ et al., 2004; BLANDIZZI et al., 2009).

A combinada ativação de mecanismos dependentes e independentes de COX causa lesão do tecido por marcado dano oxidativo (produção excessiva de radicais livres (UTSUMI et al., 2006), que parece desempenhar um papel importante na fisiopatologia da úlcera induzida por AINEs (HIRAISHI; SHIMADA; TERANO, 2000). Daí a necessidade de agentes antiulcerogênicos com propriedades antioxidantes.

No modelo de indução de úlcera por AINEs constatou-se que o EEtOH-XI (125, 250 e 500 mg/kg) e a FaHex (62,5, 125, 250 e 500 mg/kg) inibiram de forma significativa as lesões gástrica induzidas por piroxicam (Tabela 6), sugerindo que *X. langsdorffiana* apresenta atividade gastroprotetora via mecanismos citoprotetores, visto que as lesões promovida por AINEs envolvem, principalmente, a inibição das PGs, principais mediadores da citoproteção na mucosa gástrica.

A partir dos resultados promissores obtidos nos diferentes modelos experimentais, a etapa seguinte foi selecionar a melhor dose do extrato e da fase obtidos de *X. langsdorffiana* para a elucidação dos prováveis mecanismos de ação ligados a atividade gastroprotetora. Para isso foi escolhido o modelo de etanol

devido a seus amplos mecanismos de indução de lesões gástricas, além de ser um modelo simples e com garantia de reprodutibilidade. A dose mais efetiva para o EEtOH foi de 500 mg/kg e para a FaHex, 250 mg/kg.

Levando em consideração a atividade gastroprotetora da *X. langsdorffiana*, o próximo passo foi investigar a ação das amostras vegetais sobre a secreção gástrica por meio dos parâmetros bioquímicos (pH, concentração de H^+ e volume do suco gástrico), bem como avaliar o ILU induzido pela ligadura de piloro.

A inibição da secreção ácida tem destaque na proteção dos tecidos gástricos (BANDYOPADHYAY et al., 2002; KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005), uma vez que ao ocorrer a sobreposição dos níveis de ácido sobre os mecanismos de defesa da mucosa, há a formação de úlceras (SCHUBERT, 2004). Embora vários mecanismos estejam envolvidos na patogênese da úlcera gástrica induzida por ligadura pilórica, acredita-se que a secreção e acumulação de ácido gástrico, em consequência dos reflexos vagovagais promovidos pelo estímulo dos mecanorreceptores presentes na mucosa antral, durante a amarradura do piloro, sejam os fatores mais importantes (MUTHURAMAN; SOOD, 2010).

Além do acúmulo de ácido, há o aumento na produção de pepsina, neste modelo, podendo conduzir a um processo de autodigestão e ulceração da mucosa gástrica (SHAY et al., 1945; GOEL; BHATTACHARYA, 1991; BHARTI; WAHANE; KUMAR, 2010).

A ligadura do piloro interfere na resistência da mucosa gástrica e altera o nível de prostaglandinas, citocinas e glutathione endógena, levando a peroxidação lipídica (SINGH; KHAJURIA; TANEJA, 2008). Neste modelo de indução de úlceras, também é observado o aumento do nível de cálcio, que por sua vez é um conhecido gerador de radicais livres (MUTHURAMAN; SOOD, 2010). Estes aumentos nos níveis de cálcio e espécies radicalares são grandes indutores de lesão tecidual e úlcera péptica (LUTNICKI et al., 2006; RAINSFORD, 1999). A geração de radicais livres em excesso provoca várias alterações bioquímicas, podendo ser indicadas pelo aumento nos níveis de TBARS, cálcio e atividade da mieloperoxidase (MPO), mas por um decréscimo no nível de GSH (MUTHURAMAN; SOOD, 2010).

Um estudo recente identificou a presença de um diterpeno abietano, plectrinona A, no extrato de folhas de *Plectranthus barbatus* e mostrou seu efeito inibitório sobre a H^+-K^+ -ATPase, reduzindo a secreção ácida, caracterizando o potencial antiúlcera dessa planta (SCHULTZ et al., 2007). O óleo essencial de

Plectranthus grandis, rico em cariofileno, foi recentemente demonstrado possuir atividade antioxidante (ALBUQUERQUE et al., 2006). Uma vez que estudos anteriores demonstraram a propriedade gastroprotetora de diversos diterpenos (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2002; MELO et al., 2003; RODRÍGUEZ et al., 2006), espera-se que a espécie *X. langsdorffiana* apresente perfil gastroprotetor por mecanismos similares.

Em tal modelo tanto a administração oral quanto a intraduodenal do EEtOH-XI (500 mg/kg) e FaHex-XI (250 mg/Kg) reduziram significativamente o índice de lesão ulcerativo induzido pela contensão da secreção gástrica (Tabela 7 e 8). No entanto, não alteraram nenhum dos parâmetros bioquímicos avaliados do suco gástrico (pH, concentração de H^+ e volume do suco gástrico) quando comparado ao grupo controle negativo, em ambos os tratamentos (v.o. e i.d.), como exposto nas Tabelas 9 e 10. Entretanto, no grupo dos animais que recebeu a cimetidina, como esperado, foi observado aumento do pH, redução da concentração de íons H^+ e do volume gástrico (este apenas para o tratamento v.o.). No caso do controle positivo cimetidina, apesar de não ter alterado o volume do conteúdo gástrico (via i.d.), foi observado um efeito inibitório da secreção ácida pela observação conjunta do aumento significativo do pH somado à diminuição da concentração de H^+ .

Diante dos dados obtidos, pode-se sugerir que a gastroproteção promovida pelo EEtOH-XI e FaHex-XI não esteja ligada a mecanismos antissecretórios, nas condições avaliadas. Todavia, faz-se necessário executar estudos complementares como o ensaio enzimático da bomba de prótons (H^+, K^+ -ATPase) e o modelo de atividade antissecretória utilizando os secretagogos pentagastrina, betanecol e histamina, para corroborar esses resultados.

As plantas têm mostrado seus benefícios à mucosa gástrica, por meio de suas propriedades citoprotetoras (GRAHAM; SMITH; OPEKUN, 1988; MAROTTA; FLOCH, 1991; AL-MOFLEH, 2010), destacando-se mecanismos antioxidantes, sequestradores de EROs (AL-MOFLEH, 2010). Na perspectiva de compreender os mecanismos envolvidos na ação gastroprotetora promovida pelo EEtOH e pela FaHex de *Xylopiia langsdorffiana*, foram executados modelos experimentais a fim de se investigar a participação do muco, dos grupamentos sulfidrilas e do óxido nítrico frente a esta atividade farmacológica.

As células mucosas produzem muco viscoso e aderente, além de bicarbonato, cobrindo o epitélio como uma camada contínua, impedindo a

retrodifusão de íons H^+ na mucosa gástrica e possibilitando a neutralização da acidez luminal (SATYANARAYANA, 2006). Esse gel gástrico é um importante fator de proteção no TGI, com habilidade de atuar como agente antioxidante e reduzir danos à mucosa gástrica, mediados por espécies reativas de oxigênio. Quando as células mucosas são danificadas pelas EROs o muco intracelular pode ser liberado para o tecido gástrico e, assim, evita danos adicionais à parede gástrica por eliminação desses radicais livres (BERENGUER et al., 2007).

Ao avaliar o envolvimento do muco aderido à mucosa, foi observado que a FaHex-XI não aumentou os níveis desse fator de citoproteção (Gráfico 2), sugerindo, então, que a atividade gastroprotetora da FaHex-XI não tem ligação com o aumento na produção desse agente protetor.

O envolvimento dos grupamentos SHs, importantes agentes citoprotetores, também foi investigado. Os grupos sulfidrílicos são classificados em protéicos (composto de peptídeos de baixo peso molecular como a glutathione na sua forma reduzida-GSH) e não protéicos (composto das proteínas de alto peso molecular, como a glutathione complexada a albumina) (FAURE; LAFOND, 1995; JORDÃO-JÚNIOR et al., 1998).

A GSH nos tecidos tem sido considerada um potente agente protetor devido às suas propriedades antioxidantes e de desintoxicação (MUTHURAMAN; SOOD, 2010), atuando na prevenção de danos ao tecido gástrico, juntamente com outros mecanismos de defesa antioxidante (vitaminas A, C, E, melatonina, enzimas antioxidantes), mantendo baixos os níveis celulares de EROs (SIES, 1997; AJAIKUMAR, 2005).

Para que a atividade protetora da glutathione expressa pela redução de espécies oxidantes, e conseqüente oxidação da GSH à glutathione oxidada (GSSG) seja mantida, a GSH precisa ser regenerada pelo ciclo catalítico, que envolve três grupos de enzimas: a glutathione oxidase (GO), a glutathione peroxidase (GSH-Px) e a glutathione redutase (GR). As duas primeiras enzimas, GO e GSH-Px, catalisam a oxidação de GSH à GSSG e a última, GR, é responsável pela regeneração de GSH, a partir de GSSG, na presença de NADPH, que atua como co-fator (HUBER; ALMEIDA; DE FÁTIMA, 2008). Assim, a GSH exerce um papel chave na proteção das células epiteliais gástricas sobre as lesões induzidas por etanol (REPETTO; LLESUY, 2002).

Uma forma de investigar a participação dos grupamentos SHs é utilizando o N-etilmaleimida (NEM), um agente bloqueador desses grupamentos, que potencializa as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol (RASTOGI; PATNAIK; DIKSHIT, 1998; MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

A participação dos grupamentos SHs na proteção da mucosa gástrica de *X. langsdorffiana*, foi verificado por meio do modelo de indução aguda de úlcera com etanol absoluto, na ausência e na presença de NEM. Neste experimento o EEtOH (500 mg/kg, v.o.) e a FaHex (250 mg/kg, v.o.) inibiram de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas por etanol absoluto, tanto na ausência quanto na presença de NEM, havendo diferença significativa entre os grupos pré-tratados com tween 12 % e com NEM (Gráficos 3 e 4), sugerindo que o efeito gastroprotetor fornecido pelo EEtOH e pela FaHex dependa da produção e/ou presença dos compostos SHs, sendo constatado que substâncias que possuem atividade antioxidante desempenham um papel importante no tratamento da úlcera péptica (AL-MOFLEH, 2010).

Na perspectiva de avaliar outro mediador endógeno ligado ao possível mecanismo citoprotetor de *X. langsdorffiana*, passou-se a investigar o envolvimento do NO na gastroproteção fornecida pelo extrato e fase.

A molécula de óxido nítrico é um agente vasoativo que apresenta uma meia-vida curta sendo produzida pela enzima sintase de óxido nítrico (NOS) (LOIBL et al., 2006). Estudos indicam que o NO desempenha um papel central em processos defensivos da mucosa por regulação do fluxo sanguíneo gástrico pela dilatação dos vasos sanguíneos (CALVO et al., 2007) e por reduzir a lipoperoxidação (ANCHÁ et al., 2003), buscando manter a integridade do epitélio.

O NO também participa da cicatrização de úlceras, estimulando a formação de fatores de crescimento (GYIRES, 2005) via liberação do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), promovendo a angiogênese e cicatrização da úlcera (MILLER; WALLACE, 2000; WALLACE, 2008). O NO protege a mucosa gástrica de lesões induzidas por etanol e endotelina e a inibição da enzima NOS por L-NAME, resulta no decréscimo desse mediador endógeno e, conseqüentemente, no aumento da lesão na mucosa estomacal (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

Com o intuito de investigar a hipótese da participação do NO na proteção gástrica, foi realizado o modelo agudo de úlcera induzida por etanol em ratos, na ausência e na presença de L-NAME, um inibidor da enzima NOS. Assim, foi

observado que o EEtOH (500 mg/kg, v.o.) e a FaHex (250 mg/kg, v.o.) inibiram de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas por etanol absoluto, tanto na ausência quanto na presença de L-NAME, uma droga bloqueadora da síntese de NO, havendo diferença significativa entre os grupos pré-tratados com tween 12 % e com L-NAME (Gráficos 5 e 6), havendo uma exacerbação do ILU neste último grupo, o que leva a sugerir que o NO, provavelmente, também está envolvido na gastroproteção promovida por *X. langsdorffiana*.

Considerando os resultados apresentados até o momento, é possível sugerir que a gastroproteção promovida por *X. langsdorffiana* envolva a participação dos grupamentos sulfidrilas e do NO.

Essa atividade farmacológica pode ser atribuída a compostos derivados de isoprenóides, em especial os diterpenos que caracterizam essa espécie, visto que essas substâncias têm apresentado, em estudos anteriores, significativas e variadas atividades biológicas, dentre elas a antiulcerogênica (MATSUDA et al., 2003).

Mediante a relevância dos resultados anteriores do EEtOH e da FaHex de *Xylopi langsdorffiana* passou-se a investigar a propriedade cicatrizante dessas amostras, em modelo de úlcera induzida por ácido acético. Este modelo, em ratos, é considerado o que mais se assemelha à úlcera no homem em termos de características patológicas e mecanismos de cicatrização, sendo de difícil tratamento, necessitando de tempo prolongado para sua cura (OKABE; AMAGASE, 2005).

Histologicamente, a úlcera consiste em duas estruturas principais: a margem formada pela mucosa adjacente não necrosada (componente epitelial), onde suas células expressam receptores para EGF caracterizando uma zona de cicatrização; e a base da úlcera, constituída pelo tecido de granulação, onde macrófagos e fibroblastos são encontrados (TARNAWSKI, 2005). A úlcera produzida pela ação do ácido acético é de natureza perfurativa e surge em decorrência da liberação de histamina, que aumenta a permeabilidade capilar e a retrodifusão de HCl (TAKAGI, OKABE; SAZIKI, 1969; UMAMAHESWARI et al., 2007).

A reepitelização é crucial na recuperação da mucosa gástrica após a ulceração. A cicatrização da lesão é um processo complexo e muito bem regulado, com finalidade de preenchimento da injúria gástrica por proliferação e migração de células epiteliais e do tecido conjuntivo (TARNAWSKI et al., 2001; INEU et al., 2008). Dessa forma, a cura das injúrias gástricas requer angiogênese no tecido de

granulação na base da úlcera, proliferação de células epiteliais nas margens e posterior restabelecimento da arquitetura glandular (WALLACE, 2008).

O processo de proliferação celular é dependente de fatores de crescimento como, o fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento de hepatócito (HGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador β (TGF- β), peptídeos e COX-2. Estes fatores são produzidos localmente e vão atuar via autócrina e/ou parácrina promovendo a divisão, migração celular, proliferação e reepitelização (TARNAWSKI, 2005).

Peskar (2005) verificou que a enzima COX-2 desempenha um importante papel na cicatrização de úlceras gástricas. O envolvimento direto da COX-2 na cicatrização de úlceras tem sido observado por uma “upregulation” da expressão do RNAm da COX-2 na margem da úlcera em relação ao aumento da proliferação celular epitelial e da expressão de fatores de crescimento (HALTER; SCHMASSMANN; PESKAR, 2001). A COX-2 produz prostanóides, como a prostaglandina E_2 que desempenha uma função importante na angiogênese, proliferação de células e cicatrização da mucosa gástrica (TSUJI et al., 2002; KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005; PHILLIPSON et al., 2008).

O NF- κ B, um importante fator de transcrição nuclear, que em resposta a vários estímulos é ativado e translocado para o núcleo onde promove a expressão de genes (KAWAI; AKIRA, 2007), está envolvido no controle de diversas funções celulares (TAKAHASHI; FUJITA; YAMAMOTO, 2001; MAITY et al., 2008), entre elas no processo de cicatrização da úlcera, onde foi observado que o seu bloqueio resultou em um prejuízo no reparo das injúrias gástricas (TAKAHASHI; FUJITA; YAMAMOTO, 2001). Estudos têm demonstrado que a supressão de NF- κ B leva à ativação de caspase-3 e, conseqüentemente, da via apoptótica em culturas primárias de células epiteliais gástricas infectados pelo *H. pylori* (KIM et al., 2003), e, mais recentemente, Maity et al. 2008, demonstraram que a indometacina ativa vias dependentes de caspase-3 para induzir a apoptose em células da mucosa.

Com a finalidade de avaliar se *X. langsdorffiana* estaria acelerando o processo de cicatrização da úlcera, o EEtOH (500 mg/kg, v.o.) e a FaHex (250 mg/kg, v.o.) foram administrados durante 14 dias após a indução da lesão por ácido acético, sendo possível observar que ambas as amostras reduziram

significativamente a ALU em cerca de 51% e 36%, respectivamente (Gráfico 7) sugerindo que *X. langsdorffiana* apresenta atividade cicatrizante.

Adicionalmente foram avaliados consumo de água e ração, peso corpóreo, peso dos órgãos, além dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, servindo como indicadores de possível toxicidade após 14 dias de tratamento com as amostras vegetais (CALVO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2008). Diante disso, foi observado que apenas o EEtOH (500 mg/kg, v.o.) promoveu aumento no consumo de água e ração, porém nem o EEtOH e nem a FaHex alteraram o peso corpóreo e dos órgãos dos animais tratados (Tabelas 11, 12 e 13).

O aumento no consumo de água pelos animais tratados com o extrato de *X. langsdorffiana* pode estar relacionado à atividade hipotensora e diurética promovida por diterpenos existentes em espécies pertencentes ao gênero *Xylopi*a (SOMOVA et al., 2001).

A determinação do consumo de água e ração é importante no estudo de segurança de um produto com finalidade terapêutica, pois a ingestão adequada de água e nutrientes são essenciais para a manutenção do estado fisiológico dos animais e para se ter uma resposta adequada à droga teste (STEVENSON; MYLECRAINE, 1994; IVERSEN; NICOLAYSEN, 2003; FÉRES et al., 2006).

Com relação aos parâmetros bioquímicos, foi constatada diminuição significativa da AST e de ácido úrico quando comparados ao grupo controle negativo (solução tween 80 12%). Já para os parâmetros hematológicos não foi observada nenhuma alteração (Tabelas 14 e 15).

A avaliação bioquímica torna-se importante, porque a toxicidade hepática e renal têm sido relatadas após o uso prolongado de produtos fitoterápicos (CORNIS, 2003; HILALY; EL ISRAILI; LYOUSSEI, 2004; ISNARD et al., 2004; SAAD et al., 2006), o que torna indispensável sua avaliação.

As transaminases (ALT e AST) são enzimas utilizadas como biomarcadores de eventual toxicidade hepática (RAHMAN; SIDDIQUI; JAMIL, 2001; HILALY; EL ISRAILI; LYOUSSEI, 2004; MUKINDA; SYCE, 2007). A ALT está localizada principalmente no citosol dos hepatócitos e é considerada um marcador mais sensível ao dano hepatocelular quando comparada a AST que é encontrada no citoplasma e mitocôndrias de diferentes tecidos, principalmente no coração e nos músculos esqueléticos, fígado, rins, pâncreas e eritrócitos (CHAVES; SILVA, 1998; ANIAGU et al., 2004; OBICI et al., 2008).

O aumento da AST pode ser devido à liberação de enzimas das células do órgão danificado ou a uma alteração na permeabilidade da membrana celular. No entanto, foi vista uma diminuição dos valores da AST nos grupos que receberam a FaHex-XI, resultado este também descrito para algumas plantas ricas em substâncias detentoras de atividade antioxidante (SINGAB et al., 2005; WU et al., 2006).

A determinação de uréia, creatinina e ácido úrico são críticos como marcadores da função renal (NEWMAN; PRICE, 1999). A diminuição do ácido úrico promovida pela FaHex-XI pode estar relacionada à substâncias que possuem habilidade para inibir a ação da enzima xantina oxidase, reduzindo a síntese de ácido úrico (PEREIRA, 2002) ou à propriedades antioxidantes dos constituintes dessa amostra, pois na literatura há relatos de que animais hiperuricêmicos tratados com rutina, um polifenol com potente poder antioxidante, apresentaram uma diminuição nos níveis de ácido úrico (ZHU et al., 2004).

Essas alterações isoladas nos parâmetros bioquímicos podem não apresentar correlações clínicas (PALMEIRO et al., 2003; HILALY; EL ISRAILI; LYOUSSEI, 2004; KANJANAPOTHI et al., 2004; OBICI et al., 2008), sendo necessárias análises histopatológicas, com a finalidade de complementar estes resultados.

Tendo em vista a análise dos resultados expressos, é provável que as ações observadas decorram, pelo menos em parte, da presença de diterpenos, substâncias que caracterizam fitoquimicamente a espécie *Xylopiia langsdorffiana*.

Na literatura são citados inúmeros estudos que comprovam as atividades gastroprotetora de terpenóides, com destaque para: os sesquiterpenos de *Artemisia douglasiana* (GIORDANO et al., 1990), lupeol, ácido ursólico, taraxerol (LEWIS; HANSON, 1991), carbenoxolona e ácido glicirretínico de *Glycyrrhiza glabra* (DOWNER et al., 1970; BIANCHI et al., 1989), poligodial (MATSUDA et al., 1998; MATSUDA et al., 2002), triterpenos de *Fabiana imbricata* (ASTUDILLO; RODRÍGUEZ; SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2002; RODRÍGUEZ; ASTUDILLO; SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2003) e *Protium heptaphyllum* (OLIVEIRA et al., 2004a; OLIVEIRA et al., 2004b). Enfatizando os diterpenos, têm-se: trichorabdol A de *Rabdosia trichocarpa* (KADOTA et al., 1997), trans-dehidrocrotonina isolada de *Croton cajucara* (SOUZA-BRITO et al., 1998; HIRUMA-LIMA et al., 2002), cordatina de *Aparisthmium cordatum* (HIRUMA-LIMA et al., 2001), labdanos derivados de *Solidago chilensis* (RODRÍGUEZ et al., 2002; SCHMEDA-HIRSCHMANN;

RODRÍGUEZ; ASTUDILLO, 2002), plectrinona A de *Plectranthus barbatus* Andrews (SCHULTZ et al., 2007).

Diante disso, pode-se considerar que *Xylopi* *langsdorffiana* apresenta promissoras atividades gastroprotetora e cicatrizante, provavelmente relacionadas a mecanismos citoprotetores, como o envolvimento dos grupamentos sulfidrilas, possivelmente por atuarem como compostos antioxidantes, bem como da via do NO, provavelmente por auxiliar a microcirculação gástrica, e ainda parece ter o engajamento de fatores de crescimento e angiogênese na promoção da cicatrização das úlceras, sendo necessários estudos que esclareçam e complementem essas hipóteses.

.

Conclusão

6 CONCLUSÃO

De acordo com a análise dos resultados obtidos para a espécie *Xylopia langsdorffiana*, é possível concluir que:

- O EEtOH-XI se mostrou bioativo frente à *Artemia salina* Leach;
- O EEtOH-XI apresentou baixa toxicidade nas condições e parâmetros avaliados;
- O EEtOH-XI, nas doses avaliadas, apresentou atividade gastroprotetora quando submetido à triagem farmacológica;
- O EEtOH-XI e a FaHex-XI possuem atividade gastroprotetora nos modelos de indução aguda de úlcera;
- O efeito gastroprotetor promovido pelo EEtOH-XI e pela FaHex-XI está relacionado com a participação dos grupamentos sulfidrilas e do óxido nítrico e, provavelmente, não envolve mecanismos antissecretórios;
- O EEtOH-XI e a FaHex-XI apresentaram efeito cicatrizante no modelo de úlceras gástricas induzidas por ácido acético, possivelmente por atuarem na estimulação de fatores de crescimento e da angiogênese;
- O EEtOH-XI e a FaHex-XI apresentaram baixa toxicidade de acordo com os parâmetros avaliados durante os 14 dias de tratamento da úlcera gástrica induzida por ácido acético;
- A atividade antiulcerogênica promovida pelas amostras vegetais de *Xylopia langsdorffiana* pode estar relacionada aos diterpenos, os marcadores quimiotaxonômicos da planta em estudo.

Perspectivas

7 PERSPECTIVAS

Diante dos promissores resultados adquiridos com o extrato etanólico bruto (EEtOH) e com a fase hexânica (FaHex) obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul., nosso grupo de pesquisa se propõe a dar continuidade ao presente estudo tendo em vista as seguintes perspectivas:

- Investigar o mecanismo citoprotetor envolvido na atividade gastroprotetora de *X. langsdorffiana* por meio da determinação dos níveis de prostaglandina E₂ (PGE₂) na mucosa gástrica;
- Realizar análise histológica do estômago, a partir do modelo de indução de úlcera por ácido acético e avaliar, através de estudos imunohistoquímicos, os fatores envolvidos no processo de cicatrização de lesões, na proliferação celular e angiogênese através da determinação de COX₂; de PCNA - marcador de proliferação celular que fornece dados do processo de cicatrização; da HSP 70 ("Heat Shock Protein") - que tem a função de proteger, preservar, reparar ou remover proteínas danificadas e CXCR4 (receptor de quimiocina CX 4) - marcador endotelial para a avaliação da angiogênese;
- Investigar o mecanismo antioxidante do EEtOH e da FaHex de *X. langsdorffiana* utilizando o modelo de úlceras gástricas induzidas por isquemia e reperfusão para realização dos seguintes ensaios com amostras do tecido gástrico:
 - Determinação do índice de peroxidação lipídica;
 - Dosagem de grupamentos sulfidríla não protéicos (GSH);
 - Atividade da enzima glutational peroxidase;
 - Atividade da enzima glutational redutase (GSSG-Rd);
 - Atividade da enzima superóxido dismutase;
 - Atividade da enzima catalase (CAT);
 - Atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS)

- Pesquisar o efeito antiulcerogênico das amostras vegetais de *X. langsdorffiana* em modelo de lesões duodenais induzidas por cisteamina em ratos;
- Determinar a influência das amostras vegetais de *X. langsdorffiana* na motilidade intestinal;
- Avaliar o efeito antiinflamatório intestinal do EEtOH e da FaHex de *X. langsdorffiana* no modelo de colite ulcerativa induzida por trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos, realizando os seguintes ensaios com as amostras do cólon:
 - Quantificação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-8);
 - Atividade da fosfatase alcalina;
 - Determinação da concentração de leucotrieno B₄;
 - Atividade da mieloperoxidase (MPO).

Referências

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, D. M. Nicotinamide alleviates indomethacin-induced gastric ulcers: A novel antiulcer agent. **European Journal of Pharmacology**, v. 627, p. 276–280, 2010.
- ABITOL, R. A. Doença ulcerosa péptica. In: Med students: Rotinas de Clínica Médica, 2005. Disponível em: <
<http://www.medstudents.com.br/rotinas/clinmed/dup.htm> > Acesso em 24/11/06.
- AIHARA, T.; NAKAMURA, E.; AMAGASE, K.; TOMITA, K.; FUJISHITA, T.; FURUTANI, K.; OKABE, S. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 98, p. 109-27, 2003.
- AJAIKUMAR, K. B.; ASHEEF, M.; BABU, B. H.; PADIKKALA, J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 171–176, 2005.
- AJAIYEGBA, E. O.; ABIODIUM, O. O.; FALADE, M. O.; OGBOLE, N. O.; ASHIDI, J. S.; HAPPI, C. T.; AKINBOYE, D. O. *In vitro* cytotoxicity studies of 20 plants used in Nigerian antimalarial ethnomedicine. **Phytomedicine**, v. 13, p. 295-29, 2006.
- AKARCA, U. S. Gastrointestinal effects of selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Current Pharmaceutical Design**, v. 11, p. 1779–1793, 2005.
- AL-MOFLEH, I. A. Spices, herbal xenobiotics and the stomach: Friends or foes? **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, p. 2710-2719, 2010.
- AL-MOFLEH, I. A.; ALHAIDER, A. A.; MOSSAB, J. S.; AL-SOHAIBANI, M. O.; RAFATULLAH, S.; QURESHI, S. Protection of gastric mucosal damage by *Coriandrum sativum* L. pretreatment in Wistar albino rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 22, p. 64–69, 2006.
- ALBUQUERQUE, R. L.; SILVA, M. G. V.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. A.; MORAIS, S. M.; STONE NETO, J. S. Chemical composition and antioxidant activity of *Plectranthus grandis* and *P. ornatus* essential oils from northeastern Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 24–26, 2006.
- ALFONSO, D.; COLMAN-SAZARBITORIA, T.; ZHAO, G. X.; SHI, G.; YE, Q.; SCHWEDLER, J. T.; MCLAUGHLIN, J. L. Aromin and aromicin, two new bioactive annonaceous acetogenins, possessing an unusual bis-thf ring structure, from *Xylopia aromatica* (Annonaceae). **Tetrahedron**, v. 52, p. 4215-4224, 1996.
- ALLEN, A.; FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 288, p. C1–C19, 2005.

ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANAS-JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. de F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 80, p. 72-76, 1999.

ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem Farmacológica Comportamental. Em: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia – Fundamentos Práticos**, Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, p. 131-137, 2006.

ALONSO, J. Tratado de Fitomedicina. In: Alonso J. (Editor), **Bases Clínicas y Farmacológicas**. Buenos Aires, Argentina: ISIS Editora, p. 198, 422, 424, 690, 693, 735, 1998.

ALTMAN, D. F. Fármacos utilizados nas doenças gastrointestinais. Em: KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica & Clínica**, 9ª ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 867-891, 2005.

ALVAREZ, A.; POMAR, F.; SERVILLA, M. A.; MONTERO, M. J. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 333-340, 1999.

ANCHA, H.; OJEAS, H.; TEDESCO, D.; WARD, A.; HARTY, R. F. Somatostatin-induced gastric protection against ethanol: involvement of nitric oxide and effects on gastric mucosal blood flow. **Regulatory Peptides**, v. 110, p. 107–110, 2003.

ANDRADE, N. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; MAIA, J. G. S. Diterpenes and volatile constituents from the leaves of *Xylopia cayennensis* Maas. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, p. 1055-1058, 2004.

ANDRADE, N. C.; FRANÇA, V. C.; FECHINE, I. M.; TAVARES, J. F.; MAOIR, J. F. A. S.; RIBEIRO, L. A. A.; SILVA, M. S. Diterpenos kaurano e labdano do gênero *Xylopia*. In: 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas. **Livro de resumos**, Poços de Caldas, p. PN-168, 2002.

ANDREO, M. A.; BALLESTEROS, K. V. R.; HIRUMA-LIMA, C. A.; ROCHA, L. R. M.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 3, p. 431 – 441, 2006.

ANIAGU, S. O.; NWINYI, F. C.; OLANUBI, B.; AKUMKA, D. D.; AJOKU, G. A.; IZEBE, K. S.; AGALA, P.; AGBANI, E. O.; ENWEREM, N. M.; IHEAGWARA, C.; GAMANIEL, K. S. Is *Berlina grandiflora* (Leguminosae) toxic in rats? **Phytomedicine**, v. 11, p. 352–360, 2004.

ARAÚJO-RODRIGUES, P.; MORAIS, S. M.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. R. A.; ANDRADE, G. M.; SILVA, M. G. V.; ALBUQUERQUE, R. L.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Gastroprotective effect of barbatusin and 3-beta-hydroxy-3-deoxybarbatusin,

quinonoid diterpenes isolated from *Plectranthus grandis*, in ethanol-induced gastric lesions in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 725–730, 2010.

ARAWWAWALA, L. D. A. M.; THABREW, M. I.; ARAMBEWELA, L. S. R.; Gastroprotective activity of *Trichosanthes cucumerina* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 750–754, 2010.

ARRIETA, J.; BENITZ, J.; FLORES, E.; CASTILLO, C.; NAVARRETE, A. Purification of gastroprotective triterpenoids from the bark of *Amphipterygium adstringens*: role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. **Planta Medica**, v. 69, p. 905–909, 2003.

ASTUDILLO, L.; RODRÍGUEZ, J. A.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective activity of oleanolic acid derivatives on experimentally induced gastric lesions in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, p. 583-588, 2002.

ATUMA, C.; STRUGALA, V.; ALLEN, A. HOLM, L. The adherent gastric mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 280, p. G922–G929, 2001.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. A. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacological research**, v. 47, p. 93-98, 2003.

BAKUMOV, P. A.; SHCHEPOTKIN, I. V.; DUGINA, Y. L.; SERGEEVA, S. A.; EPSTEIN, O. I. Clinical efficiency of epigam in patients with exacerbation of peptic ulcer disease of the stomach and duodenum. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 135, p. 159–162, 2003.

BANDYOPADHYAY, D.; BISWAS, K.; BHATTACHARYYA, M.; REITER, R. J.; BANERJEE, R. K. Gastric toxicity and mucosal ulceration induced by oxygen derived reactive species: protection by melatonin. **Current Molecular Medicine**, v.1, p. 501-513, 2001.

BANDYOPADHYAY, U.; BISWAS, K.; CHATTERJEE, R.; BANDYOPADHYAY, D.; CHATTOPADHYAY, I.; GANGULY, C. K.; CHAKRABORTY, T.; BHATTACHARYA, K.; BANERJEE, R. K. Gastroprotective effect of Neem (*Azadirachta indica*) bark extract: possible involvement of H(+)-K(+)-ATPase inhibition and scavenging of hydroxyl radical. **Life Science**, v. 71, p. 2845–2865, 2002.

BARBASTEFANO, V.; COLA, M.; FERREIRA, A. L.; SILVA, E. F.; HIRUMA-LIMA, C. A.; RINALDO, D.; VILEGAS, W., SOUZA-BRITO, A. R. M. *Vernonia polyanthes* as a new source of antiulcer drugs. **Fitoterapia**, v. 78, p. 545–551, 2007.

BATISTA, L. M. Atividade antiulcerogênica de extratos e frações obtidas dos escapos das espécies *Syngonanthus bisulcatus* Rul. e *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira em modelos animais. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Funcional e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

- BATISTA, L. M.; ALMEIDA, A. B. A.; MAGRI, L. P.; TOMA, W.; CALVO, T. C.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A. R. M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* SILVEIRA. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 328-332, 2004.
- BAUMEISTER, B.; SCHMIDT, C.; SCHIERMEYER, D. B.; VETTER, H.; KIPNOWSKI, J. Decreased gastric prostaglandin E₂ synthesis in patient with gastric ulcers and in smokers. **Hepatogastroenterology**, v. 42, p. 851, 1995.
- BAUMGARTNER, H. K.; STARODUB, O. T.; JOEHL, J. S.; TACKETT, L.; MONTROSE, M. H. Cyclooxygenase 1 is required for pH control at the mouse gastric surface. **Gut**, v. 53, p. 1751–1757, 2004.
- BERENGUER, B.; TRABADELA, C.; SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; QUÍLEZ, A.; MIÑO, P.; DE LA PUERTA, R.; MARTÍN-CALERO, M. J. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. Protect against NSAID-induced gastric lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 153–160, 2007.
- BHARTI, S.; WAHANE, V. D.; KUMAR, V. L. Protective effect of *Calotropis procera* latex extracts on experimentally induced gastric ulcers in rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 440–444, 2010.
- BI, L. C.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense: na integrated protective response. **Current Opinion Gastroenterology**, v. 19, p. 526-532, 2003.
- BIANCHI, P.; TUBARO, A.; NEGRO, P. D.; DELLALOGGIA, R. Improvement of the topical anti-inflammatory activity of glycyrrhetic acid by complexation with phospholipids: An histological approach. **Pharmacological Research**, v. 21, p. 483-484, 1989.
- BIAS, P.; BUCHNER, A.; KLESSER, B.; STEFAN, L. The gastrointestinal tolerability of the LOX/COX inhibitor, licofelone, is similar to placebo and superior to naproxen therapy in healthy volunteers: results from a randomized, controlled trial. **American Journal of Gastroenterology**, v. 99, p. 611–618, 2005.
- BJARNASON, I.; SCARPIGNATO, C.; TAKEUCHI, K.; RAINSFORD, K. D. Determinants of the shortterm gastric damage caused by NSAIDs in man. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 26, p. 95–106, 2007.
- BJORKENHEIM, J. M.; HELLAND, J. A double-blind crossover evaluation of naproxen and piroxicam in osteoarthritis of hip or knee. **Journal of Internal Medicine Research**, v. 13, p. 263–269, 1985.
- BLACK, H. E. The effects of steroids upon the gastrointestinal tract, **Toxicologic Pathology**, v. 16, p. 213–222, 1988.
- BLANDIZZI, C.; COLUCCI, M. T. R. FORNAI, M.; ANTONIOLI, L.; GHISU, N.; TACCAC, M. D. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 90–100, 2009.

BOHL, D.; GAUSSMAN, H.; VORBERG, G. A clinical trial comparing a new NSAID (droxicam) and piroxicam in spinal osteoarthritis. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutic Toxicology**, v. 28, p. 416–419, 1990.

BORRELLI, F.; IZZO, A. A. The plant kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 581-591, 2000.

BOTTING, R.; AYOUB, S. S. COX-3 and mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 72, p. 85–87, 2005.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, p. 408-420, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Medicamentos fitoterápicos. **Nota técnica do comitê nacional de plantas medicinais e fitoterápicos a respeito do que foi veiculado sobre plantas medicinais e fitoterápicos na imprensa televisiva e escrita no último mês.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/206535804446b59789c29b703378b097/Nota+t%C3%A9cnica+n%C2%BA+1+do+CNPMF_06+10+2010.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 10 jan 2011.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, p. 229-239, 2010.

BREITMAIER, E. Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006.

BROWN, D. J.; DATNER, A. M. Phytotherapeutic Approaches to common dermatologic condition. **Archives of Dermatology**, v. 134, p. 1401-1404, 1998.

BRUNTON, L. L. Agents for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. In: **Goodman Gilman - The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Ed. by J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. B. Molinoff, R. W. Ruddon and A. G. Gilman, 9th edition, Int. Edition, McGraw-Hill, New York, p. 663-691, 1996.

BRUNTON, L. L. In Goodman. The Pharmacological Basis of Therapeutics; HARDMAN, J. G.; LIMBERD, L. E.; MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R.W.; GOODMAN, A.G.; Eds., 10th ed.; McGraw-Hill: New York, p. 1006–1019, 2001.

BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment - Polish achievements. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 54, p. 99-126, 2003.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; PAJDO, R.; PTAK-BELOWSKA, A.; KWIECIEN, S.; PAWLIK, M.; DROZDOWICZ, D.; SLIWOWSKI, Z.; BRZOZOWSKI, B.; KONTUREK, S. J.; PAWLIK, W. W. Physiological mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-induced impairment of gastric mucosal defense and

adaptation. Focus on nitric oxide and lipoxins. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 59, p. 89-102, 2008.

CALATAYUD, S.; BARRACHINA, D.; ESPLUGUES, J. V. Nitric oxide: relation to integrity, injury, and healing of the gastric mucosa. **Microscopy Research and Technique**, v. 53, p. 325–35, 2001.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, p. 37-38, 2003.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research**, v. 33, p.179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CALOW, P. **Handbook of Ecotoxicology**, Blackwell, Oxford, UK, v. 1, 1993.

CALVO, T. R.; LIMA, Z. P.; SILVA, J. S.; BALLESTEROS, K. V.; PELLIZZON, C. H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; TAMASHIRI, J.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; TAKAHIRA, R. K.; VILEGAS, W. Constituents and antiulcer effect of *Alchornea glandulosa*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p. 451-459, 2007.

CARPANI DE KASKI, T.; RENTSCH, R.; LEVI, S.; HODGSON, H. J. Corticosteroids reduce regenerate repair of epithelium in experimental gastric ulcer, **Gut**, v. 37, p. 613–616, 1995.

CASTELLO-BRANCO, M. V. S.; ANAZETTI, M. C.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; DINIZ, M. F. F. M.; FRUNGILLO, L.; HAUN, M.; MELO, P. S. Diterpenes from *Xylopia langsdorffiana* inhibit cell growth and induce differentiation in human leukemia cells. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 64, p. 650-6, 2009.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). Chapecó: Argos Ed. Universitária, 2001.

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

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.**, v. 21, p. 13926–13931, 2002.

- CHAVES, C. B.; SILVA, R. A. Contribuição do laboratório de patologia clínica à prática da antibioticoterapia. In: Silva, P. (Ed.), Farmacologia. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, p. 949–958, 1998.
- CHIBA, T.; SATO, K.; KUDARA, N.; SHINOZAKI, H.; IKEDA, K.; SATO, K.; ENDO, M.; ORII, S.; SUZUKI, K. Upper gastrointestinal disorders induced by non-steroidal antiinflammatory drugs. **Inflammopharmacology**, v. 16, p. 16–20, 2008.
- COELHO, R. G.; BATISTA, L. M.; SANTOS, L. C.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus bisulcatus* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p.413-417, 2006.
- COLMAN-SAZARITORIA, T.; ZAMBRANO, J.; FERRIGNI, N. R. Bioactive annonaceous acetogenins from the bark of *Xylopia aromatica*. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 486-493, 1994.
- CORNS, C. M. Herbal remedies and clinical biochemistry. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 40, p. 489–507, 2003.
- CORRÊA, P. M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Brasília: IBDF Ministério da agricultura, vol. I, IV e V, 1984.
- CORREA, P.; HOUGHTON, J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, v. 133, p. 659–672, 2007.
- CRAWFORD, A. S.; WHITE, J. G. Celecoxib-induced upper gastrointestinal hemorrhage and ulceration. **South Medicinal Journal**, v. 95, p. 1444–1446, 2002.
- CRONQUIST, A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York: Columbia University Press, p. XIII- XVIII, 1981.
- DALLEGRAVE, E. Toxicidade reprodutiva do herbicida glifosato - Roundup® em ratos Wistar. 225 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003.
- DARLING, R. L.; ROMERO, J. J.; DIAL, E. J.; AKUNDA, J. K.; LANGENBACH, R.; LICHTENBERGER, L. M. The effects of aspirin on gastric mucosal integrity, surface hydrophobicity, and prostaglandin metabolism in cyclooxygenase knockout mice. **Gastroenterology**, v. 127, p. 94–104, 2004.
- DAS, D.; BANERJEE, R. K. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 125, p. 115–125, 1993.
- DE LAS HERAS, B.; VILLAR, A.; VIVAS, J. M.; HOULT, J. R. Novel anti-inflammatory plant labdanes: comparison of *in vitro* properties with aspirin and indomethacin. **Agents and Actions**, v. 41, p. 114-117, 1994.

DENIZ, M.; SAHIN, H.H.; TEKIN, S.; YESILLER, M.; AGAOGLU, B.; CETINEL, S.; YEGEN, B. Nicotine withdrawal alleviates acetic acid-induced gastric injury in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, p. 200–205, 2009.

DENNINGER, J.; MARLETTA, M. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:334–350.7. Stamler J, Lamas S, Fang F. Nitrosylation: the prototypic redoxbased signaling mechanism. **Cell**, v. 106, p. 675-683, 2001.

DEWICK, P. M. The mevalonate and Deoxyxylulose phosphate Pathways: terpenoids and Steroids. In: DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach**. 2 ed. United Kingdom, School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham, John Wiley & Sons, Ltd, Cap. 5, p. 167, 2002.

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

DHAR, S. K.; SONI, R. K.; DAS, B. K.; MUKHOPADHYAY, G. Molecular mechanism of action of major *Helicobacter pylori* virulence factors. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 253, p. 207–215, 2003.

DIMAS, K.; DEMETZOS, C.; VAOS, V.; IOANNIDIS, P.; TRANGAS, T. Labdane type diterpenes down-regulate the expression of *c-Myc* protein , but not *Bcl*, in human leukemia T-cells undergoing apoptosis. **Leukemia Research**, v. 25, p. 449-454, 2001.

DIMAS, K.; KOKKINOPOULOS, D.; DEMETZOS, C.; VAOS, B.; MARSELOS, M.; MALAMAS, M.; TZAVARAS, T. The effect of sclareol on growth and cell cycle progression of human leukemic cell lines. **Leukemia Research**, v. 23, p. 217-234, 1999.

DIXON, M. F. Patterns of inflammation linked to ulcer disease. **Baillieres Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 14, p. 27–40, 2000.

DOWNER, H. D.; GALLOWAY, R. W.; HORWICH, L.; PARKE, D. V. The absorption and excretion of carbenoxolone in man. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 22, p. 479-487, 1970.

DRAGO, F.; MONTONERI, C.; VARGA, C.; LÁSZLÓ, F. Dual effect of female sex steroids on drug-induced gastroduodenal ulcers in the rat. **Life Sciences**, v. 64, p. 2341-2350, 1999.

DROGE, W. Free radicals in the physiological of cell function. **Physiological Reviews**, v. 82, p. 47-95, 2002.

EJAZ, S.; LIM, C. W. Toxicological overview of cigarette smoking on angiogenesis. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p. 335, 2005.

ELEGBE, R. A. Inactivation of prostaglandin E₂ in the stomach of pregnant and oestrogen pretreated rats. **Biochemistry and experimental biology**, v. 14, p. 69–76, 1978.

EVANGELISTA, S. Role of sensory neurons in restitution and healing of gastric ulcers. **Current Pharmaceutical Design**, v. 12, p. 2977–84, 2006.

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

FAN, T. Y.; FENG, Q. Q.; JIA, C. R.; FAN, Q.; LI, C. A.; BAI, X. L. Protective effect of Weikang decoction and partial ingredients on model rat with gastric mucosa ulcer. **World Journal Gastroenterology**, v. 11, p. 1204-1209, 2005.

FAURE, P.; LAFOND, J. L. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In: FAVIER A. E., **Analysis of free radicals in biological systems**. Boston: Verlag, p. 237-248, 1995.

FÉRES, C. A. O.; MADALOSSO, R. C.; ROCHA, O. A.; LEITE, J. P. V.; GUIMARÃES, T. M. D. P.; TOLEDO, V. P. P.; TAGLIATI, C. A. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphan dramollis* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 450–456, 2006.

FERREIRA, M. P.; NISHIJIMA, C. M.; SEITO, L. N.; DOKKEDAL, A. L.; LOPES-FERREIRA, M.; DI STASI, L. C.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; Gastroprotective effect of *Cissus sicyoides* (Vitaceae): Involvement of microcirculation, endogenous sulfhydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p. 170–174, 2008.

FILARETOVA, L. The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: Hormonal brain-gut interaction and gastroprotection. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 125, p. 86-93, 2006.

FILARETOVA, L. P. The dependence of the formation of stress stomach ulcers on the function of the hypothalamo-hypophyseal-adrenal cortical system. **Fiziologicheskii zhurnal SSSR imeni I.M. Sechenov**, v. 6, p. 1594–600, 1990.

FILARETOVA, L.; BAGAEVA, T.; MAKARA, G. B. Aggravation of nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy by glucocorticoid deficiency or blockade of glucocorticoid receptors in rats. **Life Sciences**, v. 71, p. 2457–2468, 2002.

FILARETOVA, L.; BAGAEVA, T.; PODVIGINA, T.; MAKARA, G. Various ulcerogenic stimuli are potentiated by glucocorticoid deficiency in rats. **Journal of Physiology**, v. 95, p. 59–65, 2001.

FILARETOVA, L. P.; FILARETOV, A. A.; MAKARA, G. B. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. **American Journal of Physiology**, v. 274, p. G1024–30, 1998.

FILARETOVA, L. P.; MALTCEV, N. A.; BOGDANOV, A. I.; LEVKOVICH, Y. U. I. Role of gastric microcirculation in the gastroprotection by glucocorticoids released during water-restraint stress in rats. **The Chinese Journal of Physiology**, v. 42, p. 145–53, 1999.

FILARETOVA, L.; PODVIGINA, T.; BAGAEVA, T.; BOBRYSHEV, P.; TAKEUCHI, K. Gastroprotective role of glucocorticoid hormones. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 104, p. 195 – 201, 2007.

FILARETOVA, L.; PODVIGINA, T.; BAGAEVA, T.; BOBRYSHEV, P.; TANAKA, A.; TAKEUCHI, K. Cooperative interaction between glucocorticoids and prostaglandins in gastroprotection. In: Sikiric, P., et al., (Eds.), International Proceedings of 11th International Conference on Ulcer Research. Monduzzi, Italy, p. 169– 173, 2003.

FILARETOVA, L. P.; PODVIGINA, T. T.; BAGAEVA, T. R.; TANAKA, A.; TAKEUCHI, K. Mechanisms underlying gastroprotective action of glucocorticoids released in response to ulcerogenic stress factors. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1018, p. 288–293, 2004.

FILARETOVA, L.; TANAKA, A.; KATO, S.; MIYAZAWA, T.; TAKEUCHI, K. Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats. **American Journal of Physiology**, v. 283, p. G1082–G1089, 2002.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. **Nature** (London, U. K.), v. 408, p. 239, 2000.

FIORUCCI, S.; ANTONELLI, E.; MORELLI, A. Mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug-gastropathy. **Digestive and Liver Disease**, v. 33, p. S35–43, 2001.

GARRIDO, C.; BRUNET, M.; DIDELOT, C.; ZERMATI, Y.; SCHMITT, E.; KROEMER, G. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. **Cell Cycle**, v. 5, p. 2592-601, 2006.

GIORDANO, O. S.; GUERREIRO, E.; PESTCHANKER, M. J.; GUZMAN, J.; PASTOR, D.; GUARDIÀ, T. The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. **Journal of Natural Products**, v. 53, p. 803-809, 1990.

GISBERT, J. P.; PAJARES, J. M. *Helicobacter pylori* infection and perforated peptic ulcer prevalence of the infection and role of antimicrobial treatment. **Helicobacter**, v. 8, p. 159–67, 2003.

GLAVIN, G.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanism of pathogenesis and new therapeutic strategies. **Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB) Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.

- GOEL, R. K.; BHATTACHARYA, S. K. Gastroduodenal mucosal defence and mucosal protective agents. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 29, p. 701–714, 1991.
- GONÇALES, F.; PORTELA, T.; STIPP, E.; DI STASI, L. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea blomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 441-447, 2001.
- GOWER JR, W. R.; PREMARATNE, S.; MCCUEN, R. W.; ARIMURA, A.; MCAFEE, Q.; SCHUBERT, M. L. Gastric atrial natriuretic peptide regulates endocrine secretion in antrum and fundus of human and rat stomach. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 284, p. G638-G64, 2003.
- GRAHAM, D. Y.; SMITH, J. L.; OPEKUN, A. R. Spicy food and the stomach. Evaluation by videoendoscopy. **Journal of the American Medical Association**, v. 260, p. 3473-3475, 1988.
- GRAY, S. J.; BENSON, A.; REIFENSTEIN, R. W. Chronic stress and peptic ulcer. I Effect of corticotropin (ACTH) and corticosterone on gastric secretion. **Journal of the American Medical Association**, 147, 1529–1537, 1951.
- GRIFFIN, M. R.; SCHEIMAN, J. M. Prospects for changing the burden of nonsteroidal anti-inflammatory drug toxicity. **American Journal of Medicine**, v. 110, p. 33S–37S, 2001.
- GUARRERA, M. P. Tradicional phytotherapy in central Itália. **Fitoterapia**, v. 76, p. 1-25, 2005.
- GUDIS, K.; SAKAMOTO, C. The role of cyclooxygenase in gastric mucosal protection. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, p. S16–23, 2005.
- GULLO, V. P.; HUGHES, D. E. Exploiting new approaches for natural product drug discovery in the biotechnology industry. **Drug discovery Today: Technologies**, v. 2, p. 281-286, 2005.
- GUO, J. S.; CHO, C. H.; LAM LIU, E. S.; COI, H. T.; WANG, J. Y.; LEUNG KOO, M. W. Antiangiogenic effect of a highly selective cyclooxygenase-2 inhibitor on gastric ulcer healing in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 183, p. 41–45, 2002.
- GURBUS, I.; AKYUZ, C.; YESILADA, E.; SENER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Mormodica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 77-82, 2000.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects Medicine**, v. 27, p. 1-93, 2006.

GUSTAVSSON, S. Peptic ulcer disease, complications. In: Gustavsson S, Kumar D, Graham DY, eds. The stomach. Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo: Churchill Livingstone, p. 266–77, 1992.

GUTH, P. H.; PAULSEN, G.; NAGATA, H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rats: effects of prostaglandin cytoprotection. **Gastroenterology**, v.87, p.1083-1090, 1984.

GYIRES, K. Gastric mucosal protection: from prostaglandins to gene-therapy. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 203–215, 2005.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radical in Biology and Medicine, 3rd ed., Oxford University Press: Oxford, 2002; 4th ed., 2007.

HALTER, F.; SCHMASSMANN, A.; PESKAR, B. M. Cyclooxygenase-2 implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. **Gut**, v. 49, p. 443–453, 2001.

HAMAGUCHI, M.; WATANABE, T.; HIGUCHI, K.; TOMINAGA, K.; FUJIWARA, Y.; ARAKAWA, T. Mechanisms and roles of neutrophil infiltration in stress-induced gastric injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, p. 2708-2715, 2001.

HARRIGAN, G. G.; BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. Kaurane and trachylobane diterpenes from *Xylopi aethiopica*. **Phytochemistry**, v. 36, p. 109-113, 1994.

HATAZAWA, R.; TANAKA, A.; TANIGAMI, M.; AMAGASE, K.; KATO, S.; ASHIDA, Y.; TAKEUCHI, K. Cyclooxygenase-2/ prostaglandin E₂ accelerates the healing of gastric ulcers via EP₄ receptors. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 293, p. G788–97, 2007.

HEGNAUER, R. **Chemotaxonomie der Pflazen**. Basileia e Suttgart, Birkhauser Verlag, v. 3, p. 116, 1964.

HERNANDEZ, D. E.; GLAVIN, G. B. Neurobiology of Stress Ulcers. New York **Academy of Sciences**, New York, 1990.

HERSEY, S. J.; SACHS, G. Gastric acid secretion. **Physiological Reviews**, v. 75, p. 155–189, 1995.

HILALY, J.; EL ISRAILI, Z.H.; LYOUSSEI, B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajugaiva* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 43–50, 2004.

HIRAISHI, H.; SHIMADA, T.; TERANO, A. Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of NSAID-induced gastric mucosal damage. **Journal of Gastroenterology**, v. 35, p. 567–9, 2000.

HIROKAWA, M.; MIURA, S.; YOSHIDA, H.; KUROSE, I.; SHIGEMATSU, T.; HOKARI, R.; HIGUCHI, H.; WATANABE, N.; YOKOYAMA, Y.; KIMURA, H.; KATO,

S.; ISHII, H. Oxidative stress and mitochondrial damage precedes gastric mucosal cell death induced by ethanol administration. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 22, p. 111S–114S, 1998.

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

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

HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; TOMA, W.; ALMEIDA, A. B.; PAULA, A. C.; BRASIL, D. S.; MULLER, A. H.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Gastroprotective effect of aparisthman, a diterpene isolated from *Aparisthium cordatum*, on experimental gastric ulcer models in rats and mice. **Phytomedicine**, v. 8, p. 94–100, 2001.

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

HIRUMA-LIMA, C. A.; SPADARI-BRATFISCH, R.; GRASSI-KASSISSE, D.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Antiulcerogenic mechanisms of dehydrocrotonin, a diterpene obtained from *Croton cajucara*. **Planta Medica**, v. 65, p. 325–330, 1999.

HIRUMA-LIMA, C. A.; TOMA, W.; GRACIOSO, J. S.; DE ALMEIDA, A. B. A.; BATISTA, L. M.; MAGRI, L.; DE PAULA, A. C. B.; SOARES, F. R.; NUNES, D. S.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Natural trans-crotonin: the antiulcerogenic effect of another diterpene isolated from the bark of *Croton cajucara* Benth. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, p. 452–456, 2002.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027–1031, 2002.

HOLZER, P. Neural emergency system in the stomach. **Gastroenterology**, v. 114, p. 823–839, 1998.

HOLZER, P. Neural regulation of gastrointestinal blood flow. In: Johnson LR, ed. **Physiology of the gastrointestinal tract**. 4th ed. New York: Academic Press, p. 817–839, 2006.

HOLZER, P. Role of visceral afferent neurons in mucosal inflammation and defense. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, p. 563–569, 2007.

HOLZER, P. Gastroduodenal mucosal defense: coordination by a network of messengers and mediators. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 17, p. 489–496, 2001.

HOOGERWERF, W. A.; PASRICHA, P. J. Agentes usados para o controle da acidez gástrica e no tratamento de úlceras pépticas e da doença do refluxo gastroesofágico. Em: Goodman & Gilman. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10 ed. New York:Mc Graw Hill, p. 757-768, 2005.

HOOGERWERF, W. A.; PASRICHA, P. J. Pharmacotherapy of gastric acidity, peptic ulcers, and gastroesophageal reflux disease. IN: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. (EDS.). **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Mc Graw Hill, New York, p. 967–981, 2006.

HOU, W.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p. 593–598, 2006.

HUBER, P.C.; ALMEIDA, W.P.; DE FÁTIMA, A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, p. 1170-1179, 2008.

HUI, W. M.; JOANA, H.; CHEN, B. W.; CHO, C. H.; LUK, C. T.; LAM, S. K. Nicotine induced gastric injury. A quantitative macroscopic and microscopic analysis of protective effects of sucralfate and feeding. **Gut**, v. 32, p. 372, 1991.

HUSAIN, S. S.; SZABO, I. L.; PAI, R.; SOREGHAN, B.; JONES, M. K.; TARNAWSKI, A. S. MAP (ERK-2) kinase - a key target for NSAIDs-induced inhibition of gastric cancer cell proliferation and growth. **Life Sciences**, v. 69, p. 3045–3054, 2001.

INEU, R. P.; PEREIRA, M. E.; ASCHNER, M.; NOGUEIRA, C. W.; GENI, G.; ROCHA, J. B. T. Diphenyl diselenide reverses gastric lesions in rats: Involvement of oxidative stress. **Food and Chemical Toxicology**, v. 3023, p. 3029-46, 2008.

ISNARD, B. C.; DERAY, G.; BAUMELOU, A.; LE QUINTREE, M.; VANHERWEGHEM, J. L. Herbs and the kidney. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 44, p. 1–11, 2004.

IVERSEN, P. O.; NICOLAYSEN, G. Water-for life. **Tidsskrift for den Norske Laegeforening**, v. 123, p. 3402–3405, 2003.

IWU, M. M. African medicinal plants in the search from new drugs based on ethobotanical leads. **Ciba Foundation Symposium**, v. 185, p. 116-26, 1994.

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

- JAINU, M; DEVI, C. S. S. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: Role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. **Chemico-Biological Interactions**, v. 161, p. 262-270, 2006.
- JAMAL, A.; JAVED, K.; ASLAM, M.; JAFRI, M. A. Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 149 – 153, 2006.
- JENETT-SIEMS, K.; MOCKENHAUPT, F. P.; BIENZLE, U.; GUPTA, M. P.; EICH, E. *In vitro* antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. **Tropical medicine & International Health**, v. 4, p. 611-615, 1999.
- JIMÉNEZ, M. D.; MARTÍN, M. J.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; BRUSEGHINI, L.; ESTERAS, A.; HERRERÍAS, J. M. Role of L-arginine in ibuprofen-induced oxidative stress and neutrophil infiltration in gastric mucosa. **Free Radical Research**, v. 38, p. 903–11, 2004.
- JOHNSON, L. R. Regulation of gastrointestinal growth. In: Johnson, L.R. (Ed.), **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. New York, p. 611–641, 1994.
- JORDÃO-JÚNIOR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutatona reduzida e da vitamina E. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 434-449, 1998.
- JOSEPH, P. D.; MANNERVIK, B.; ORTIZ DE MONTELLANO, P. Molecular Toxicology, 1st ed., Oxford University Press: New York, p.152-186, 1997.
- KADOTA, S.; BASNET, P.; ISHII, E.; TAMURA, T.; NAMBA, T. Antibacterial activity of trichorabdal A from *Rabdosia trichocarpa* against *Helicobacter pylori*. **Zentralblatt für Bakteriologie**, v. 286, p. 63–67, 1997.
- KAHARAMAN, A.; ERKASAP, N.; KOKEN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v. 183, p. 133–142, 2003.
- KANG, J. Y.; TINTO, A.; HIGHAM, J.; MAJEED, A. Peptic ulceration in general practice in England and Wales 1994-98: period prevalence and drug management. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, p. 1067-74, 2002.
- KANJANAPOTHI, D.; PANTHOG, A.; LERTPRASERTSUKE, N.; TAESOTIKUL, T.; RUJJANAWATW, C.; KAEWPINIT, D.; SUDTHAYAKORN, R.; CHOOCHOTE, W.; CHAITHONG, U.; JITPAKDI, A.; PITASAWAT, B. Toxicity of crude rhizome extract of *Kaempferia galanga* L. (ProhHom). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 359–365, 2004.
- KATO, S.; AIHARA, E.; YOSHII, K.; TAKEUCHI, K. Dual action of prostaglandin E2 on gastric acid secretion through different EPreceptor subtypes in the rat. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, p. G64–9, 2005.

KAWAI, T.; AKIRA S. Signaling to NF-kappa B by toll-like receptors. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, p. 460–9, 2007.

KHAYYAL, M.; EL-GHAZALY, M.; KENAWY, S.; SEIF-EL-NASR, M.; MAHRAN, L.; KAFAFI, Y.; OKPANYI, S. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. **Arzneimittel-Forschung**, v. 51, p. 545-553, 2001.

KHOSLA, P.; GOGIA, A.; AGARWAL, P. K.; JAIN, K. P. Unilateral central retinal artery occlusion followed by contralateral anterior ischemic optic neuropathy. **Journal of Postgraduate Medicine**, v. 50, p. 219–221, 2004.

KIM, J. M.; KIM, J. S.; JUNG, H. C.; OH, Y. K.; CHUNG, H. Y.; LEE, C. H. *Helicobacter pylori* infection activates NF-kappa B signaling pathway to induce iNOS and protect human gastric epithelial cells from apoptosis. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 285, p. G1171–80, 2003.

KINGHORN, A. D. The role of pharmacognosy in modern medicine. **Expert Opinion Pharmacotherapy**, v. 3, p. 77-79, 2002.

KO, W. G.; KANG, T. H.; LEE, S. J.; KIM, Y.C., LEE, B. H. Rotundifuran, a labdane type diterpene from *Vitex rotundifolia*, induces apoptosis in human myeloid leukaemia cells. **Phytoterapy Research**, v. 15, p. 535-537, 2001.

KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.; CZESNIKIEWICZ, M.; PLONKA, M.; BIELANSKI, W. Interaction of *Helicobacter pylori* (Hp) and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) on gastric mucosa and risk of ulcerations. **Medical Science Monitor**, v. 9, p. 197-209, 2002.

KONTUREK, P. C.; KONTUREK, J. S.; OCHMANSKI, W. Neuroendocrinology of gastric H⁺ and duodenal HCO₃⁻ secretion: the role of brain-gut axis. **European Journal of Pharmacology**, v. 499, p. 15-27, 2004.

KONTUREK, S. J.; KONTUREK, P. C.; BRZOZOWSKI, T. Prostaglandins and ulcer healing. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, p. 5–31, 2005.

KOTANI, T.; KOBATA, A.; NAKAMURA, E.; AMAGASE, K.; TAKEUCHI, K. Roles of cyclooxygenase-2 and prostacyclin / IP receptors in mucosal defense against ischemia / reperfusion injury in mouse stomach. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, p. 547–55, 2006.

KULAKSIZ, H.; ARNOLD, R.; GÖKE, B.; MARONDE, E.; MEYER, M.; FAHRENHOLZ, F.; FORSSMANN, W. G.; EISSELE, R. Expression and cell-specific localization of the cholecystokinin B/gastrin receptor in the human stomach. **Cell & Tissue Research**, v. 299, p. 289–298, 2000.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Tecido de renovação e reparações: Regeneração, Cicatrização e Fibrose. Em: **Robbins & Cotran – Patologia**. 7ª ed. Elsevier Ltda. Rio de Janeiro p. 99, 2005.

- KUSHIMA, H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SANTOS, M. A.; VIANA, E.; COELHO-FERREIRA, M.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulphydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 61-67, 2005.
- KUSUHARA, H.; KOMATSU, H.; SUMICHIKA, H.; SUGAHARA, K. Reactive oxygen species are involved in the apoptosis induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cultured gastric cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 383, p. 331–337, 1999.
- KUWAYAMA, H.; MATSUO, J.; EASTWOOD, G. L. Effect prostaglandin on hydrocortisone-induced delayed healing of chronic gastric ulcers in the rat. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 13, p. 54–57, 1991.
- KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, S. J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 53, p. 39–50, 2002.
- LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside. Reviews in Basic and a Clinical Gastroenterology. **Gastroenterology**, v. 135, p. 41–60, 2008.
- LANAS, A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research & Therapy**, v. 10, p. 1-6, 2008.
- LARSEN, R.; HANSEN, M. B.; BINDSLEV N. Duodenal secretion in humans mediated by the EP₄ receptor subtype. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 185, p. 133–40, 2005.
- LÁSZLÓ, F.; AMANI, E.; KARÁCSONY, G.; SZABÓ, E.; RENGEI, B.; VARGA, C. S.; LÁSZLÓ, F. A. The modulatory role of endogenous vasopressin in the phenomenon that orally administered ethanol generates more severe gastric erosions in male than in female rats, **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 689, p. 623–626, 1993.
- LÁSZLÓ, F.; AMANI, E.; VARGA, C. S.; LÁSZLÓ, F. A. Influence of sex hormones on ethanol-induced gastric haemorrhagic erosions in rats. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 80, p. 289–292, 1992.
- LÁSZLÓ, F.; VARGA, C.; MONTONERI, C.; DRAGO, F. Damaging actions of testosterone on cysteamine-induced gastroduodenal ulceration and vascular leakage in the rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 337, p. 275–278, 1997.
- LEBOEUF, M.; CAVE, A.; BHAAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The Phytochemistry of the Annonaceae . **Phytochemistry**, v. 21, p. 2783, 1982.
- LEVINE, R. J. A method for rapid production of stress ulcers in rats. In: C. J. PFEIFFER. Peptic Ulcer. **Munksgaard**, Copenhagen. p. 92-97, 1971.

LEWIS, D. A.; HANSON, D. Anti-ulcer drugs of plant origin. In: Ellis, G. P.; West, G. B. **Progress in Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 201-231, 1991.

LI, C. H.; PAN, L. H.; LI, C. Y.; ZHU, C. L.; XU, W. X. Localization of ANP-synthesizing cells in rat stomach. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, p. 5674–5679, 2006.

LICHTENBERGER, L. M. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 15, p. 463–72, 1999.

LICHTENBERGER, L. M.; ZHOU, Y.; DIAL, E. J.; RAPHAEL, R. M. NSAID injury to the gastrointestinal tract: evidence that NSAIDs interact with phospholipids to weaken the hydrophobic surface barrier and induce the formation of unstable pores in membranes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, p. 1421–1428, 2006.

LIÉVIN-LE, M. V.; SERVIN, A. L. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiots. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 315–37, 2006.

LIMA, I. O. Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispa* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2008.

LIMA, I. O.; COSTA, V. B. M.; MATIAS, W. N.; COSTA, D. A.; SILVA, D. A.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V.; LIMA, E. O.; BATISTA, L. M. Biological activity of *Herissantia crispa* (L.) Brizicky. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 249-254, 2009.

LIMA, Z. P.; SANTOS, R. C.; TORRES, T. U.; SANNOMIYA, M.; RODRIGUES, C. M.; SANTOS, L. C.; PELLIZZON, C. H.; ROCHA, L. R. M.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; CARDOSO, C. R. P.; VARANDA, E. A.; MORAES, H. P.; BAUAB, T. M.; CARLI, C.; CARLOS, I. Z.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Byrsonima fagifolia*: An integrative study to validate the gastroprotective, healing, antidiarrheal, antimicrobial and mutagenic action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 149–160, 2008.

LIMA, Z. P.; SEVERI, J. A.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R. M. S.; SOLIS, P. N.; CÁCERES, A.; GIRÓN, L. M.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Can the aqueous decoction of mango flowers be used as antiulcer agent? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 29–37, 2006.

LINCOLN, T. M.; FISHER-SIMPSON, V. A comparison of the effects of forskolin and nitroprusside on cyclic-nucleotides and relaxation in the rat aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 101, p. 17-27, 1983.

LINDGREN, S.; ANDERSSON, K. E. Comparison of the effects of milrinone and OPC 3911 with those of isoprenaline, forskolin and dibutyryl-cAMP in rat aorta. **General Pharmacology**, v. 22, p. 617-624, 1991.

LINDSTROM, E; CHEN, D; NORLEN, P; ANDERSSON, K; HAKANSON, R. Control of gastric acid secretion: the gastrin-ECL cell-parietal cell axis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 128, p. 505–514, 2001

LIU, C.; CRAWFORD, J. M. O trato gastrointestinal. Em: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran – **Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7a ed., Ed. Elsevier, Rio de Janeiro, p. 838-918, 2005.

LOIBL, S.; BRATENGEIER, J.; FARINES, V.; VON MINCKWITZ, G.; SPANKUCH, B.; SHINI-KERTH, V.; NEPVEU, F.; STREBHARDT, K.; KAUFMANN, M. Investigations on the inducible and endothelial nitric oxide synthases in human breast cancer cell line MCF-7—estrogen has an influence on e-NOS, but not on i-NOS. **Pathology-Research and Practice**, v. 202, p. 1–7, 2006.

LONGSTRETH, G. F. Epidemiology of hospitalization for acute upper gastrointestinal hemorrhage: a population-based study. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 90, p. 206–10, 1995.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199-206, 2005.

LUTNICKI, K.; SZPRINGER, E.; WRÓBEL, J.; JAWORSKA-ADAMU, J. in: Verapamil and calcium ions in ethanol evoked gastric mucosa injury, Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Sect. DDD XIX, p. 275–281, 2006.

LUTNICKI, K.; WRÓBEL, J.; LEDWOZYW, A.; TREBAS-PIETRÁS, E. The effect of calcium ions on the intensity of peroxidation processes and the severity of ethanol-induced injury to the rat's gastric mucosa. **Archivum Veterinarium Polonicum**, v. 32, p. 125–132, 1992.

MA, L.; CHOW, J. Y.; LIU, E. S.; CHO, C. H. Cigarette smoke and its extract delays ulcer healing and reduces NO synthase activity and angiogenesis in rat stomach. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 26, p. 828, 1999.

MAAS, P. J. M.; KAMER, H. M.; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**, v. 52, p. 65-98, 2001.

MAITY, P.; BINDU, S.; CHOUBEY, V.; ALAM, A.; MITRA, K.; GOYAL, M. Lansoprazole protects and heals gastric mucosa from NSAID-induced gastropathy by inhibiting mitochondrial as well as Fas-mediated death pathways with concurrent induction of mucosal cell renewal. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 283, p. 14391–401, 2008.

MAITY, P.; BISWAS, K.; ROY, S.; BANERJEE, R. K.; BANDYOPADHYAY, U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer-recent mechanistic update. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 253, p. 329-338, 2003.

MAJUMDAR, D.; BEBB, J.; ATHERTON, J. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. **Medicine**, v. 35, p. 204-209, 2007.

MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K. L.; MCCOLL, K. E. L. Peptic ulcer disease. **Lancet**, v. 374, p. 1449-61, 2009.

MALFERTHEINER, P.; DENT, J.; ZEIJLON, L.; SIPPONEN, P.; VAN ZANTEN VELDHUYZEN, S. J. O.; BURMAN, C. F.; LIND, T.; WRANGSTADH, M.; BAYERDÖRFFER, E.; LONOVICS, J. Impact of *Helicobacter pylori* eradication on heartburn in patients with gastric or duodenal ulcer disease—results from a randomized trial programme. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, p. 1431-42, 2002.

MALFERTHEINER, P.; LEODOLTER, A.; PEITZ, U. Cure of *Helicobacter pylori* associated ulcer disease through eradication. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 14, p. 119-32, 2000.

MAROTTA, R. B.; FLOCH, M. H. Diet and nutrition in ulcer disease. **Medical Clinics of North America**, v. 75, p. 967-979, 1991.

MARSOLLA, P. Gastrite e Úlceras. Publicado 13/12/2009. <Disponível em: <http://www.webartigos.com/articles/29949/1/ESTRESSE-E-LESOES-GASTRICAS/pagina1.html#ixzz1CFXkJ0xG>> Acesso em: 27 jan 2011.

MARTINS, D.; HAMARSKI, L.; ALVARENGA, S. A. V.; ROQUE, N. F. Labdane dimers from *Xylopiia aromatica*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 813-817, 1999.

MARTINS, D.; OSSHIRO, E.; ROQUE, N. F.; MARKS, V.; GOTTLIEB, H. E. A sesquiterpene dimer from *Xylopiia aromatica*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 677-680, 1998.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas Medicinais, 5. ed. Ver. Viçosa: UFV, p. 15-19, 2003.

MASSIGNANI, J. J.; LEMOS, M.; MAISTRO, E. L.; SCHAPHAUSER, H. P.; JORGE, R. F.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; DE ANDRADE, S. F. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1355-1360, 2009.

MATSUDA, H.; LI, Y.; MURAKAMI, T.; YAMAHARA, J.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of oleanolic acid oligoglycosides on ethanol or indomethacin induced gastric mucosal lesions in rats. **Life Sciences**, v. 63, p. 245-250, 1998.

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

MATSUDA, H.; PONGPIRIYADACHA, Y.; MORIKAWA, T.; KASHIMA, Y.; NAKANO, K.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of polygodial and related compounds on

ethanol induced mucosal lesions in rat: structural requirements and mode of action. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, p. 477-482, 2002.

MATSUDA, H.; PONGPIRIYADACHA, Y.; MORIKAWA, T.; KISHI, A.; KATAOKA, S.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of steroid saponins from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* on ethanol- or indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats: structural requirement for activity and mode of action. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, p. 1101–1106, 2003.

MAUCHLEY, D.; MENG, X.; JOHNSON, T.; TEITELBAUM, J.; BABU, A.; FULLERTON, D. A.; WEYANT, M. J. Heat shock protein 27: Induction by gastroduodenal reflux in vivo and augmentation of human esophageal mucosal cell growth in vitro. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 139, n. 4, 2010.

McLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, p. 513-524, 1998.

MELO, A. C.; COTA, B. B.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. HPLC quantification of kaurene diterpenes in *Xylopia* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 40-45, 2001.

MELO, P. S.; DURAN, N.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA-BRITO, A. R.M.; HAUN, M. Comparison of the gastroprotective effect of a diterpene lactone isolated from *Croton cajucara* with its synthetic derivatives. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 169– 174, 2003.

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

MEYER-HOFFERT, U.; HORNEF, M. W.; HENRIQUES-NORMARK, B. Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. **Gut**, v. 57, p. 764–71, 2008.

MILLER, M. J. S.; WALLACE, J. L. Nitric oxide and mucosal defense: a little goes a long way. **Gastroenterology**, v. 119, p. 512–520, 2000.

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

MOHAN, H.; In Text Book of Pathology, 4th ed.; Jaypee Publications: New Delhi, p. 520–530, 2002.

MOTILVA, V.; LA LASTRA, C. A.; BRUSEGHINI, L.; HERRERIAS, J. M.; SÁNCHEZ-FIDALGO, S. COX expression and PGE₂ and PGD₂ production in experimental acute and chronic gastric lesions. **International Immunopharmacology**, v. 5, p. 369–379, 2005.

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

MONTONERI, C.; DRAGO, F. Effects of pregnancy in rats on cysteamine-induced peptic ulcers (role of progesterone). **Digestive Diseases and Sciences**, v. 42, p. 2572-2575, 1997.

MONTROSE, M. H.; YASUTADA, A.; TAKEUCHI, K.; KUANITZ, J. D. **Gastroduodenal mucosal defense**. In: JOHNSON, L.R. (ed) New York: Academic Press, p. 1259–1291, 2006.

MORAES, T. M.; RODRIGUES, C.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T.; VILLEGAS, W.; PELLIZZON, C.; BRITO, A.; HIRUMALIMA, C. *Hancornia speciosa*: Indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 161-168, 2008.

MORAES, T. M.; KUSHIMA, H.; MOLEIRO, F. C.; SANTOS, R. C.; ROCHA, L. R. M.; MARQUES, M. O.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. **Chemico-Biological Interactions**, v. 180, p. 499–505, 2009.

MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; CONTINI, K.; LAGO, J. H. G. Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopia emarginata* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 55-58, 2007.

MORIKAWA, T.; LI, N.; NAGAMOTO, A.; MATSUDA, H.; LI, X.; YOSHIKAWA, M. Triterpene saponins with gastroprotective effects from tea seed (the seeds of *Camellia sinensis*). **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 185–190, 2006.

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

MORSCHL, É.; BRETUS, I.; PÁVÓ, I.; TOPA, L.; WEISZHAR, Z.; LÁSZLÓ, F. Nitric oxide-mediated mucus hypersecretion protects the stomach of ovariectomized rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 392, p. R5–R7, 2000.

MÖSSNER, J.; CACA, K. Developments in the inhibition of gastric acid secretion. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 35, p. 469-475, 2005.

MOTA, K. S. L. Avaliação da atividade antiulcerogênica de *Maytenus obtusifolia* Mart. (Celastraceae) em modelos animais. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2009.

MUKINDA, J. T.; SYCE, J. A. Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 138–144, 2007.

MURPHY, H. M.; WIDEMAN, C. H.; BROWN, T. S. Plasma corticosterone levels and ulcer formation in rats with hippocampal lesions. **Neuroendocrinology**, v. 28, p. 123–130, 1979.

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

MUTHURAMAN, A.; SOOD, S. Antisecretory, antioxidative and antiapoptotic effects of montelukast on pyloric ligation and water immersion stress induced peptic ulcer in rat. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 83, p. 55–60, 2010.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T. Oxidative stress involvement and gene expression in indomethacin-induced gastropathy. **Redox Report**, v. 11, p. 243–253, 2006.

NASCIMENTO, I. A.; ARAÚJO, M. M. S. Testes Ecotoxicológicos Marinhos: Análise de Sensibilidade. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v. 2, p. 41–47, 1999.

NEWMAN, D. J.; PRICE, C. P. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (Eds.). **Tietz text book of Clinical Chemistry**, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 1204–1270, 1999.

NGUELEFACK, T. B.; FEUMEBO, C. B.; ATEUFACK, G.; WATCHO, P.; TATSIMO, S.; ATSAMO, A. D.; TANE, P.; KAMANYI, A. Antiulcerogenic properties of the aqueous and methanol extracts from the leaves of *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 135–140, 2008.

NISHIO, H.; TERASHIMA, S.; NAKASHIMA, M.; AIHARA, E.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype and prostacyclin IP receptor in decreased acid response in damaged stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, p. 407–21, 2007.

OBICI, S.; OTOBONE, F. J.; SELA, V. R. S.; ISHIDA, K.; DA SILVA, J. C.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G.; AUDI, E. A. Preliminary toxicity study of dichloromethane extract of *Kielmeyera coriacea* stems in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 131–139, 2008.

ODASHIMA, M.; OTAKA, M.; JIN, M.; KOMATSU, K.; WADA, I.; MATSUHASHI, T.; HORIKAWA, Y.; HATAKEYAMA, N.; OYAKE, J.; OHBA, R.; LINDEN, J.; WATANABE, S. Selective adenosine A2A receptor agonist, ATL-146e, attenuates stress-induced gastric lesions in rats. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 20, p. 275–280, 2005.

The Organization of Economic Co-operation Development (OECD). The OECD Guideline for Testing of Chemical: 407 Repeated Dose Oral Toxicity - Rodent: 28-Day or 14-Day Study. **OECD**, Paris, p. 1–7, 2001.

OHNO T.; HATTORI Y.; KOMINE R.; MIZUGUCHI, S.; ARAI, K.; SAEKI, T.; SUZUKI, T.; HOSONO, K.; HAYASHI, I.; OH-HASHI, Y.; KURIHARA, Y.; KURIHARA, H.; AMAGASE, K.; OKABE, S.; SAIGENJI, K.; MAJIMA, M. Roles of calcitonin gene-related peptide in maintenance of gastric mucosal integrity and in enhancement of ulcer healing and angiogenesis. **Gastroenterology**, v. 134, p. 215–25, 2008.

OKABE, S.; AMAGASE, K. An Overview of Acetic Acid Ulcer Models - The History and State of the Art of Peptic Ulcer Research. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, p. 1321-1341, 2005.

OLBE, L.; CARLSSON, E.; LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: The case histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, p. 132-139, 2003.

OLIVEIRA, A. P.; FURTADO, F. F.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F.; MAFRA, R. A.; ARAÚJO, D. A. M.; CRUZ, J. S.; MEDEIROS, I. A. Calcium channel blockade as a target for the cardiovascular effects induced by de 8 (17), 12E, 14-labdatrien-18-oic acid (labdane-302). **Vascular Pharmacology**, v. 44, p. 338-344, 2006.

OLIVEIRA, A. P. Estudo dos efeitos cardiovasculares do ácido 8 (17), 12E, 14-labdatrieno-18 (óico), um diterpeno isolado da *Xylopia langsdorffiana* St. Hil & Tul. (Annonaceae) em ratos. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2004.

OLIVEIRA, F. A.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R.; SANTOS, K. A.; MARTINS, F. S.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective effect of the mixture of alpha- and beta-amyrin from *Protium heptaphyllum*: role of capsaicin sensitive primary afferent neurons. **Planta Medica**, v. 70, p. 780–782, 2004a.

OLIVEIRA, F. A.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R.; FLORENCIO, M. G.; LIMA JR., R. C.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective and antiinflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacological Research**, v. 49, p. 105–111, 2004b.

OMENA, M. L. R. A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do bioma caatinga. **Saúde Ambiente Revista**, v. 2, p. 92-107, 2007.

ORLANDO, L. A.; LENARD, L.; ORLANDO, R. C. Chronic hypergastrinemia: causes and consequences. **Digestive Diseases Sciences**, v. 52, p. 2482–2489, 2007.

OSORIO, E.; ARANGO, G. J.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRRESZ, D.; PACO, M. A.; GIMÉNEZ, A.; ROBLEDO, S. Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of colombian Annonaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 630-635, 2007.

PALMEIRO, N. M. S.; ALMEIDA, C. E.; GHEDINI, P. C.; GOULART, L. S.; PEREIRA, M. C. F.; HUBER, S.; SILVA, J. E. P.; LOPES, S. Oral subchronic toxicity of aqueous

crude extract of *Plantago australis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 15–18, 2003.

PARK, S.; HAHM, K.; OH, T.; JIN, J.; CHOU, R. Preventive effect of the flavonoid, Wogonin, against ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, p. 384–394, 2004.

PASTORIS, O.; VERRI, M.; BOSCHI, F.; KASTIUCHENKA, O.; BALESTRA, B.; PACE, F. Effects of esomeprazole on glutathione levels and mitochondrial oxidative phosphorylation in the gastric mucosa of rats treated with indomethacin. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 378, p. 421–9, 2008.

PEREIRA, J. V. Bioquímica clínica. Ed. Universitária/UFPB, p. 361, 2002.

PESKAR, B. M. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defense and ulcer healing. **Inflammopharmacology**, v. 13, p. 15–26, 2005.

PHILLIPSON, M.; JOHANSSON, M.E.V.; HENRIKSNAS, J.; PETERSSON, J.; GENDLER, S. J.; SANDLER, S.; PERSSON, A. E. G.; HANSSON, G. C.; HOLM, L. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 295, p. G806–G812, 2008.

PHILLIPSON, M.; ATUMA, C.; HENRIKSNAS, J.; HOLM, L. The importance of mucus layers and bicarbonate transport in preservation of gastric juxtamucosal pH. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 282, n. 2, p. G211-G219, 2002.

PIMENTEL-MONTANHER, A. B.; PIZZOLATTI, M. G.; COSTA BRIGHENTE, I. M. An Application of the *Brine Shrimp* Bioassay for General Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 21, p. 175-8, 2002.

PITA, J. C. L. R. Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade do trachylobano-360 de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2010.

PONTES, A. F.; BARBOSA, M. R. V.; MAAS, P. J. M. Flora paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica**, v. 2, p. 281-293, 2004.

POONAM, D.; VINAY, C. S.; GAUTAM, P. Cyclo-oxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in experimental chronic gastric ulcer healing. **European Journal of Pharmacology**, v. 519, p. 277–284, 2005.

PRUETT, S. B. Stress and the immune system. **Pathophysiology**, v. 9, p.133-153, 2003.

PUSCAS, I.; PUSCAS, C.; COLTAU, M.; PASÇA, R.; TORRES, J.; MÁRQUEZ, M.; HERRERO, E.; FILLAT, O.; ORTIZ, J. A. Comparative study of the safety and

efficacy of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxicam-induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittelforschung**, v. 47, p. 568-572, 1997.

QUI, B. S.; MEI, Q. B.; LIU, L.; TCHOU-WONG, K. M. Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress. **World Journal of Gastroenterology**, v. 10, p. 594, 2004.

RAFFATULLAH, S.; TARIQ, M.; AL-YAHYA, M. A.; MOSSA, J. S.; AGEEL, A. M. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, p. 25-34, 1990.

RAHMAN, M. F.; SIDDIQUI, M. K.; JAMIL, K. Effects of Vepacide (*Azadirachta indica*) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in a sub chronic study with rats. **Journal of Human and Experimental Toxicology**, v. 20, p. 243–249, 2001.

RAINSFORD, K. D. Inhibition by leukotriene inhibitors, and calcium and platelet-activating factor antagonists, of acute gastric and intestinal damage in arthritic rats and in cholinomimetic-treated mice, **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, p. 331–339, 1999.

RAMAKRISHNAN, K.; SALINAS, R. C. Peptic Ulcer Disease. **American Family Physician**, v. 76, p. 1005–1012, 2007.

RAO, C. V.; VERMA, A. R.; VIJAYAKUMAR, M.; RASTOGI, S. Gastroprotective effect of standardized extract of *Ficus glomerata* fruit on experimental gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 323–326, 2008.

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

RATES, S. M. K. Plants as source drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

RAZA, M.; AL-SHABANAH, O. A.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-MAJED, A. A Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. **Scientia Pharmaceutica**, v. 70, p. 135–145, 2002.

REPETTO, M. G; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 523-534, 2002.

RIBEIRO, A. Q.; SEVALHO, G.; CÉSAR, C. C. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the occurrence of gastric lesions among patients undergoing upper endoscopy in a university hospital in Brazil. **Clinics**, v. 61, p. 409–416, 2006.

RIBEIRO, E. A. N. Estudos das ações cardiovasculares de dois compostos (ácido ent-15 α -acetoxicaur-16-em-19-óico –CA- acetoxi e 4-Nitro-N-fenilmaleimida – 4-NO₂) em ratos. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Produtos

Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2005.

RIBEIRO, L. A. A. Ação Relaxante do Ácido Labda-8(17),12,14-trien-18-óico, Diterpeno Isolado de *Xylopiá langsdorffina* A. St.-Hil & Tul. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2003.

ROBERTS, S.; MCDONALD, I. M. In Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 6th ed.; Abraham, D. J. Ed. John Wiley: New Jersey, v. 42003, p. 86–121, 2003.

RODRÍGUEZ, J. A.; ASTUDILLO, L.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Oleanolic acid promotes healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats. **Pharmacological Research**, v. 48, p. 291-294, 2003.

RODRÍGUEZ, J. A.; BUSTAMANTE, C.; ASTUDILLO, L.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective activity of solidagenone on experimentally induced gastric lesions in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, p. 399–404, 2002.

RODRÍGUEZ, J. A.; THEODULOZ, C.; SÁNCHEZ, M.; YÁÑEZ, T.; RAZMILIC, I.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective activity of a new semisynthetic solidagenone derivative in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p. 265–271, 2005.

RODRÍGUEZ, J. A.; THEODULOZ, C.; YÁÑEZ, T.; BECERRA, J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective and ulcer healing effect of ferruginol in mice and rats: assessment of its mechanism of action using in vitro models. **Life Sciences**, v. 78, p. 2503–2509, 2006.

RODRIGUEZ-TELLEZ, M.; ARGUELLES, F.; HERRERIAS JR, J. M.; LEDRO, D.; ESTEBAN, J.; HERRERIAS, J. M. Antiinflammatory agents less dangerous for gastrointestinal tract. **Current Pharmaceutical Design**, v. 7, p. 951–76, 2001.

ROENGSUMRAN, S.; PETSON, A.; KUPTIYANUWAT, N.; VILAIWAN, T.; NGAMROJNAVAWICH, N.; CHAICHANTIPYTH, C.; PHUTHONGS. Citotoxic labdane diterpenes from *Cronton oblongifolius*. **Phytochemistry**, v. 56, p. 103-107, 2001.

ROVER-JÚNIOR. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, p. 112-119, 2001.

RUJJANAWATE, C.; KANJANAPOTHI, D.; AMORNLERDPISON, D.; POJANAGAROON, S. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 120-122, 2005.

- RUPRECHT, J. K.; HUI, Y. H. MC; LAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: a review. **Journal of Natural Products**, v. 53, p. 237-278, 1990.
- SAAD, B.; AZAIZEH, H.; ABU-HIJLEH, G.; SAID, S. Safety of traditional Arab herbal medicine. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, p. 433-439, 2006.
- SAHIN, E.; GUMUSLU, S. Immobilization stress in rat tissues: alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 144, p. 342-347, 2007.
- SAIRAM, K.; RAO, C. H. V.; BABU, M. D.; KUMAR, V.; AGRAWAL, V. K.; GOEL, R. K. Antiulcerogenic activity of methanolic extract of *Embllica officinalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p. 1-9, 2002.
- SALASPURO, M. P. Alcohol consumption and cancer of the gastrointestinal tract. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, p. 679-694, 2003.
- SALIM, A. S. Gastric mucosal cytoprotection in the rat by scavenging oxygen derived free radicals. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 302, p. 287-292, 1991.
- SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; IM'ARTÍN-LACAVE, I.; ILLANES, M.; MOTILVA, V.; Angiogenesis, cell proliferation and apoptosis in gastric ulcer healing. Effect of a selective cox-2 inhibitor. **European Journal of Pharmacology**, v. 505, p. 187-194, 2004.
- SANDES, A. R. R.; DI BLASI, G. Biodiversidade e diversidade Química e genética. In: **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, Ano 2, n. 13, p. 28-32, 2000.
- SANNOMIYA, M.; FONSECA, V. B.; DA SILVA, M. A.; ROCHA, L. R. M.; DOS SANTOS, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Flavonoids and ulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 1-6, 2005.
- SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 55, p. 567-573, 2000.
- SANTOS, V. L. Avaliação da atividade antiulcerogênica, antidiarréica e antiespasmódica do extrato etanólico bruto e fase acetato de etila obtidos da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* mart. (celastraceae) em modelos animais. Tese (doutorado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2008.
- SATYANARAYANA, M. N. Capsaicin and Gastric Ulcers. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, p. 275-328, 2006.

SCARPIGNATO, C.; PELOSINI, I.; DI MARIO, F. D. Acid suppression therapy: Where do we go from here? **Digestive diseases**, v. 24, p. 11-46, 2006.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Free Radical. **Biology and Medicine**, v. 30, p. 1191, 2001.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; RODRÍGUEZ, J. A.; ASTUDILLO, L. Gastroprotective activity of the diterpene solidagenone and its derivatives on experimentally induced gastric lesions in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 111–5, 2002.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; YESILADA, E. Tradicional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 61-66, 2005.

SCHMITZ, F.; GÖKE, M. N.; OTTE, J. M.; SCHRADER, H.; REIMANN, B.; KRUSE, M. L.; SIEGEL, E. G.; PETERS, J.; HERZIG, K. H.; FÖLSCH, U. R.; SCHMIDT, W. E. Cellular expression of CCK-A and CCK-B/gastrin receptors in human gastric mucosa. **Regulatory Peptides**, v. 102, p. 101–110, 2001.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, Nº 4 – Jul/Ago, 2004.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 19, p. 519-525, 2003.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 20, p. 519–525, 2004.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 23, p. 595–601, 2007.

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.

SCHULTZ, C; BOSSOLANI, M. P.; TORRES, L. M. B.; LIMA-LANDMANA, M. T. R.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. Inhibition of the gastric H⁺,K⁺-ATPase by plectrinone A, a diterpenoid isolated from *Plectranthus barbatus* Andrews. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 1–7, 2007.

SEPÚLVEDA, B.; ASTUDILLO, L.; RODRÍGUEZ, J. A.; YÁÑEZ, T.; THEODULOZ, C.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective and cytotoxic effect of dehydroabietic acid derivatives. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 429–437, 2005.

SHAY, H.; KOMAROV, S. A.; FELS, S. S.; MERANZE, D.; GRUENSTEIN, M.; SIPLET, H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. **Gastroenterology**, v. 5, p. 43-61, 1945.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, p. 291–295, 1997.

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

SILVA, N. C. B.; ESQUIBEL, M. A.; ALVES, I. M.; VELOZO, E. S.; ALMEIDA, M. Z.; SANTOS, J. E. S.; CAMPOS-BUZZI, F.; MEIRA, A. V.; CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive effects of *Abarema cochliacarpus* (B.A. Gomes) Barneby & J. W. Grimes (Mimosaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 46–50, 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS, 2004.

SINGAB, A. N.; YOUSSEF, D. T.; NOAMAN, E.; KOTB, S. Hepatoprotective effect of flavonol glycosides rich fraction from *Egyptian Vicia calcarata* Desf. against CCl₄-induced liver damage in rats. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, p. 791–798, 2005.

SINGH, S.; KHAJURIA, A.; TANEJA, S. C. The gastric ulcer protective effect of boswellic acids, aleukotriene inhibitor from *Boswellia serrata*, in rats, **Phytomedicine**, v. 15, p. 408–415, 2008.

SLOMIANY, B. L.; PIOTROWSKI, J.; SLOMIANY, A. Role of caspase-3 and nitric oxide synthase-2 in gastric mucosal injury induced by indomethacin: effect of sucralfate. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 50, p. 3–16, 1999a.

SLOMIANY, B. L.; PIOTROWSKI, J.; SLOMIANY, A. Role of endothelin-1 and constitutive nitric oxide synthase in gastric mucosal resistance to indomethacin injury: effect of antiulcer agents. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 34, p. 459–464, 1999b.

SOMOVA, L. I.; SHODE, F. O.; MOODLEY, K.; GOVENDER, Y. Cardiovascular and diuretic activity of kaurene derivatives of *Xylopia aethiopica* and *Alepidea amatymbica*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 165-174, 2001.

SONNENBERG, A.; EVERHART, J. E. The prevalence of self-reported peptic ulcer in the United States. **American Journal of Public Health**, v. 86, p. 200-5, 1996.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, Go, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 135-142, 2006.

SOUZA, C. F.; FERNANDES, L. C.; CYRINO, E. S. Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 8, p. 102-109, 2006.

SOUZA, L. A.; MOURÃO, K. S. M.; MOSCHETA, I. S.; ROSA, S. M. Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 175-184, 2003.

SOUZA-BRITO, A. R. M. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 54, p. 131-138, 1996.

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

SOUZA-BRITO, A. R. M.; RODRÍGUEZ, J. A.; HIRUMA-LIMA, C.; HAUN, M.; NUNES, D. Antiulcerogenic activity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. **Planta Medica**, v. 64, p. 126–129, 1998.

SRIKANTA, B. M.; SIDDARAJU, M. N.; DHARMESH, S. M. A novel phenol-bound pectic polysaccharide from *Decalepis hamiltonii* with multi-step ulcer preventive activity. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, p. 5196-5207, 2007.

STEVENS, K. R.; MYLECRAINE, L. Issues in chronic toxicology. In: Hayes, A.W. (Ed.), *Principles and Methods of Toxicology*, 3rd ed. Raven Press, New York, p. 673, 1994.

STOICOV, C.; SAFFARI, R.; CAI X.; HASYAGAR, C.; HOUGHTON, J. Molecular biology of gastric cancer: *Helicobacter infection* and gastric adenocarcinoma: bacterial and host factors responsible for altered growth signaling. **Gene**, v. 341, p. 1–17, 2004.

SZABO, S.; BROWN, A. Prevention of ethanol-induced vascular injury and gastric mucosal lesions by sucralfate and its components: possible role of endogenous sulfhydryls, **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 185, p. 493–497, 1987.

SZABO, S.; CALLAGHER, G. T.; HORNER, H. C.; FRANKEL, P. W.; UNDERWOOD, R. H.; KONTUREK, S. J.; BRZOZOWSKI, T.; TRIER, J. S. Role of the adrenal cortex in gastric mucosal protection by prostaglandins, sulfhydryls, and cimetidine in the rat. **Gastroenterology**, v. 85, p. 1384– 1390, 1983.

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

SZEPES, Z.; MORSCHL, É.; KISS, J.; PÁVÓ, I.; WHITTLE, B. J. R.; VARGA, C.; LÁSZLÓ, F. A.; LÁSZLÓ, F. Detrimental effects of oestradiol on cysteamine-induced gastroduodenal ulceration in the female rat. **The Journal of Physiology**, v. 93, p. 491–494, 1999.

TAIRA, K.; WATANABE, T.; TANIGAWA, T.; SHIBA, M.; TOMINAGA, K.; FUJIWARA, Y.; OSHITANI, N.; HIGUCHI, K.; ARAKAWA, T. Roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E receptors in gastric mucosal defence in *Helicobacter pylori*-infected mice. **Inflammopharmacology**, v. 15, p. 132–8, 2009.

TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. **Journal of Pharmacy**, v. 19, p. 418–426, 1969.

TAKAHASHI, J. A.; VIEIRA, H. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Mono and diterpenes from seeds of *Xylopia sericea*. **Química Nova**, v. 24, p. 616–618, 2001.

TAKAHASHI, S.; FUJITA, T.; YAMAMOTO, A. Role of nuclear factor- κ B in gastric ulcer healing in rats. **American Journal of Physiology**, v. 280, p. G1296–304, 2001.

TAKEUCHI, K.; AIHARA, E.; SASAKI, Y.; NOMURA, Y.; ISE, F. Involvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin E_2 and EP_1 receptors in acid-induced. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, p. 661–76, 2006.

TAKEUCHI, K.; NISHIWAKI, H.; OKADA, M.; NIIDA, H.; OKABE, S. Bilateral adrenalectomy worsens gastric mucosal lesions induced by indomethacin in the rat. Role of enhanced gastric motility. **Gastroenterology**, v. 97, p. 284–293, 1989.

TAKEUCHI, K.; SUZUKI, H. K.; ARAKI, H.; MIZOGUCHI, H.; SUGAMOTO, S.; UMDEDA, A. Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide in gastroduodenal ulcerogenic responses induced in rats by hypothermic stress. **The Journal of Physiology**, v. 93, p. 423–431, 1999.

TANAKA, A.; HATAZAWA, R.; TAKAHIRA, Y.; IZUMI, N.; FILARETOVA, L.; TAKEUCHI, K. Preconditioning Stress Prevents Cold Restraint Stress-Induced Gastric Lesions in Rats: Roles of COX-1, COX-2, and PLA_2 . **Digestive Diseases and Sciences**, v. 52, p. 478–487, 2007b.

TANAKA, A.; MATSUMOTO, M.; HAYASHI, Y.; TAKEUCHI, K. Functional mechanism underlying cyclooxygenase-2 expression in rat small intestine following administration of indomethacin: relation to intestinal hypermotility. **Journal of Gastroenterology**, v. 20, p. 38–45, 2005.

TANAKA, K.; TSUTSUMI, S.; ARAI, Y.; HOSHINO, T.; SUZUKI, K.; TAKAKI, E.; ITO; TAKEUCHI, K. NAKAI, A.; MIZUSHIMA, T. Genetic evidence for a protective role of heat shock factor 1 against irritant-induced gastric lesions. **Molecular Pharmacology**, v. 71, p. 985–993, 2007a.

TANAKA, R.; OHTSU, H.; IWAMOTO, M.; MINAMI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; MATSUNAGA, S.; YOSHITAKE, A. Cancer chemopreventive agents, labdane diterpenoids from the stem bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr. **Cancer Letters**, v. 161, p. 165–170, 2000.

TANDON, J. S.; ROY, R.; BALACHANDRAN, S.; VISHWAKARMA, R. A. Epi-deoxycoleonol, a new antihypertensive labdane diterpenoid from *Coleus forskohlii*. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v. 2, p. 249–254, 1992.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, p.S24–33, 2005.

TARNAWSKI, A.; SZABO, I. L.; HUSAIN, S. S.; SOREGHAN, B. Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal transduction pathways. **Journal Physiology - Paris**, v. 337, p. 344-95, 2001.

TAUPIN, D.; PODOLSKY, D. K. Trefoil factors initiators of mucosal healing. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, p. 721, 2003.

TAVARES, J. F. Alcalóides de *Xylopi langsdorffiana* A. St.-Hil & Tul (Annonaceae). Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2004.

TAVARES, J. F.; QUEIROGA, K. F.; SILVA, M. V. B.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DA-CUNHA, E. V. L.; SIMONE, C. A.; ARAÚJO-JUNIOR, J. X.; MELO, P. S.; HAUN, M.; SILVA, M. S. ent-Trachylobane Diterpenoids from *Xylopi langsdorffiana*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 960-2, 2006.

TAVARES, J. F.; SILVA, M. V. B.; QUEIROGA, K. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; HAUN, M.; MELO, P. S.; SILVA, M. S. Xylodiol, a New Atisane Diterpenoid from *Xylopi Langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). **Zeitschrift für Naturforschung B – A Journal of Chemical Sciences**, v. 62b. p. 742-744, 2007a.

TAVARES, J. F.; SILVA, M. V. B.; QUEIROGA, K. F.; MARTINS, R. M.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; DA-SILVA, M. S. Composition and molluscicidal properties of essential oils from leaves of *Xylopi langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, p. 282-284, 2007b.

TEO, S.; STIRLING, D.; THOMAS, S.; HOBERMAN, A.; KIORPES, A.; KHETANI, V. A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d,l-methylphenidate in Sprague Dawley rats. **Toxicology**, v. 179, p. 183–196, 2002.

TRAVASSOS, R. A. Envolvimento de canais para potássio e de nucleotídeos cíclicos no mecanismo de ação tocolítico do ácido 8(17),12E,14-labdatrien-18-óico (labdano 302) em útero isolado de rata. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, 2010.

TSUJI, S.; SUN, W. H.; TSUJII, M.; KAWAI, N.; KIMURA, A.; KAKIUCHI, Y. Lansoprazole induces mucosal protection through gastrin receptor dependent up-regulation of cyclooxygenase-2 in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 303, p. 1301–8, 2002.

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

UMAMAHESWARI, M.; ASOKKUMAR, K.; RATHIDEVI, R.; SIVASHANMUGAM, A. T.; SUBHADRADEVI, V.; RAVI, T. K. Antiulcer and *in vitro* antioxidant activities of

Jasminum grandiflorum L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 464-470, 2007.

URUSHIDANI, T.; KASUYA, Y.; OKABE, S. The mechanism of aggravation of indomethacin-induced gastric ulcer by adrenalectomy in the rat. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 29, p. 775–80, 1979.

UTSUMI, H.; YASUKAWA, K.; SOEDA, T.; YAMADA, K.; SHIGEMI, R.; YAO, T.; TSUNEYOSHI, M. Noninvasive mapping of reactive oxygen species by in vivo electron spin resonance spectroscopy in indomethacin-induced gastric ulcers in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 317, p. 228–235, 2006.

VANCINI, L. R.; LIRA, C. A. B.; ABOULAFIA, J.; NOUAILHETAS, V. L. A. Radical livre, estresse oxidativo e exercício. São Paulo: Centro de estudos de fisiologia do exercício. Universidade Federal de São Paulo. 1-10, 2005.

VASCONCELOS, P. C. P.; KUSHIMA, H.; ANDREO, M.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; TAKAHIRA, R. K.; PELLIZZON, C. H. Studies of gastric mucosa regeneration and safety promoted by *Mouriri pusa* treatment in acetic acid ulcer model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 293–301, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323-1338, 2007.

VEDERNIKOV, Y. P.; SYAL, A. S.; OKAWA, T.; SAADE, G. R.; GARFIELD, R. E. Adenylate cyclase and potassium channels are involved in forskolin and 1,9-dideoxyforskolin induced inhibition of pregnant rat uterus contractility. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 182, p. 620-624, 2000.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura ? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VIEGAS-JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os Produtos Naturais e a química Medicinal Moderna, **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VILEGAS, W.; FELICIO, J. D.; ROQUE, N. F.; GOTTLIEB H. E. Diterpenic adducts from *Xylopia* species. **Phytochemistry**, v. 30, p. 1869-1872, 1991.

VILLEGAS, I.; LA CASA, C.; LA LASTRA, C. A.; MOTILVA, V.; HERRERÍAS, J. M.; MARTÍN, M. J. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: Role of prostaglandins and inflammatory response **Life Sciences**, v. 74, p. 873–884, 2004.

VONKEMAN, H. E.; KLOK, R. M.; POSTMA, M. J.; BROUWERS, J. R.; VAN DE LAAR, M. A. Direct medical costs of serious gastrointestinal ulcers among users of NSAIDs. **Drugs Aging**, v. 24, p. 681–690, 2007.

VUORELA, P.; LEINONEN, M.; SAIKKU, P.; TAMMELA, P.; RAUHA, J. P.; WENNBERG, T.; VUORELA, H. Natural products in the process of finding new drug candidates. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1375-1389, 2004.

WAHI, A.; ROBLOT, F.; CAVE, A. Isolation and Structure Elucidation of Xylobuxin, A New Neolignan from *Xylopi buxifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 54, p. 786-789, 1995.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 15, p. 691-703, 2001.

WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? **Physiology Review**, v. 88, p.1547-1565, 2008.

WALLACE, J. L.; MCKNIGHT, G. W. The mucoid cap over superficial gastric damage in the rat. A high-pH microenvironment dissipate by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and endothelin. **Gastroenterology**, v. 99, p. 295-304, 1990.

WALLACE, J. L.; KEENAN, C. M.; GRANGER, D. N. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil dependent process. **American Journal of Physiology**, v. 259, p. G462-G467, 1990.

WATERWORTH, R. F.; WATERWORTH, S. M.; TAYLOR, K. M. A comparison of tenoxicam and piroxicam in a long-term clinical study in patients with osteoarthritis of hip or knee joints. **European Journal of Rheumatology Inflammation**, v. 8, p. 21-27, 1985.

WEISS, J. M. Effects of coping behavior in different warning signal conditions on stress pathology in rats. **Journal of Comparative & Physiological Psychology**, v. 77, p. 1-13, 1971.

WEUSTEN, B. L.; JACOBS, J. W.; BIJLSMA, J. M. Corticosteroid pulse therapy in active rheumatoid arthritis. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 23, p. 183-192, 1993.

WHITTLE, B. J. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 17, p. 301-13, 2002.

WONG, D.; KOO, M. W. L.; SHIN, V. Y.; LIU, E. S. L.; CHO, C. Pathogenesis of nicotine treatment and its withdrawal on stress-induced gastric ulceration in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 484, p. 81, 2002.

WU, Y.; WANG, F.; ZHENG, O.; LU, L.; YAO, H. Hepatoprotective effect of total flavonoids from *Laggera alata* against carbon tetrachloride-induced injury in primary cultured neonatal rat hepatocytes and in rats with hepatic damage. **Journal of Biomedical Science**, v. 13, p. 569-578, 2006.

YANG, Y. H.; WU, W. K.; TAI, E. K.; WONG, H. P. S.; LAM, E. K. Y.; SO, W. H. L.; SHIN, V. Y.; CHO, C. H. The cationic host defense peptide rCRAMP promotes gastric ulcer healing in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 318, p. 547-554, 2006.

ZANNER, R.; HAPFELMEIER, G.; GRATZL, M.; Prinz, C. Intracellular signal transduction during gastrin-induced histamine secretion in rat gastric ECL cells. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 282, p. C374–C382, 2002.

ZAPATA-COLINDRES, J. C.; ZEPEDA-GOMEZ, S.; MONTANO-LOZA, A.; VAZQUEZ-BALLESTEROS, E.; JESUS-VILLALOBOS, J.; VALDOVINOS-ANDRACA, F. The association of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease. **Canadian Journal of gastroenterology**, v. 20, p. 277-280, 2006.

ZHU, A.; KAUNITZ, J. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Gastroenterology Reports**, v. 10, p. 548–54, 2008.

ZHU, J. X.; WANG, Y.; KONG, L. D.; YANG, C.; ZHANG, X. Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxone-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 133, 2004.

ZIMMERNANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p.109-110, 1983.

ZIZIC, T. M.; SUTTON, J. D.; STEVENS, M. B. Long-term experience with piroxicam in osteoarthritis. **Seminars in Arthritis Rheumatoid**, v. 14, p. 14–19, 1985.

Anexos

ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL
CERTIDÃO

João Pessoa, 02 de julho de 2009

CEPA N°. 0106/09

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisadores: Profa. Dra. Leonia Maria Batista (orientadora)

Departamento/Setor: LTF/CCS

Ref.: Projeto de Pesquisa: "Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato etanólico bruto e da fase clorofórmica obtidos das folhas de *Xylopia langsdorffiana* A. St.-Hil. & Tul."

O Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, em reunião, **ANALISOU e APROVOU** a execução do projeto acima.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Sandra Rodrigues Mascarenhas
Presidente em Exercício do Comitê de Ética em Pesquisa Animal do LTF/UFPB

ANEXO 2

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso				
	até 30'	1h	2h	3h	4h
1 – SNC					
a – Estimulante					
Hiperatividade					
Iritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissas					
Outras					
b – Depressora					
Hipnose					
Ptose					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
c – Outros comportamentos					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Limpeza					
Levantar					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					
Pedalar					
Estereotípia					
2 - SN AUTÔNOMO					
Diarréia					
Constipação					
Defecação aumentada					
Respiração forçada					
Lacrimajamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tônus muscular					
Força para agarrar					
3 – MORTE					

Observações complementares.: _____

Responsável Técnico