



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS**

PATRÍCIA DE ALMEIDA NÓBREGA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO
METANÓLICO DA *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze EM MODELOS ANIMAIS**

Macapá/AP
2018

PATRÍCIA DE ALMEIDA NÓBREGA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO
METANÓLICO DA *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Ciências da Saúde, na
área de concentração ensaios biológicos,
como requisito ao título de mestre em
Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a.Dra. Alessandra
Azevedo do Nascimento

Macapá/AP
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá
Bibliotecária: Thalita Ferreira (CRB2-1557)

615.321

N744a Nóbrega, Patrícia de Almeida.

Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato metanólico da *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze em animais / Patrícia de Almeida Nóbrega, orientadora, Alessandra Azevedo do Nascimento. -- Macapá, 2018.
73 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Plantas medicinais - Região amazônica. 2. Pracaxi. 3. Medicamentos fitoterápicos. 4. I. Nascimento, Alessandra Azevedo, orientadora. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

PATRÍCIA DE ALMEIDA NÓBREGA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO
METANÓLICO DA *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Ciências da Saúde, na
área de concentração ensaios biológicos,
como requisito ao título de mestre em
Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a.Dra. Alessandra
Azevedo do Nascimento

DATA DE APROVAÇÃO: ____/ ____/ ____

Orientadora: Prof(a) Dr(a): ALESSANDRA AZEVEDO DO NASCIMENTO
Universidade Federal do Amapá - UNIFAP

Examinador externo: Prof. Dr: CLEYDSON BRENO RODRIGUES DOS SANTOS
Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

Examinador: Prof. Dr: FERNANDO ANTÔNIO DE MEDEIROS
Universidade Federal do Amapá – UNIFAP

Examinador: Prof. Dr: ROBERTO MESSIAS BEZERRA
Universidade Federal do Amapá - UNIFAP

Macapá/AP
2018

DEDICATÓRIA

À minha amada mãe Lúcia de Almeida Nóbrega que sempre me incentivou a estudar.

As minhas filhas Letícia de Almeida Nóbrega Sales e Geovana de Almeida Nóbregasales, que mesmo tão pequenas entenderam minha ausência.

A Alex Sandro sales da Silva que me ajudou inúmeras vezes e por compreender minhas ausências.

AGRADECIMENTOS

À Deus “toda honra e toda glória” por ter me dado força para prosseguir e concluir.

A professora Alessandra Azevedo do Nascimento, pela orientação magistral, pelas cobranças que muito me ensinaram e pela paciência.

Colegas do LEA pelos experimentos realizados até tarde, pelo apoio e pelas gargalhadas (Felipe, Giuvana, Marina Medeiros).

Ao meu marido Alex pela sua compreensão e ajuda.

A minha mãe Lúcia de Almeida Nóbrega, meu pai Antônio Oliveira da Nóbrega minhas irmãs Maria do Desterro de Almeida Nóbrega e Raquel de Almeida Nóbrega e meus irmãos Antônio de Almeida Nóbrega e Ricardo de Almeida Nóbrega que mesmo longe torceram por mim.

Minhas queridas filhas Letícia A. Nóbrega Sales e Geovana A. Nóbrega Sales meus tesouros, esse título é meu e de vocês!

A Judith Henriques que me ajudou, cuidando das minhas filhas para que eu pudesse cursar as disciplinas ir realizar os experimentos.

A minha amiga Priscila Faimann, pela ajuda nos experimentos, pela amizade construída.

A todos meus familiares por acreditarem no meu potencial e de alguma forma terem me ajudado nesta jornada.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, na pessoa do professor. Dr. Fernando Antônio de Medeiros, pelo auxílio prestado durante o mestrado.

Aos professores que fizeram parte da minha banca de qualificação pelas críticas e sugestões que tanto ajudaram o trabalho ficar melhor.

Aos rapazes responsáveis pela limpeza do laboratório: Gutemberg e Jubervan.

A cada animal que com sua vida contribuíram para a realização desse trabalho.

Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará.
Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.

Salmos 91:1 e 2

RESUMO

Pentaclethra macroloba, conhecida popularmente como “Pracaxi” é uma planta medicinal abundante na região amazônica, tem uso corrente na medicina popular das comunidades desta região, como anti-inflamatória, cicatrizante e para tratamento de problemas gástricos. O presente estudo objetiva investigar a atividade gastroprotetora do extrato metanólico da casca do caule de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze, bem como identificar possíveis mecanismos envolvidos nesta atividade, em animais experimentais. Para tanto, o extrato metanólico de *Pentaclethra macroloba* (EMPM) foi obtido por maceração a frio, e concentrado por rotaevaporação. A evidenciação da atividade de EMPM baseou-se em modelos experimentais que mimetizassem os fatores etiológicos de lesões gástricas no homem, como etanol acidificado (local) e drogas anti-inflamatórias não esteroidais (local e sistêmica). Nestes experimentos foram utilizado um grupo de animais (n=5) para cada um dos três níveis de dose do extrato (100, 250 e 625 mg/Kg), bem como para o grupo controle (veículo). Após cada experimento, os estômagos foram avaliados para determinação dos seguintes parâmetros: (a) área total da lesão, (b) percentagem de úlcera, (c) índice de lesões ulcerativas; (d) percentagem inibição ou cura. O EMPM apresentou efeito gastroprotetor (média±e.p.m) contra as lesões gástricas induzidas pelo etanol acidificado, diminuindo em todas as doses (100, 250 e 625 mg/Kg): a área total lesionada, o percentual de úlceras e o índice de lesões ulcerativas, chegando a promover uma percentagem de cura de respectivamente: 96,08%; 98,51% e 100 %, quando comparados com o grupo que recebeu apenas o veículo. O que demonstra uma expressiva atividade gastroprotetora frente a fatores agressores locais. No modelo de indução de lesão gástrica por AINEs, o EMPM na dose de 625 mg/Kg foi capaz de reduzir todos os parâmetros avaliados demonstrando uma percentagem de cura de até 84,33%. Sugerindo efeito antiulcerogênico via mecanismos citoprotetores. Para investigação dos mecanismos envolvidos na ação gastroprotetora de EMPM foi aferida a ação cicatrizante e antissecretória de EMPM em modelos de úlceras induzidas por ligadura de piloro utilizando duas vias de administração. O EMPM (625 mg/kg) promoveu maior proteção da mucosa gástrica, quando administrado por via intraduodenal com cerca de 63,7% de cura, em relação a via oral de administração onde este percentual foi de apenas 21% de cura. Esses resultados sugerem que a ação do extrato ocorre majoritariamente por um efeito sistêmico. Os parâmetros de volume do conteúdo gástrico, pH, e acidez livre não foram alterados em quaisquer um dos protocolos desenvolvidos. Também foi avaliado o envolvimento de importantes agentes protetores da mucosa gástrica como os grupamentos sulfidrílicos e o óxido nítrico, nesta resposta. Evidenciou-se, portanto, que quando o extrato foi administrado na presença de inibidores (NEM e L-NANE), respectivamente, dos grupamentos sulfidrílicos e do óxido nítrico, ocorreu atenuação da resposta antiulcerogênica para ambos os parâmetros avaliados demonstrando que estes participam do mecanismo gastroprotetor evocado pelo extrato. Diante de todos os resultados obtidos concluímos que o extrato de *Pentaclethra macroloba* apresenta uma notável atividade antiulcerogênica, possivelmente em decorrência de um efeito, majoritariamente, sistêmico e relacionado à participação dos grupamentos sulfidrílicos e óxido nítrico, e sem envolvimento aparente de atividade antissecretória gástrica.

Palavras- chave: Mecanismo Antiulcerogênico; Planta Medicinal; Pracaxi.

ABSTRACT

Pentaclethra macroloba, commonly known as "Pracaxi", is a medicinal plant abundant in the Amazon region, has current use in folk medicine in the communities of this region, as anti-inflammatory, healing and for treatment of gastric problems. The present study aims to investigate the gastroprotective activity of the methanolic extract of the stem bark of *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze, as well as to identify possible mechanisms involved in this activity in experimental animals. For this, the methanolic extract of *Pentaclethra macroloba* (EMPM) was obtained by cold maceration, and concentrated by rotaevaporation. Evidence of EMPM activity was based on experimental models that mimic the etiological factors of gastric lesions in humans, such as acidified ethanol (local) and non-steroidal anti-inflammatory drugs (local and systemic). In these experiments a group of animals ($n = 5$) were used for each of the three dose levels of the extract (100, 250 and 625 mg / kg), as well as for the control group (vehicle). After each experiment, the stomachs were evaluated for the following parameters: (a) total area of the lesion, (b) percentage of ulcer, (c) index of ulcerative lesions; (d) inhibition or cure percentage. EMPM showed a gastroprotective effect (mean $\pm$ SEM) against gastric lesions induced by acidified ethanol, decreasing at all doses (100, 250 and 625 mg / kg): total lesion area, percentage of ulcers and ulcerative lesion index, reaching a cure rate of: 96.08%; 98.51% and 100% when compared to the vehicle-only group. This demonstrates an expressive gastroprotective activity against local aggressors. In the model of induction of gastric lesion by NSAIDs, EMPM, in the dose of 625 mg / kg, was able to reduce all parameters evaluated, demonstrating a Cure percentage of up to 84.33%. Suggesting antiulcerogenic effect via cytoprotective mechanisms. To investigate the mechanisms involved in the gastroprotective action of EMPM, the cicatrizing and antisecretory action of EMPM in pyloric ligature-induced ulcer models was assessed using two administration routes. The EMPM (625 mg / kg) promoted greater protection of the gastric mucosa when administered by intraduodenal route with about 63.7% cure, compared to the oral administration where this percentage was only 21% cure. These results suggest that the action of the extract occurs mainly due to a systemic effect. The parameters of gastric content volume, pH, and free acidity were not altered in any of the protocols developed. The involvement of important gastric mucosal protective agents such as sulfhydryl groups and nitric oxide was also evaluated in this response. It was observed, therefore, that when the extract was administered in the presence of inhibitors (NEM and L-NANE), respectively, of sulfhydryl groups of nitric oxide, attenuation of the antiulcerogenic response occurred for both parameters evaluated, demonstrating that they participate in the gastroprotective mechanism evoked by the extract. In view of all the results obtained, we concluded that the extract of *Pentaclethra macroloba* presents a remarkable antiulcerogenic activity, possibly due to a predominantly systemic effect related to the participation of sulfhydryl groups and nitric oxide, and without apparent involvement of gastric antisecretory activity.

Keywords: Antiulcerogenic Mechanism; Medicinal Plant; Pracaxi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação Esquemática da Anatomia do Estômago.	18
Figura 2: Representação Esquemática da Secreção Ácida Gástrica.	21
Figura 3: <i>Pentaclethra macroloba</i> (Pracaxi).....	32
Figura 4: Fluxograma de preparação do extrato metanólico de <i>Pentaclethra macroloba</i>	34
Figura 5: Extrato seco de <i>Pentaclethra macroloba</i>	35
Figura 6: Fluxograma da avaliação da participação dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção.....	40
Figura 7: Fluxograma da avaliação da participação do Óxido Nítrico (NO) na Atividade Antiulcerogênica.....	41
Figura 8: Imagens dos estômagos após indução de úlcera por etanol acidificado, (A)controle negativo; (B) EMPM 100 mg/Kg; (C) EMPM 250 mg/kg; (D) EMPM 625 mg/Kg.	43
Figura 9: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625mg/kg) sobre o parâmetro área total lesionada (mm ²) em modelos de úlceras gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.	44
Figura 10: Imagens dos estômagos após indução de úlcera por (indometacina + cetoprofeno), (A) controle negativo; (B) EMPM 100 mg/kg; (C) EMPM 250 mg/kg; (D) EMPM 625 mg/kg.....	45
Figura 11: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre o parâmetro área total lesionada (mm ²) em modelos de úlceras gástricas induzidas por AINEs em ratos.	46
Figura 12: Efeito da administração intraduodenal do EMPM 625 mg/kg) sobre o parâmetro área total da lesão em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do piloro.	48
Figura 13: Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrilícos (SHs) na atividade antiulcerogênica do EMPM 625 mg/kg.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em modelos de úlceras gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.	44
Tabela 2: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em modelos de úlceras gástricas induzidas por AINEs- (indometacina + cetoprofeno).	46
Tabela 3: Efeito da administração intraduodenal do EMPM (625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do piloro.	48
Tabela 4: Efeito da administração intraduodenal do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os Parâmetros Físico-Químicos do suco gástrico após a ligadura do piloro em camundongos.	49
Tabela 5: Efeito da Administração Oral do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os parâmetros ATL, ILU, % de Úlcera e % de Cura em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do piloro.	50
Tabela 6: Efeito da administração oral do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os Parâmetros Físico-Químicos do suco gástrico após a ligadura do piloro em camundongos....	51
Tabela 7: Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilicos (SHs) na atividade antiulcerogênica do EMPM.	54
Tabela 8: Efeito do Extrato Metanólico de <i>P. macroloba</i> (625mg/Kg) em Úlceras Gástricas Induzidas por Etanol Absoluto em ratos após pré-tratamento com um inibidor da enzima Oxido Nítrico Sintase (L-NAME).	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
AINEs	Anti-Inflamatórios Não Esteroidais
AA	Ácido Araquidônico
DAINEs	Droga Anti-Inflamatórias Não Esteroidais
ACh	Acetilcolina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COXs	Enzimas Ciclooxygenases
CGRP	<i>Calcitonin Gene Related Peptide</i>
CCK	Colecistoquinina
CCK-2	Recptor de Colecistocinina 2
DMSO	Dimetilsulfóxido
DAP	Doenças Ácidas- Pépticas
DRGE	Doenças do Refluxo Gastroesofágico
EMPM	Extrato Metanólico de <i>Petactolethara macroloba</i>
ECL	<i>Enterochromaffin-like</i>
EP	Receptor de Prostaglandina E
HAMAB	Herbário Amapaense
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
H ₂	Receptor Histamínico do tipo 2
HCl	Ácido Clorídrico
HSPs	<i>Heat Shock Protein</i>
ILU	Índice de Lesão Ulcerativa
IC	Índice de Cura
IEPA	Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá
LEA	Laboratório de Experimentação Animal
L- NAME	<i>N(ω)-nitro-L-arginine Methyl Ester</i>
NEM	N- etilmaleimida
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NOSi	Óxido Nítrico Sintase Indutível
NOSn	Óxido Nítrico Sintase Neuronal
OMS	Organização Mundial de Saúde
PGs	Prostaglandinas
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGI ₂	Prostaglandina I ₂
<i>P. macroloba</i>	<i>Pentactolethara macroloba</i>
PNA	Pepetideo Natriurético Atrial
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SNA	Sistema Nervoso Autonomo
SNE	Sistema Nervoso Entérico
SH	<i>Grupamento Sulfidril</i>
TFFs	FatoresTtrefoil

UNIFAP
UPs
v.i
v.o

Universidade Federal do Amapá
Úlceras Pépticas
Via Intraperitoneal
Via Oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	FISIOLOGIA GÁSTRICA.....	18
3.2	DOENÇAS ÁCIDO-PÉPTICAS E MECANISMO DE LESÃO.....	21
3.3	MECANISMO DE DEFESA DA MUCOSA GÁSTRICA.....	23
3.3.1	Mecanismo Pré-Epitelial	23
3.3.2	Mecanismo Epitelial	24
3.3.3	Mecanismo Sub-Epitelial	24
3.3.4	Grupamentos Sulfidrídicos	25
3.3.5	Óxido Nítrico	26
3.4	TERAPIAS MEDICAMENTOSAS DAS ÚLCERAS PÉPTICAS (UPs).....	26
3.5	DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS	29
3.6	PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE GASTROPROTETORA	30
3.7	CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>Pentaclethra macroloba</i> (WILLD.) KUNTZE	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	33
4.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO METANÓLICO DE <i>Pentaclethra macroloba</i>	34
4.3	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	35
4.4	ANIMAIS	35
4.5	DROGAS E REAGENTES UTILIZADOS	36
4.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	36
4.6.1	Modelo de Indução de Úlcera por Etanol Acidificado	38
4.6.2	Indução de Úlcera por Droga Antiinflamatória Não Esteroidal (DAINE)	38
4.6.3	Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Antiulcerogênica do EMPM	39
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
5	RESULTADOS	43
5.1	ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ETANOL ACIDIFICADO	43

5.2	ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS-AINES	45
5.3	AVALIAÇÃO DE MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE <i>Pentaclethra maculosa</i>	47
5.3.1	Efeito da administração Intraduodenal do EMPM (625 mg/kg) e Cimetidina em Úlceras Gástricas Induzidas por Contensão do Suco Gástrico por meio da Ligadura do Píloro em camundongos.	47
5.3.2	Efeito da Administração Oral do Veículo, Cimetidina e EMPM (625 mg/kg) em Úlceras Gástricas Induzidas por Contensão do Suco Gástrico por meio da Ligadura do Píloro em camundongos.	50
5.3.3	Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrilícos (SHs) na Atividade Antiulcerogênica do EMPM	52
5.3.4	Avaliação da Participação do Óxido Nítrico (NO) na Gastroproteção do EMPM.... ..	55
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÕES.....	62
8	PERSPECTIVAS.....	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO.....	73

1 INTRODUÇÃO

A úlcera péptica é uma lesão que ocorre na parede do estômago tendo como características sangramentos e perfurações (KANGWAN et al., 2014). A úlcera péptica é a mais predominante entre as doenças gastrintestinais (LAKSHMI et al., 2010). É uma doença comum de incidência e prevalência global com uma taxa de letalidade estimada de três para cada cem mil habitantes no Brasil (OLIVEIRA et al., 2015), os casos de úlceras por *Helicobacter pylori* estão reduzindo enquanto as úlceras relacionadas ao uso abusivo de álcool e o uso indiscriminado de Anti-inflamatórios não-esteroidais vem aumentando (BI; MAN; MAN, 2014; CARLI et al., 2015). E este elevado número de casos pode ser decorrente de seu mau prognóstico, como hemorragias, perfuração da parede estomacal, obstrução e até mesmo o câncer.

Sabe-se que tal enfermidade pode ter origem multifatorial como o desequilíbrio entre os fatores defensores e os fatores agressores da mucosa gástrica, de maneira que, os fatores defensores incluem produção de muco, prostaglandinas, óxido nítrico, fluxo sanguíneo, grupamentos sufrídricos, defesa antioxidante. Os fatores agressores podem ser exógenos que abrangem: *Helicobacter pylori*, uso indiscriminado de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (DAINEs), estresse e o consumo de álcool e tabagismo e endógenos que incluem: secreção elevada de histamina e ácido clorídrico, bile, isquemia, leucotrienos, citocinas pró-inflamatórias, ativação de neutrófilos, proteínas pró-apoptóticas como também espécies reativas de oxigênio (ROS), onde estas estão diretamente envolvidas nos mecanismos de formação de úlceras agudas e crônicas na mucosa gástrica (SATHISH et al., 2011; BASAL; GOEL, 2012; KANGWAN et al., 2014; YANDRAPU ; SAROSIEK, 2015).

As drogas usadas para o tratamento e controle de úlceras pépticas são muitas, contudo, ainda não existe no mercado uma droga que leve a remissão completa das úlceras (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012; SCHUBERT, 2016). Nos dias atuais as classes de fármacos usados no tratamento e controle das úlceras gástricas são os inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol) antagonistas do receptor H₂ (cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina), antibióticos nos casos de infecção por *H. pylori* (amoxicilina) e agentes citoprotetores (carbenoxolona, sucralfato, bismuto coloidal) e o (misoprostol) que é um análogo das prostaglandinas (NAJM, 2011; FOX; MUNIRAJ, 2016). Porém as avaliações clínicas das ações destes fármacos confirmam um alto índice de recidiva,

efeitos colaterais indesejados, interações com outros medicamentos e geralmente apresenta um custo inacessível a grande parte da população (MAITY; CHATTOPADHYAY, 2008).

Por esta razão, a busca por novos tipos de fármacos tem impulsionado pesquisas recentes onde se tem dispensado grande enfoque aos fármacos de origem natural, haja vista que plantas são fontes de biomoléculas detentoras de inúmeras atividades úteis na profilaxia e terapêutica de inúmeras afecções. Os exemplos de medicamentos de origem vegetal, que apresentam grande eficácia, não só do ponto de vista da gastroproteção e da ação antiulcerogênica, mas em diversas condições para o reestabelecimento da saúde humana são muitos, considerando-se que o uso de plantas para o tratamento de vários tipos de doenças é demasiadamente antigo, porém extremamente atual e com distribuição quase que iniqua em todo mundo.

Inúmeras plantas apresentam compostos com atividade antiulcerogênica dentre os quais temos os carotenóides, terpenóides, flavonóides, alcalóides, glicosídeos, saponinas e polissacarídeos (FAVIER et al., 2005; PERTINO et al., 2006, SILVA et al., 2010), os mesmos agem por diversos mecanismos de ação. Dentre a família (Fabaceae) várias plantas tem reconhecida atividade cicatrizante de úlceras como a *Glycyrrhiza glabra* (Alcaçuz) que apresenta uma saponina triterpênica (glicirrizina) que atua inibindo a 15-hidróxi-prostaglandina-desidrogenase aumentando assim a concentração de prostaglandinas endógena sendo está comercializada como carbenoxolona sódica a primeira droga de origem natural sistematicamente efetiva contra úlceras gástricas (BIGHETTI; ANTÔNIO; CARVALHO, 2002). Estudos apontam tal atividade para a *Abarema cochliacarpus* também da família Fabaceae (SILVA et al., 2010).

A espécie *Pentaclethra macroloba* pertencente à família Fabaceae é utilizada pela população com várias finalidades, sendo mais comum o seu uso para a cicatrização de úlceras e tratamento de gastrite. Entretanto, na literatura não foram reportados relatos de sua atividade antiulcerogênica ou antioxidante. Acredita-se que a espécie *P. macroloba* tenha atividade protetora da mucosa gástrica atuando na prevenção e tratamento de úlceras pépticas, desse modo, é fundamental o desenvolvimento de estudo para comprovar essa atividade, podendo assim, contribuir para o desenvolvimento de nova estratégia farmacoterapêutica no tratamento de úlceras pépticas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato metanólico de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (EMPM) (Pracaxi) em roedores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o efeito de EMPM em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos;
- Avaliar a influência do EMPM em úlceras estomacais causadas pela administração de Droga Antiinflamatória Não Esteroidal, em ratos;
- Mensurar a participação de fatores protetores como os grupamentos sulfidrílicos e o Óxido Nítrico (NO) no mecanismo de ação gastroprotetora de EMPM;
- Determinar a ação local e sistêmica de *P. macroloba* sobre os parâmetros físico-químicos do conteúdo estomacal de camundongos submetidos ao modelo de ligadura do piloro, como: (acidez total, acidez livre, volume da secreção) e lesões gástricas.

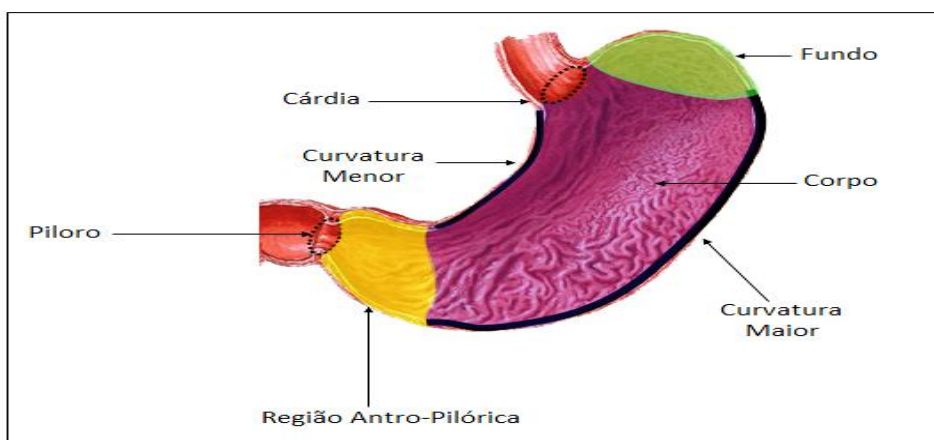
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 FISIOLOGIA GÁSTRICA

O estômago divide-se em três porções fundo, corpo e antro pilórico possui forma de um saco localizado abaixo do diafragma entre esôfago e o duodeno delimitado pelo esfíncter esofágiano parte superior e pelo esfíncter pilórico parte inferior (SILVERTHORN, 2010; DI MARIO; GONI, 2014). O mesmo é responsável pela secreção de ácido clorídrico que auxilia na digestão de proteínas, absorção de vitamina B12, cálcio e ferro através da conversão do pepsinogênio em pepsina (CHU; SCHUBERT, 2012).

Se tratando de mucosa gástrica, seu funcionamento se dá em duas regiões glandulares mucosas oxíntica as quais são células parietais responsáveis pela secreção de ácido clorídrico, células principais produtoras de pepsinogênio, células D produtoras de somatostatina e células do tipo enterocromafins (ECL) que liberam histamina; na região da mucosa antral do estômago apresentam células parietais, células D, células enterocromafins e células G produtoras de gastrina e células produtoras de muco (RAMSAY; CARR, 2011; DI MARIO; GONI, 2014; SCHUBERT, 2015).

Figura 1: Representação Esquemática da Anatomia do Estômago.



Fonte: NETTER, Frank H.. Atlas de Anatomia Humana. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

A principal função do estômago é preparar o alimento para a digestão e absorção pelo intestino, através da secreção de ácidos que é controlada por diferentes mecanismos como: neuronais onde o neurotransmissor acetilcolina é liberado tanto pelo Sistema Nervoso Autônomo (SNA) Parassimpático como pelo Sistema Nervoso Entérico (SNE) estimula diretamente a secreção de ácido gástrico por meio da ativação dos receptores muscarínicos (M3) localizados nas células parietais e indiretamente através da ativação dos receptores M2 e M4 localizados nas células D inibindo a secreção de somatostatina. (SCHUBERT; PEURA, 2008).

O mecanismo de regulação hormonal da secreção ácida pelas células parietais se dá de modo complexo. Uma vez secretado a gastrina, um hormônio peptídeo, este irá atuar diretamente sobre receptores de colecistocinina do tipo 2 (CCK-2), localizados na superfície destas mesmas células. Tais receptores são acoplados a proteína G e quando ativados promove mecanismos de transdução que acarreta o aumento intracelular de íons cálcio, condição determinante para produção secretória destas células. A gastrina também estimula de forma indireta a secreção de histamina pelas células enterocromafin (ECL), haja vista que essas células também possuem receptores do tipo CCK-2 (SCHUBERT; PEURA, 2008).

Quanto à estimulação através do mecanismo paracrina a histamina é liberada de células semelhantes à enterocromafin (ECL) localizadas na mucosa estomacal estimula a célula parietal de forma direta através da ligação com receptores H2 e de forma indireta através dos receptores H3 inibindo a somatostatina, com isso favorecendo a histamina e secreção ácida. O controle neuronal das células parietais, da mesma forma que o hormonal e o paracrina, são do tipo estimulatório (SCHUBERT; PEURA, 2008; SHUBERT, 2016).

Mediante estimulação dos secretagogos acetilcolina, histamina e gastrina, a bomba de prótons das células parietais, H⁺K⁺-ATPase, que se encontram em vesículas tubulares intracelulares é translocada e se funde à membrana apical, liberando o H⁺ em troca de K⁺. Finalizada a secreção a enzima é desativada e incorporada na célula parietal (SCHUBERT 2011; BRUNTON, CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

O controle da produção ácida é imprescindível, pois um aumento excessivo da acidez estomacal pode suplantar as barreiras de proteção da mucosa gástrica acarretando danos teciduais e funcionais. Mecanismos fisiológicos também promovem a inibição de tal produção, entre eles destaca-se a somatostatina, prostaglandinas, colecistoquinina (CCK) e peptídeo natriurético atrial (PNA). Todos esses agentes agem de forma direta e indireta nas

células parietal modulando a secreção nas células neuroendócrinas (SCHUBERT; PEURA, 2008).

A liberação de somatostatina que é o principal agente com função inibitória da secreção gástrica, um hormônio proteico produzido pelas células D ocorre mediante diminuição do pH. Seus efeitos na secreção gástrica são mediados por receptores SST2 que se encontram acoplados a proteína G (SCARPIGNATO ET AL., 2006).

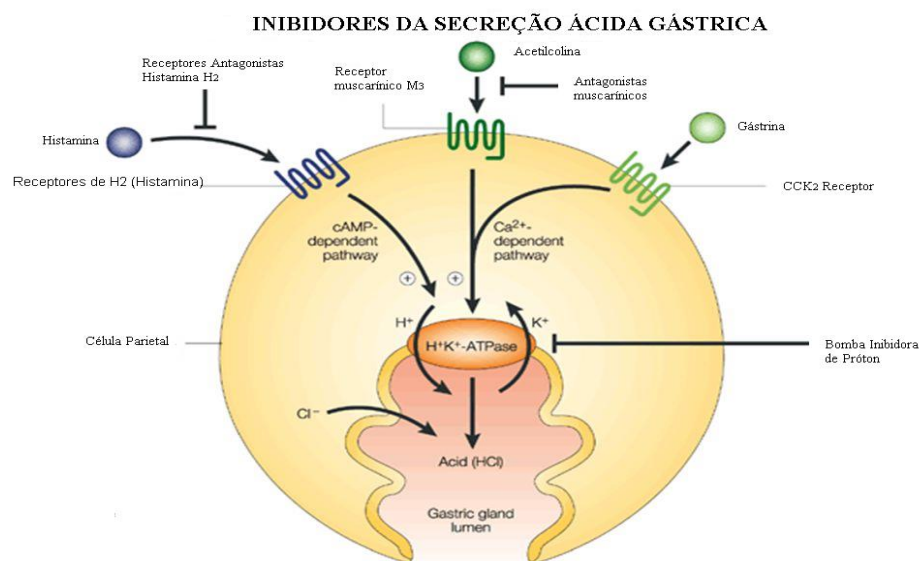
As prostaglandinas protegem a mucosa gástrica através da inibição da secreção ácida, elas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico por meio da ação das enzimas ciclo oxigenases (COX-1 e COX 2) as mesmas são encontradas no retículo endoplasmático e na membrana nuclear, onde as prostaglandinas protetoras produzidas pela COX-1 participam da manutenção da homeostase através da regulação da acidez gástrica, fluxo sanguíneo, motilidade, produção de muco e bicarbonato. Já as prostaglandinas oriundas da COX-2 controlam processos inflamatórios, regulam a aderência de leucócitos nos vasos sanguíneos e reparo celular, diferente da COX-1 que é apresentada em todo o corpo a COX-2 é ativada através de estímulos inflamatórios em diversos tipos de célula. (CARVALHO, 2010).

Estes prostanóides podem se ligar a diferentes receptores (EP₁, EP₂, EP₃ e EP₄) e exercer diversas ações na mucosa gástrica. A PGE₂ e PGI₁ regulam o aumento da secreção de bicarbonato de cálcio quando interage com receptores EP₃ que se encontram nas células parietais. A ligação das prostaglandinas ao receptor EP₁ diminui a motilidade gástrica e aumenta o fluxo sanguíneo gástrico (AIHARA et al., 2007; TAKEUCHI et al., 2014 TARNAWSKI, AHLUWALIA e JONES, 2013). Por inibirem a COX-1 os antiinflamatórios não esteroidais impedem a síntese de prostaglandinas gástricas, especialmente PGI₂ e PGE₂, que servem como agentes protetores da mucosa gástrica (FURST, et al., 2010).

Além desses fatores já citados a colecistoquinina (CCK) que é um hormônio gastrointestinal secretado pelas células enteroendócrinas da mucosa do duodeno e jejuno em resposta a presença de nutrientes no lúmen intestinal, especialmente gorduras e proteínas, também inibe a secreção ácida, mediante o estímulo da somatostatina. Seus receptores (CCK-1) podem ser encontrados nos terminais vagais como nas células D gástrica (SCHUBERT, 2007).

Os peptídeos natriuréticos atriais (PNA) que são produzidos pelas células do fundo do estômago estimula a produção de somatostatina (GOWER ET AL, 2003), levando a inibição da histamina na região do estômago e da gastrina na região do antro, acarretando por sua vez inibição da produção de ácido gástrico (SCHUBERT, 2007).

Figura 2: Representação Esquemática da Secreção Ácida Gástrica.



Fonte: Adaptado de Olbe et al., 2003.

3.2 DOENÇAS ÁCIDO-PÉPTICAS E MECANISMO DE LESÃO

As doenças ácido-pépticas (DAP) estão relacionadas com um desequilíbrio entre os fatores agressores e os mecanismos protetores desencadeando um processo inflamatório e posteriormente o aparecimento de ulcerações, durante o processo inflamatório a homeostasia deve ser restabelecida mediante recrutamento de mecanismos específicos e não específicos. (LAINE et al., 2008; CARVALHO, 2013). Dentre as doenças ácido-pépticas estão: as úlceras pépticas (esofágica, gástrica e duodenal) que são lesões profundas e necrosadas que causam inflamações, que se estendem da mucosa a camada muscular do esôfago, estômago e duodeno (BOGLIOLO, 2006; MALFERTHEINER et al., 2009). Atinge uma parcela significativa da população acarretando em custo para a saúde pública (KANGWAN et al., 2014).

As úlceras pépticas têm origens multifatoriais, onde suas causas podem ser influenciadas por vários fatores como estresse emocional, dietas inadequadas, hereditariedade, uso contínuo e indiscriminado de AINES, ingestão de álcool. Além de infecções por *Helicobacter Pylori* (MUSUMBA et al., 2009; SANTIN et al., 2011).

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) estão entre as drogas mais consumidas no mundo (IMS, 2014), para tratamento de inflamações, febres e dores, porém o uso prolongado

desenvolve um quadro de úlcera gástrica em 5% a 30% dos pacientes que fazem uso de doses altas (HAUSER, 2011). Os mesmos têm como mecanismo de ação a inibição das enzimas ciclooxigenases (COXs), enzimas responsáveis pela síntese de prostaglandinas (PGs), a partir do ácido araquidônico (AA), contudo essa diminuição da síntese de prostaglandinas no trato gastrointestinal compromete o controle da secreção gástrica, secreção epitelial, liberação de muco, como também diminuição do fluxo sanguíneo, acarretando a úlcera (FORNAI et al., 2005). Conforme Takeuchi (2012) a inibição seletiva da COX-2 demonstram efeito ulcerogênico dos AINEs.

O consumo excessivo de etanol também é uma das principais causas de danos à mucosa é uma substância tóxica que consegue atravessar a mucosa gástrica causando lesões ulcerativas, seu consumo desenfreado causa dano na mucosa gastrintestinal, pois diminui a camada do muco protetor, com isso a um aumento da permeabilidade do tecido epitelial, originando a gastrite, que pode ser identificada pela presença de edemas, hemorragias sub-epiteliais, infiltração das células e esfoliação celular (JAHOVIC et al.; 2007; MATSUHASHI, et al; 2007). O consumo de etanol também acarreta a inibição das prostaglandinas, por conseguinte diminuição da produção de muco induz stress oxidativo por meio de danos causados no endotélio da mucosa gástrica e desarranjo na microcirculação (PAN et al, 2008).

O descobrimento no início da década de 80 da infecção gástrica causada pela *H. pylori* uma bactéria gram-negativa flagelada que coloniza o estômago levou a uma revisão da etiologia da úlcera péptica. Essa bactéria atingi 90% da população terrestre segundo a The Helicobacter Fundation (2014), contudo a maioria da população que estar infectada pela *H. pylori* é assintomática desses só 30% vai evoluir para úlcera gástrica (KONTUREK et al., 2006). Essas bactérias produzem hipergastrinemia através da produção de amônia no epitélio e glândulas do antro, impossibilitando a sensibilidade das células D aos níveis reais de acidez da região da mucosa antral do estômago causando assim uma hipersecreção ácida através da inibição da produção de somatostatina e, por conseguinte o aumento da liberação de gastrina, favorecendo a formação de lesões e facilitando sua colonização (BIGHETTI; ANTÔNIO; CARVALHO, 2002; TONEDO; OLIVEIRA; LOPES, 2011; RAMSAY & CARR, 2011).

3.3 MECANISMO DE DEFESA DA MUCOSA GÁSTRICA

A mucosa gástrica estar constantemente em contato com agentes agressores, como concentração de íons H^+ bastante elevado, agentes nocivos endógenos (pepsina presentes no lúmen gástrico, sais biliares) como também agentes nocivos exógenos (WALLACE, 2008). Contudo a mesma consegue se conservar íntegra graças a um conjunto de mecanismos de defesa (TARNAWSKI et al., 2013). Estes estão distribuídos em três níveis: pré-epitelial que se constitui a primeira defesa, evitando que agentes lesivos entrem em contato com a mucosa gástrica; epitelial que age como a segunda linha de defesa prevenindo a propagação do H^+ na mucosa e o mecanismo sub-epitelial que abrange motilidade gastrointestinal, microcirculação e células de defesa (DE FONESKA; KAUNITZ, 2010; MATSUI et al., 2011).

3.3.1 Mecanismo Pré-Epitelial

A camada de muco, íons bicarbonato e fosfolípidos tensoativos estabelecem a primeira barreira de defesa da mucosa (PHILLIPSON et al., 2008). O muco é formado basicamente por 95% de água e 5% de glicoproteínas chamadas de mucinas, a polimerização das unidades de mucina dá origem a um gel viscoso, que se adere à mucosa (WALLACE, 2001; REPETT; LLESUY, 2002; LAINE et al., 2008). O muco possui uma viscosidade que lhe permite reter os íons bicarbonato secretados, a fim de preservar o pH em torno de sete (neutro), e impedir a digestão proteolítica e a ação da pepsina no epitélio gástrico (LAINE et al., 2008).

Os íons bicarbonato são secretados pelas células epiteliais do estômago e duodeno mediante estímulos colinérgicos, prostaglandinas, óxido nítrico e cálcio, fazendo com que um gradiente de pH seja estabelecido, próximo de 6-7 nas células epiteliais e um pH por volta de 1- 2 no lúmen estomacal, o mesmo tem como função neutralizar os íons H^+ (FLEMSTROM; ISENBERG, 2001; KAGAWA ET AL., 2003; MONTROSE et al, 2006). Já os fosfolípidos tensoativos tem como função revestir a superfície luminal do muco, mantendo a mucosa íntegra, graças as suas propriedades hidrofóbicas que dificultam a propagação de ácidos ionizáveis (KONTUREK ET AL., 2004; TULASSAY; HERSZENYI, 2010; RAMSAY; 2011).

3.3.2 Mecanismo Epitelial

A barreira epitelial é constituída por uma camada constante de células superficiais, responsáveis pelo acesso de substâncias do lúmen para a lâmina própria e submucosa gástrica, o mesmo produz bicarbonato, muco, fosfolipídios, peptídeos, prostaglandinas e proteínas de choque térmico (HSPs) (LAINE et al., 2008; TULASSAY; HERSZENYI, 2010). Segundo Tarnawski et al (2013) muitos mecanismos de defesa gástrica são modulados pelas PGs, essas são biossintetizadas a partir do ácido araquidônico através das enzimas ciclooxigenases (COX), por meio da ativação da fosfolipase A2.

As mesmas propiciam a produção de muco, secreção de bicarbonato e ação vasodilatadora, (WALLACE; MILLER, 2001). Também cooperam para a citoproteção, através da prevenção do apoptose e/ou preservação do citoesqueleto celular, estabilização das membranas lisossomais, mitocondrial e celular, e deslocamento de íons (TAKEUCHI et al., 1987), essas multi funções desempenhadas pela PGE2 são possíveis devido a mesma fazer ligações com diferentes tipos de receptores prostanóides, (EP1, EP2, EP3 e EP4) acoplados a proteína G na devida ordem (ATAY et al., 2000).

3.3.3 Mecanismo Sub-Epitelial

Os mecanismos de ação sub-epitelial são responsáveis pelo fluxo sanguíneo, inervação sensorial, manutenção e reconstituição dos prejuízos gerados ao tecido epitelial gástrico (TARNAWSKI, 2005). O fluxo sanguíneo tem como uma das funções fornecer nutrientes, oxigênio, eliminar substâncias nocivas para a mucosa, como também aumentar o aporte de bicarbonato levando a um equilíbrio ácido-base, gerando assim uma diminuição dos prejuízos ocasionados por agentes lesivos (BRZOZOWSKI, 2003). Sua regulação se dar por um conjunto de elementos e fatores metabólicos locais como prostaglandina, leucotrieno e outros mediadores químicos endógenos na mucosa (KAWANO; TSUJI, 2000).

Os nervos sensoriais aferentes conseguem por meio de estímulos corretos a liberação de neurotransmissores como peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e substância P gerando assim o relaxamento do músculo liso e elevação do fluxo de sangue que chega a

mucosa (HOLZER; LIPPE, 1988; LEVANGELISTA, 2006; OHNO et al., 2008; TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010). Por meio da intermediação da via do NO o CGRP consegue aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa através da dilatação dos vasos, e o bloqueio da síntese de NO por meio do L-NAME neutraliza a resposta hiperêmica deixando o estômago vulnerável (WALLACE; MCKNIGHT, 1990).

3.3.4 Grupamentos Sulfidrídricos

Os grupamentos sulfidrilícos (SH) são mediadores gasosos que participam na manutenção da integridade da mucosa gástrica são sintetizados a partir da L-cisteína mediante atividade de duas enzimas dependentes do piridoxal-5-fosfato (vitamina B6): a cistationina γ -liase e a cistationina-sintase, sua atividade gastroprotetora se dar através de inúmeros mecanismos de ação: aumento do fluxo sanguíneo e da secreção de bicarbonato, produção e manutenção da barreira do muco, aumento da síntese de PGs, menor adesão endotelial de leucócitos (AVILLA et al., 1996; GYIRES; TOTH; ZADORI, 2015; MAGIEROWSKI et al., 2015).

Os sulfidrílicos apresentam um importante papel na proteção gástrica, pois quando inibidos, a mucosa fica mais suscetível a lesões, quando exporta a etanol e DAINES (FIOCRUCCI et al., 2005; WALLACE et al., 2010). Porém drogas que aumentam a síntese dos sulfidrílicos melhoram a resistência e a integridade da mucosa, reduzindo o dano tecidual (FIORUCCI et al., 2006). Também desempenham um papel protetor da mucosa por apresentarem propriedades antioxidantes o que permite se ligarem aos radicais livres formados após exposição a agentes nocivos ou durante o processo inflamatório (AVILLA et al., 1996 TARIQ et al., 2006).

3.3.5 Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) é um gás instável, endógeno constitucionalmente produzido pela enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS). Essa enzima apresenta três isoformas: A NOS-endotelial (NOSe) é encontrada geralmente no endotélio vascular como também nas plaquetas mediante exposição a fatores agressores realizando atividade de cicatrização por modulação da microcirculação, NOS-neuronal (NOSn) é encontrada em células neuronais, NOS-indutível (NOSi) que se revelam sob condições anormais favorecendo a formação de úlceras, sua indução se dar por citocinas e/ou endotoxinas (MACMICKING; XIE; NATHAN et al., 1997; DUSSE et al., 2003; EL-DEMERDASH et al., 2010; PERRINO, 2011).

O (NOSe) desempenha um importante papel na proteção do estômago, seu mecanismo de defesa da mucosa se dar por meio do relaxamento da musculatura lisa gastrointestinal, pelo aumento do fluxo sanguíneo e manutenção da microcirculação, aumento da secreção de muco, bicarbonato (WALLACE, 2008; GYIRES; TOTH; ZADORI, 2015). Além de dificultar a secreção de ácido, evita adesão celular no endotélio vascular, como também impede ativação de neutrófilos decorrendo assim proteção para a mucosa gástrica (FERREIRA et al., 2008; BRZOZOWSKI et al., 2008).

Estudos demonstram que a administração de L-NAME (um inibidor da NOS) aumenta as lesões gástricas induzidas por etanol e aumenta a atividade da H^+/K^+ -ATPase, ao mesmo tempo que doadores de NO reparam as lesões induzidas por etanol e bloqueiam a atividade ATPase em ratos (BULUT et al., 1999).

3.4 TERAPIAS MEDICAMENTOSAS DAS ÚLCERAS PÉPTICAS (UPs)

O tratamento das úlceras pépticas (UPs) se baseia no restabelecimento do equilíbrio da mucosa entre os fatores protetores e agressores visando à eliminação da dor promovendo a cicatrização e prevenindo o aparecimento de úlceras recorrentes (AIHARA et al., 2003).

Farmacologicamente são utilizados os antagonistas dos receptores H_2 da histamina (cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina), bem como os inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol, rabeprazol e pantoprazol), antiácidos (hidróxido de alumínio e

hidróxido de magnésio) e os protetores de mucosa (misoprostol), esses fármacos tendem a ter efeitos indesejáveis (GOLAN, 2009; FUCHS; WANNMACHER, 2010 RANG; DALE, 2012).

Quanto ao aparecimento de úlceras pépticas associadas a *H. pylori* a estratégia terapêutica se baseia na erradicação da bactéria e na recuperação da mucosa gástrica podendo ser utilizado um inibidor da bomba de próton, um antibiótico e um antiprotzoário; ou a utilização de um inibidor da bomba de prótons, um antiprotzoário, um antibiótico e um antiácido ou com a utilização de um antagonista de receptor H2, um antiácido, um antiprotzoários, e um antibiótico (BRUNTON et al., 2007; SUNG, et al., 2009; MAJUMDAR et al., 2011).

Em 1970 foram introduzidos os antagonistas de receptor de histamina H2 (cimetidina, ranitidina) no tratamento de distúrbios relacionadas ao ácido gástrico (HAWKEY, 2000). Os antagonistas dos receptores H2 da histamina (cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina) agem competindo com a histamina pela ligação com o receptor H2 localizados na membrana basolateral das células parietais, da qual contribui para a diminuição da secreção ácida gástrica (BRUNTON et al., 2007).

Apesar de sua eficácia, esta droga promove vários efeitos colaterais como arritmias cardíacas, hipotensão, anemia, granulocitopenia, trombocitopenia, alteração do nível de consciência, também apresenta interação medicamentosa com benzodiazepínicos, teofilina, lidocaína, fentanil, midazolam (BEEJAV; WOLF, 2000).

Os inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol) atualmente são fármacos de primeira escolha, atuam na diminuição da secreção de HCl pela mucosa gástrica. A secreção aumentada retorna ao nível normal com a administração desses inibidores da bomba de prótons, que podem ser associados ou não os antimicrobianos a depender da presença de *H. pylori* (SCHUBERT, 2009).

Os inibidores da bomba de próton são substâncias precursoras inativas que são metabolizadas em uma sulfonamida ativa no meio extremamente ácido dos canalículos secretores das células parietais. Atuam inibindo especificamente a enzima $H^+/K^+-ATPase$ nas células parietais, diminuindo a secreção ácida do estômago (BEEJAV; WOLF, 2000). Apresenta dentre os efeitos colaterais citados: diarreia, cefaléia e reações cutâneas (FOX, 2000).

Outros fármacos como os agentes citoprotetores atuam na inibição a secreção ácida-gástrica e no mecanismo de proteção da mucosa estimulando a produção do muco e

bicarbonato, o que produz uma barreira física sobre a superfície da úlcera (ROBERT et al., 1981). Um análogo de prostaglandinas, como o Misoprostol, atua protegendo a mucosa gástrica através de efeitos que incluem: estimulação de secreção de muco e bicarbonato e aumento do fluxo sanguíneo no estômago (BRUNTON et al., 2007). Apresenta como efeitos adversos dose-dependentes, diarreias e dores abdominais, além de alto custo (HAWKEY, 2000; BEEJAV; WOLF, 2000).

Outra droga citoprotetora é a carbenoxolona um terpenoide isolado do ácido glicirrízico encontrado na raiz do alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) que age inibindo enzimas que inativam prostaglandinas e suprimindo a ativação de pepsinogênio, aumenta a produção da viscosidade e secreção do muco (BRUNTON, 1996; ALTMAN, 2005).

Outros fármacos que atuam no aumento da defesa da mucosa são os antiácidos usados para aliviar a pirose e o desconforto abdominal. Agem neutralizando o ácido secretado a qual são absorvidos rapidamente devido a sua alta solubilidade em água podendo ser usado de forma isolada ou associado com outros fármacos como o hidróxido de alumínio, hidróxido de magnésio, magaldrato - hidróxido de alumínio e magnésio (BRUNTON et al., 2007).

Outro protetor da mucosa gástrica é o Sucralfato a qual adere às células epiteliais e a área lesada formando uma barreira de proteção e estimulando a produção local de prostaglandinas e fator de crescimento epidérmico (BRUNTON et al., 2007).

Apesar de toda variedade de drogas para o tratamento de úlceras pépticas, ainda não há uma droga que apresente mecanismo de ação multifatorial que garanta remissão das úlceras gastroduodenais com reduzido efeito colateral que não comprometa o paciente do qual faz uso deste tipo de medicamento cronicamente (MAITY; CHATTOPADHYAY, 2008).

A procura por novas substâncias bioativas tem sido alvo de pesquisas recentes na área, dessa forma estudos de substâncias químicas isoladas de plantas que apresentam experimentalmente atividade antiulcerogênica vem sendo desenvolvidos como uma alternativa de novas terapêuticas para as úlceras pépticas a fim de garantir produtos que apresentem poucos ou nenhum efeito adverso e baixo custo. (TUNDIS et al. 2008).

Entre as principais substâncias bioativas derivadas de plantas que apresentam atividade antiulcerogênica, incluem-se os carotenoides, flavonoides, taninos, saponinas (MAITY; CHATTOPADHYAY, 2008).

3.5 DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS

Vários são os estudos que visam o desenvolvimento de fitoterápicos com finalidades terapêuticas, instigando assim o setor industrial farmacêutico (BRAZ-FILHO, 2010). A ideia inicial para o desenvolvimento e uso de medicamentos fitoterápicos na terapêutica humana é aumentar as opções do arsenal farmacológico disponível aos profissionais da saúde já que os produtos naturais apresentam uma correlação com a funcionalidade biológica, e tem ampla diversidade química (GANESAN, 2008). Porém quando levamos em conta a grande diversidade de plantas da flora brasileira, constatamos que as mesmas são utilizadas pela população de forma empírica, apesar de um número relativamente pequeno de espécies que tiveram suas atividades biológicas validadas cientificamente, aproximadamente 74% dos principais produtos fitoterápicos foram descobertos tomando-se por base dados etnofarmacológicos que apontam sua utilização pelas comunidades tradicionais (CENTRY, 1993; RABELO et al., 2013).

Consideram-se medicamentos fitoterápicos aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas, provenientes de vegetais, onde a eficácia e a segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências pré-clínicas e clínicas. São caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BRASIL, 2010).

No que diz respeito aos estudos farmacodinâmicos pré-clínicos sua intenção é comprovar o efeito que motivou o estudo do novo medicamento e o perfil dos efeitos colaterais, relacionando-os às doses e a um possível mecanismo de ação. Sendo necessário testar o composto em tecidos e/ou órgãos isolados, sistemas enzimáticos, preparações subcelulares, cultura de células glandulares, musculares ou tumorais, culturas bacterianas entre outros (LAPA et al., 2010).

3.6 PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE GASTROPROTETORA

Os compostos químicos das plantas medicinais que apresentam atividade gastroprotetora, contêm estruturas químicas variadas e diferentes mecanismos de ação. Sendo as principais classes de compostos associados a essa atividade os terpenos, flavonoides, alcaloides, glicosídeos, saponinas (LAPA et al., 2001).

As plantas são recursos que o homem tem fácil acesso, portanto ao longo dos séculos o conhecimento empírico se aprofundou tornando-se rico em espécies utilizadas para tratar as mais diversas enfermidades. Estudos tem demonstrado que inúmeras plantas têm apresentado propriedades gastroprotetora. Pode-se citar *Syngonanthus arthrotrichus*. (BATISTA et al., 2004) e *Byrsonima crassa*, que possuem compostos que atuam como “varredoras” de espécies reativas de oxigênio na superfície da mucosa gástrica, *Abarema cochliacarpus* (Fabaceae) que conforme apresenta atividade antiulcerogênica em modelos animais induzidos por etanol, com indicativo de atividade gastroprotetora e cicatrizante de úlceras (SANNOMIYA et al., 2005).

Outro dado relevante é a atividade cicatrizante de úlceras apresentada pela glicirrizina, uma saponina triterpênica de *Glycyrrhiza glabra* (Fabaceae). Estudos mostram que as glicirrizinas atuam inibindo a 15-hidróxi-prostaglandinadesidrogenase, uma enzima inativadora das prostaglandinas E2, com isso, aumentando a concentração local de prostaglandinas, promotoras da secreção de muco e proliferação celular no estômago. Já as espécies *Melissa officinalis* (GURBUS et al., 2000), *Mentha piperita*, *Silybum marianum* (KHAYYAL et al., 2001), *Brassica oleracea*, *Maytenus aquifolium*, *Symphytum officinalis*, *Zolernia ilifolia* produzem atividade gastrprotetora dose-dependente, reduzindo a acidez e aumentado a secreção de mucina, redução de leucotrienos e elevação da produção e liberação de PGE2 (ALONSO, 1998).

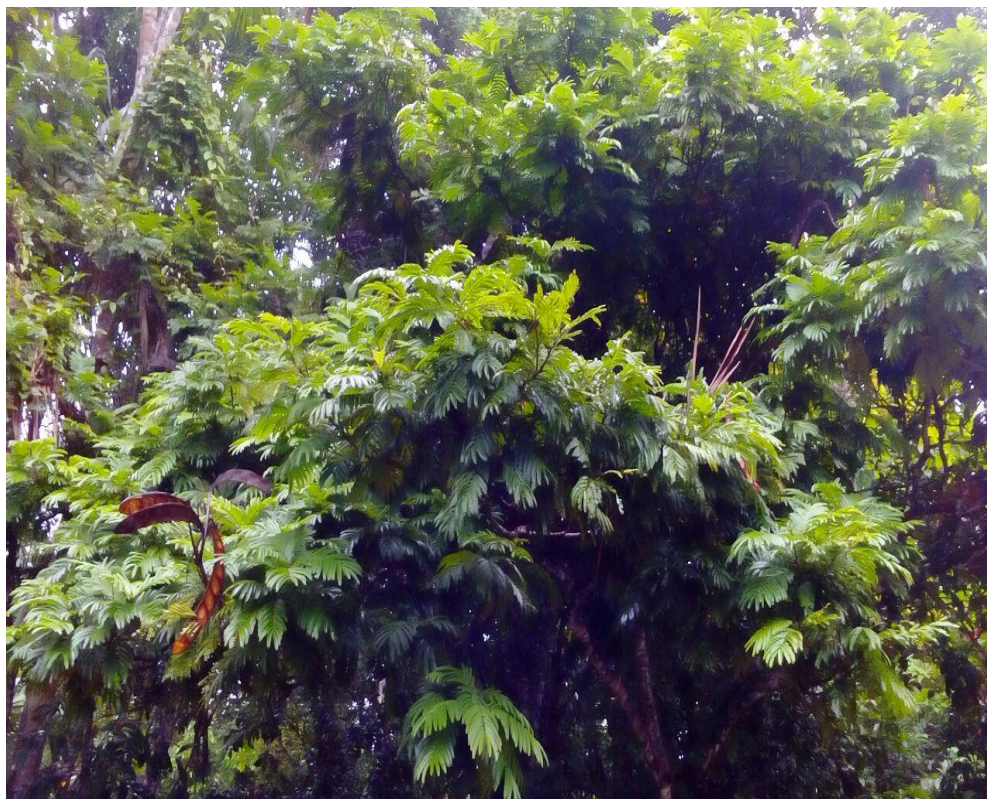
Em estudo realizado por Fernandes et al. (2010), as espécies *Cenostigma macrophyllum* (Fabaceae) e *Parkia platycephala* (Fabaceae) demonstraram atividade gastroprotetora contra lesões induzidas por etanol absoluto e etanol acidificado, com indicativo participação da via do Oxido Nitro Sintase (NOS) e também de mecanismos antioxidantes através do aumento da catalase. O extrato etanólico de *Caesalpinia pyramidalis* exibe ações gastroprotetoras dependente da dose, em modelos de ulceras induzidas por etanol e indometacina (RIBEIRO, 2013). O mecanismo de ação possivelmente está relacionado a uma interação com sulfureto de hidrogênio endógeno e redução do processo inflamatório, com o desequilíbrio entre os

mediadores pró-inflamatório e anti-inflamatórios. São várias as evidências do potencial gastroprotetor de espécies vegetais, especialmente as pertencentes à família Fabaceae. Por tanto, a possibilidade de a espécie *Pentaclethra macroloba* apresentar atividade gastroprotetora é real aliado ao fato de ter um uso popular bem consolidado para a referida atividade. Assim torna-se fundamental uma criteriosa investigação científica que possibilite evidenciar sua eficácia para tratar gastrite, bem como garantias de segurança em sua utilização terapêutica.

3.7 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE *Pentaclethra macroloba* (WILLD.) KUNTZE

A espécie *Pentaclethra macroloba* uma planta da família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, e do gênero *Pentaclethra*, o mesmo apresenta três espécies nativas da floresta tropical (*Pentaclethra macroloba*, *Pentaclethra macrophyla* e *Pentaclethra filamentosa*), conhecida popularmente como “Pracaxi” é encontrada na região Amazônica, especificamente no Estado do Amapá. A *Pentaclethra macroloba* apresenta como características botânicas altura de 8-35m, dotada de copa mais ou menos arredondada. Tronco ereto e cilíndrico, com casca rugosa, de 35-55 cm de diâmetro. Folhas compostas bipinadas, com flores perfumadas de cor branca. Fruto em forma de vagem, achatado, deiscente, glabro, lenhoso, de 8-16 cm de comprimento, com 4-6 sementes grandes (LORENZI, 2002; VIANA et al., 2004; PERREIRA, 2012).

Figura 3: *Pentaclethra macroloba* (Pracaxi).



Fonte: Arquivo Pessoal.

Essa espécie é amplamente utilizada pela população amazônica para a cicatrização de úlceras gástricas e picadas de serpentes sendo seu óleo utilizado também para reumatismo, asma, bronquite e inflamação. Estudos científicos demonstram que cascas e folhas de *P. macroloba* apresentam atividades antidiarreicas, vermífugas, e cicatrizante (WILBERT; HAIEK, 1991; JOHNSTON; COLQUHOUN, 1996; PEREIRA, 2012). Estão ainda associadas à *P. macroloba* as atividades, larvicida das saponinas monodesmosídicas contra o *Aedes aegypti* ($L50 = 18,6 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$) (SANTIAGO et al., 2005; GARCEZ et al., 2013) e atividade anti-hemorrágica frente o veneno de *Bothrops atrox*, através do isolamento de saponinas triterpênicas denominadas de Macrolobina A e B (SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2007). Estudos relatam a atividade inseticida de suas sementes (CHUN et al., 1994).

A análise do óleo proveniente das sementes demonstra predominância de ácidos graxos e saponinas, onde esses ácidos são: ácidos oleico (44,32%), lignocérico (14,81%), linolênico (2,30%), ácidos esteárico (2,14%) e lignocérico (2,14%), palmítico (2,04%), linoleico (1,96%), mirístico (1,21%), láurico (1,3%), ácido beênico (19%), concentração seis vezes maior do que a concentração do mesmo no óleo de amendoim (PEREIRA, 2012). Contudo,

até o momento não havia informações de estudos avaliando a atividade gastroprotetora da espécie, sendo fundamental sua investigação.

Estudos fitoquímicos com as cascas do caule de *P. macroloba* demonstraram a presença de compostos químicos como saponinas triterpênicas. Conforme Viana et al. (2007), as substâncias, 3-b-O-D-glicopiranosilestigmasterol e duas saponinas denominadas de ácido 3-b-O-a-L-arabinopiranosil (2-1)-a-L-ramnopiranosil-olean-12-eno-28-óico (2) e o derivado peracetilado do ácido 3-O-Oib-D-glicopiranosil (1-2)-[a-L-ramnopiranosil-(1-2)]-a-arabinopiranosil-olean-12-eno-28-óico foram verificadas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A execução dos diversos protocolos experimentais ocorreu no Laboratório de Experimentação Animal-LEA, do Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, situado na Rodovia Juscelino Kubitschek, Km-02 - Zerão – Macapá, AP- Brasil.

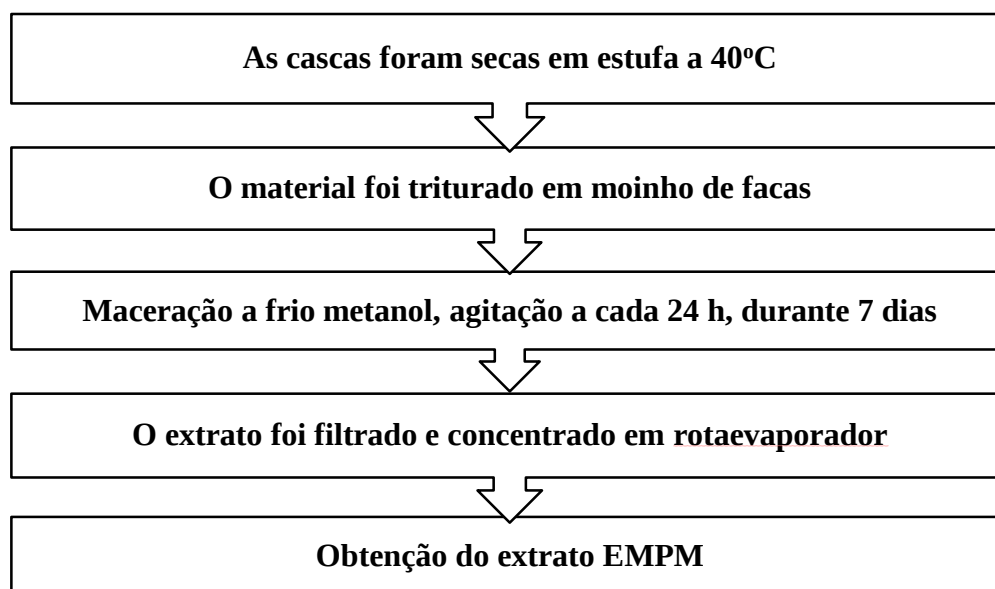
4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico da espécie *Pentaclethra macroloba* foi coletado no distrito da Fazendinha, Macapá, Amapá, Brasil (0°03'08.3"S 51°06'26.2"O). Durante a coleta foi preparada uma exsicata que foi depositada no Herbário do Instituto de Pesquisas do Estado do Amapá (Rod. Juscelino Kubitschek, Macapá-Ap) e tombada com o número 018803. Posteriormente, o material foi encaminhado para o Laboratório de Experimentação Animal (LEA), da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) para processamento.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO METANÓLICO DE *Pentaclethra macroloba*

As cascas do caule foram secas em estufa de ar circulante a 40° C, por aproximadamente, 72h. O material vegetal seco foi triturado em moinho de facas onde foi obtido um pó grosso, o qual passou por um processo de maceração a frio, utilizando como solvente metanol, na proporção 1kg de pó para 5L de metanol (1:5, peso/volume) e com agitação a cada 24 h durante 7 dias. A solução extrativa resultante foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob vácuo a uma temperatura próxima a 50°C para evaporação do solvente, obtendo um extrato mole que foi armazenado em recipiente para evaporação dos possíveis resíduos de solvente até a obtenção do extrato seco/bruto de *Pentaclethra macroloba* (EMPM) conforme Figuras 4 e 5, seu rendimento foi de 15%. Para a realização do experimento o extrato foi pesado e ressolubilizado em uma solução de DMSO (15%) para obtenção de diferentes concentrações.

Figura 4: Fluxograma de preparação do extrato metanólico de *Pentaclethra macroloba*.



Fonte: Arquivo Pessoal.



Figura 5: Extrato seco de *Pentaclethra macroloba*.

Fonte: Arquivo Pessoal.

4.3 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente projeto foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais – CEUA – da Universidade Federal do Amapá sob parecer 006/2015 de acordo com o que preconiza a Lei 11.794, de 2008, conhecida como Lei Arouca.

4.4 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos pesando entre 250-350 gramas e Camundongos Swiss (*Mus musculus*) albinos, pesando 25 a 35 gramas respectivamente, os quais foram provenientes do Biotério do Instituto Evandro Chagas-PA. Sendo aclimatados por um período de 5-7 dias a uma temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$. Obedecendo a um ciclo de claro-escuro de 12 horas controlado, com água e ração ad. *libitum* até o dia do experimento.

Para a eutanásia dos animais após os experimentos, foi utilizado uma associação de Ketamina e Xilasina (40 e 5 mg/kg) respectivamente assim como para a anestesia, administrados via intraperitoneal, de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, Resolução Normativa Nº 13, de 20 de setembro de 2013.

Os descartes das carcaças foram realizados de acordo com o Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório da FCF-IQ/USP de 2013. As carcaças foram coletadas em sacos brancos identificados com o símbolo de risco biológico, lacradas, e acondicionadas no freezer, até a coleta pela empresa contratada para descarte Tratalix LTDA.

4.5 DROGAS E REAGENTES UTILIZADOS

Para determinação da atividade e mecanismo de ação antiulcerogênica foram utilizados: cimetidina 100 mg/kg (Neo química), ácido clorídrico P.A (Alphatec), bicarbonato de sódio (Alphatec), cloreto de sódio (Alphatec), Cetoprofeno (Sanofi) indometacina (Sigma Aldrich), carbenoxolona (Sigma Aldrich), xilazina (Vetbrands), quetamina (Ceva), álcool metílico (Alphatec), álcool etílico P.A (Alphatec), dimetilsulfóxido-DMSO (Prolab) Todas as drogas foram preparadas imediatamente antes do uso.

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Na avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato foram realizados experimentos de indução de úlcera gástrica com base em fatores etiológicos da doença no homem como, etanol acidificado, AINEs e também para investigar o envolvimento de agentes protetores como: o óxido nítrico e os grupamentos sulfidrílicos no mecanismo de ação gastroprotetora de EMPM. Cada modelo experimental teve seu respectivo grupo controle negativo (Dimetilsulfóxido-DMSO 15%) e grupos testes, onde foi administrado o EMPM, em três níveis de dose (100, 250, 625 mg/Kg). Os animais, antes de cada tratamento, foram submetidos a jejum e mantidos em gaiola especial, para evitar a coprofagia, com livre acesso a água.

Após cada protocolo experimental os animais tiveram seus estômagos dissecados, abertos através da grande curvatura, lavados em solução fisiológica e escaneados. Sendo as imagens obtidas analisadas através do software “EARP” para aferir as áreas de lesão e determinar os seguintes parâmetros: (a) área total da lesão (ATL), (b) porcentagem de área de lesão em relação à área do estômago total, (c) índice de lesões ulcerativas (ILU); (d) porcentagem inibição ou cura (ANDRADE et al., 2008).

(a) $\sum$ Área Total da Lesão (mm²) (ATL);

(b) Porcentagem de Úlceras: Porcentagem de Área de Lesão em relação à Área do Estômago Total;

$$\% = \sum \frac{\text{Área da lesão}}{\text{Área Total do estômago}} \times 100$$

(c) Índice de Lesões Ulcerativas (ILU);

Nível 1: pontos hemorrágicos $\leq 1\text{mm}^2$

Nível 2: ulcerações de 1 a 3mm^2

Nível 3: ulcerações profundas $\geq 3\text{mm}^2$

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

(d) Porcentagem Inibição ou Cura;

$$\% \text{IC} = 100 - \frac{\text{ILU tratado}}{\text{ILU controle}} \times 100$$

4.6.1 Modelo de Indução de Úlcera por Etanol Acidificado

Este método foi baseado no modelo de Mizui e Doteuchi (1983), com modificações. Os animais foram deixados de jejum por 24 horas, os grupos experimentais, constituídos por 4 grupos (n=5) de camundongos Swiss, foram tratados por via oral. Um grupo de animais recebeu o veículo (controle negativo) e os demais receberam extrato nas doses (100, 250 e 625 mg/kg). Após 50 minutos do tratamento induziu-se a lesão gástrica através da administração do agente lesivo etanol acidificado (0,3M de HCl em etanol 60%) na proporção de 100 mL/kg de peso. Uma hora após a administração do agente lesivo os animais foram eutanasiados para a retirada e análises dos estômagos e determinação dos parâmetros supracitados.

4.6.2 Indução de Úlcera por Droga Antiinflamatória Não Esteroidal (DAINE)

O experimento foi realizado segundo a metodologia descrita por Rainsford (1987), com modificações. Após 24 horas de jejum os ratos foram divididos em 4 grupos (n=5). Onde os animais do grupo I foram tratados com o veículo (controle negativo) e os grupos II, III e IV foram tratados com EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg), respectivamente por via oral (v.o). Após 1h e 30 minutos foi administrado o agente indutor indometacina (100 mg/kg), por via oral e 0,2 mL de cetoprofeno (i.m). Os animais foram eutanasiados 12 horas após o estímulo lesivo para a retirada dos estômagos e determinação dos parâmetros supracitados.

4.6.3 Avaliação dos Mecanismos de Ação Envolvidos na Atividade Antiulcerogênica do EMPM

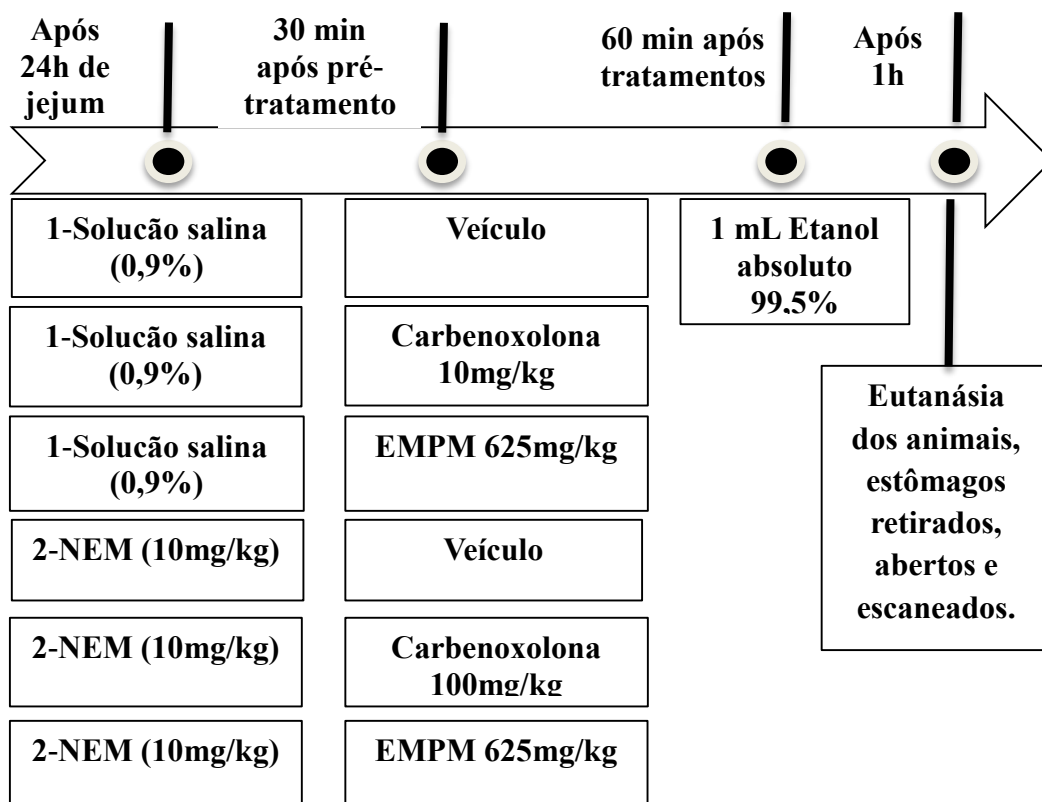
4.6.3.1 Indução de Úlcera por Ligadura do Píloro e Análise do Suco Gástrico

Foi adotado o modelo descrito por Shay et al. (1945) com modificações, onde os parâmetros do suco gástrico foram avaliados sob o efeito do extrato administrado no intuito de avaliar o efeito local e sistêmico do extrato. Após 24 horas de jejum os camundongos foram divididos em 3 grupos (n=6, cada), tratados por via oral e 3 grupos (n=6, cada), por via intraduodenal. Para o tratamento por via oral foram administrados respectivamente, extrato (625 mg/kg) (teste), cimetidina 100 mg/kg (controle positivo) e veículo (controle negativo), 30 min antes da ligadura do píloro. Decorrido 30 min da administração dos tratamentos os animais foram anestesiados com cetamina (40 mg/kg) + xilazina (5 mg/kg) (injetável), posteriormente foi realizado uma tricotomia seguida da incisão longitudinal logo abaixo da apófise xifóide para a amarradura do píloro com fio de sutura. Logo após a ligadura do píloro, suturou-se as incisões. Após 4h os animais foram eutanasiados e as incisões reabertas e realizadas a ligadura da cárdia (para preservação do conteúdo gástrico) para retirada do estômago. Na avaliação do efeito exclusivamente sistêmico a via intraduodenal de administração foi utilizada após a ligadura do píloro, para os grupos: extrato (625 mg/kg), cimetidina 100 mg/kg (controle positivo), veículo (controle negativo), como descrito anteriormente. Decorridas 4h, os animais foram eutanasiados e procedidas as retiradas dos estômagos, bem como coleta do conteúdo gástrico como supramencionado. Para cada via de administração e diferenciados tratamentos, foi determinada a ATL, ILU, % de Úlceras e % de Cura, e os parâmetros físico-químicos como volume do suco gástrico, a acidez total com auxílio de pHmetro (pH2, Labmeter) e a acidez livre (mEq/mL/4h), através de titulação simples com solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,01 N) e fenolftaleína (2%) como indicador ácido-base).

4.6.3.2 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Atividade Antiulcerogênica

Ratos Wistar, sob jejum de 24 horas foram separadas em 6 grupos, onde 3 grupos receberam pré-tratamento salina 0,9% - 10mL/kg intraperitonealmente. Os 3 grupos restante receberam pré-tratamento com NEM (N-etilmaleimida) 10mg/kg, pela mesma via. A droga NEM apresenta a propriedade de quelar as pontes de dissulfeto, responsáveis pela manutenção da conformação da barreira mucosa. Decorridos 30 minutos, cada grupo experimental recebeu (v.o) seu tratamento correspondente (veículo, carbenoxolona 100 mg/kg e extrato 625 mg/kg). Depois de 60 minutos, os animais receberam um volume fixo de 1mL de etanol absoluto (v.o), sendo sacrificados após 1 hora deste último tratamento. Os estômagos foram retirados e abertos pela grande curva, para análises e determinação dos parâmetros supramencionados, conforme fluxograma apresentado na figura 6. (MATSUDA et al., 1999).

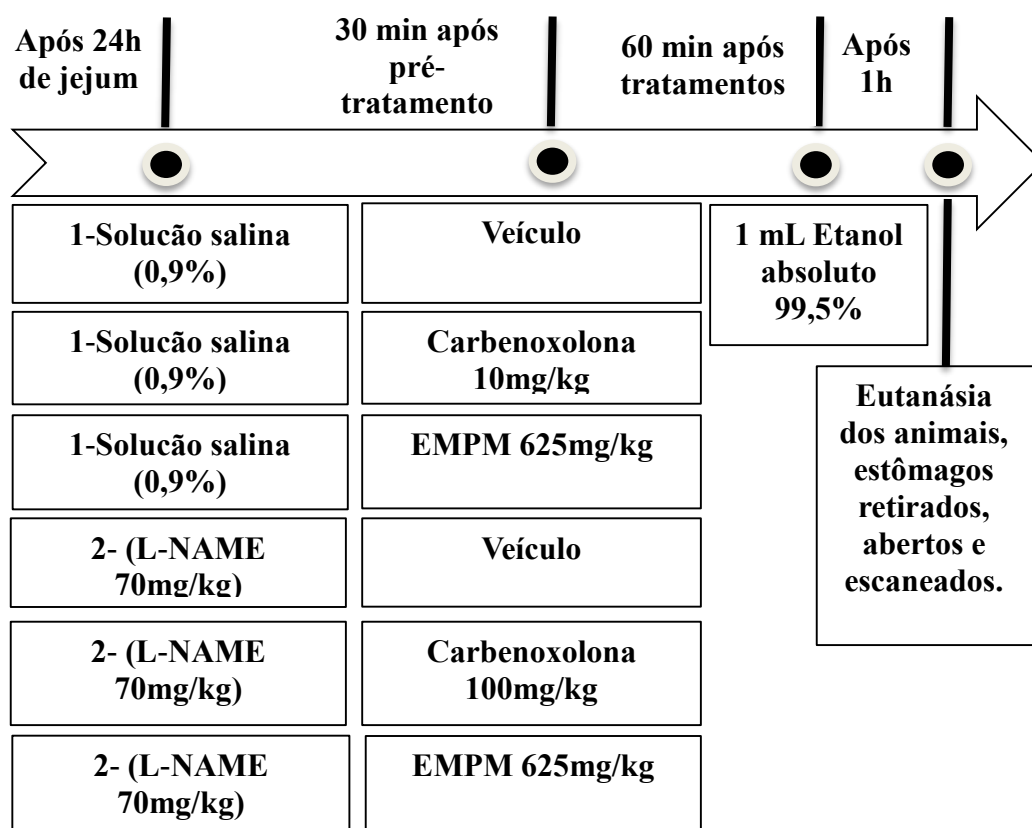
Figura 6: Fluxograma da avaliação da participação dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção.



4.6.3.3 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico (NO) na Atividade Antiulcerogênica

Ratos Wistar, em jejum por 24 horas, foram divididos em 6 grupos, onde 3 foram pré-tratados com injeção intraperitoneal de L-NAME (N-nitro-L-arginina metil ester) 70mg/kg (i.p), inibidor da NO-sintase, enquanto os outros 3 grupos receberam como pré-tratamento salina 0,9% (10mL/kg), pela mesma via. Após 30 minutos, os grupos receberam os respectivos tratamentos (veículo, carbenoxolona 100 mg/kg e extratos 625 mg/kg, v.o). Após 60 minutos, os animais foram tratados pela via oral com 1mL de etanol absoluto 99,5%. Os animais foram sacrificados após 1 hora, as imagens foram analisadas utilizando o software específico “EARP” para os procedimentos de medidas e classificações das lesões gástricas, de acordo com a figura 7 (ARRIETA et al., 2003).

Figura 7: Fluxograma da avaliação da participação do Óxido Nítrico (NO) na Atividade Antiulcerogênica.



4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m e analisados utilizando Análise de Variância uma via (ANOVA one-way) seguida pelo pós-testes de Dunnett para comparações múltiplas. Nos casos de comparação entre dois grupos foi usado o teste t. Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$. O programa utilizado para estas análises foi GraphPad Prism versão 5.01.

5 RESULTADOS

5.1 ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ETANOL ACIDIFICADO

Os resultados mostraram que os animais tratados com EMPM nas doses (100, 250, 625 mg/kg) tiveram uma redução significativa da área total lesionada, frente aos animais tratados com veículo. Quando se avaliou a percentagem de úlceras (%) na mucosa gástrica dos animais tratados com EMPM (100, 250, 625 mg/kg) constatou-se uma redução muito significativa quando comparado com o grupo de animais tratados com veículo. Houve redução significativa do Índice de Lesão Ulcerativa (ILU) dos animais que receberam o EMPM (100 mg; 250 mg; 625 mg) frente aos animais que receberam veículo. Quando calculado a percentagem de cura (%) os valores encontrados foram (96%,) para a dose de 100mg/kg, (98,5%) para a dose de 250 mg/kg e (100%) para a dose de 625 mg/kg, conforme pode ser observado na Figura 8 e 9 e Tabela 1.

Figura 8: Imagens dos estômagos após indução de úlcera por etanol acidificado, (A) controle negativo; (B) EMPM 100 mg/Kg; (C) EMPM 250 mg/kg; (D) EMPM 625 mg/Kg.

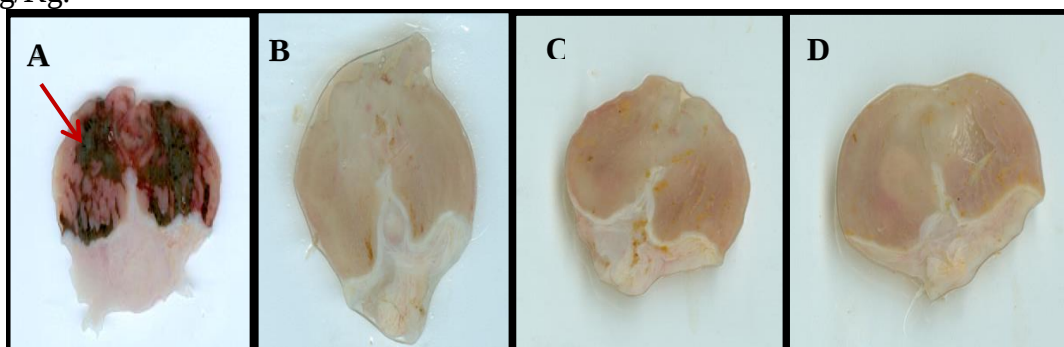
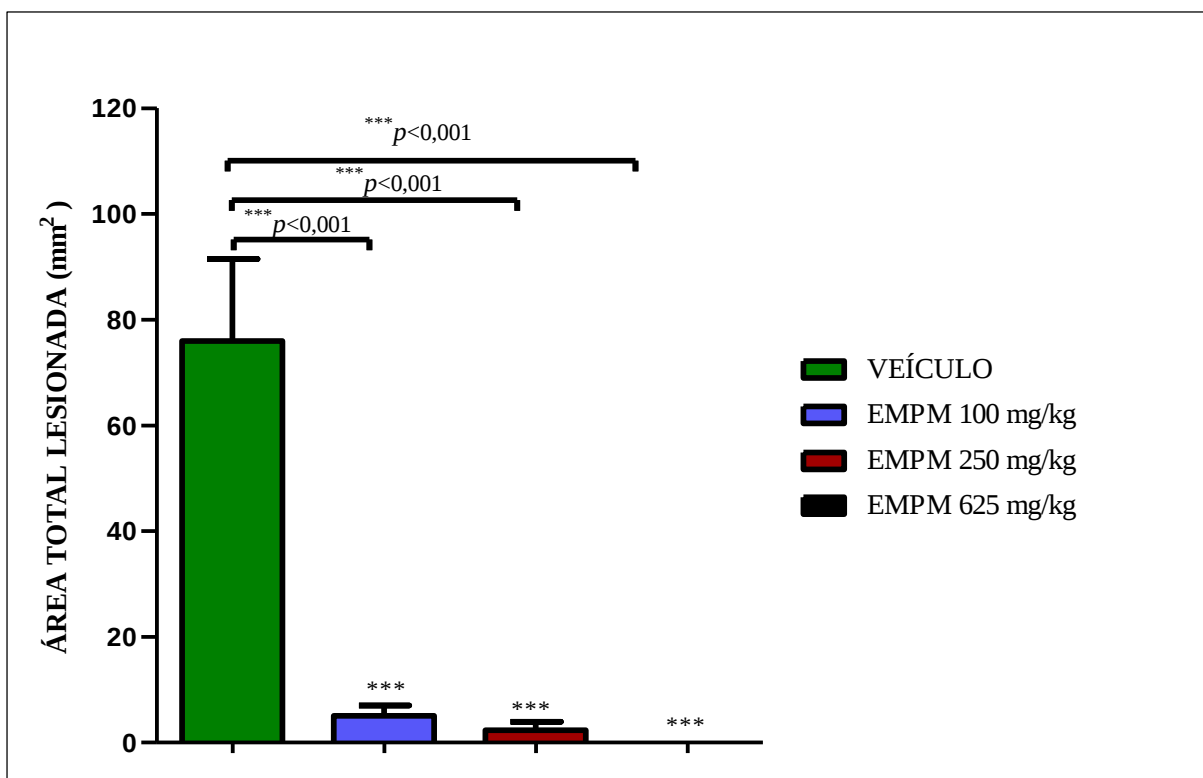


Figura 9: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625mg/kg) sobre o parâmetro área total lesionada (mm²) em modelos de úlceras gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.



Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m. (n=5). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett: *** $p < 0,001$, veículo vs. EMPM (625, 250, 100 mg/kg).

Tabela1: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em modelos de úlceras gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.

Tratamento (v.o)	I.L.U	% de Úlceras	% de cura
VEÍCULO	214.67 $\pm$ 49.30	30.48 $\pm$ 8.32	0,0 $\pm$ 0,00
EMPM 100	8.41 $\pm$ 3.43***	1.62 $\pm$ 0.58###	96,08% $\pm$ 1,55
EMPM 250	3.18 $\pm$ 2.20***	0.68 $\pm$ 0.42###	98,51% $\pm$ 1,02
EMPM 625	0,00 $\pm$ 0,00***	0,00 $\pm$ 0,00###	100% $\pm$ 0,00

Os resultados são apresentados como média $\pm$ e.p.m. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett: *** $p < 0,001$ EMPM nas doses de 100, 250 e 625 mg/kg vs. Veículo, ILU. ### $p < 0,001$ EMPM, nas doses de 100, 250 e 625 mg/kg vs. Veículo, % de úlceras.

5.2 ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS-AINES

No modelo de indução de úlceras gástricas tendo como agente lesivo antiinflamatórios não esteroidais (indometacina 100mg/kg + cetoprofeno 0,2mL). Os resultados mostram que quando avaliado a área total lesionada o extrato metanólico de *P. macroloba* (EMPM) na dose de (625mg) reduziu de forma significativa a área total das lesões quando comparado com o controle negativo. Os resultados mostraram que houve diferença estatística do ILU nos animais que receberam o EMPM na dose de (625 mg) frente ao veículo. A análise da % de úlceras na mucosa gástrica dos animais tratados com EMPM nas doses (625 mg/kg) demonstrou uma redução quando comparados com o grupo controle negativo (veículo). Quando calculado a percentagem de cura os valores encontrados foram de (53%) para a dose de 100mg/ Kg, (54%) para a dose de 250 mg/Kg e (84.33%) para a dose de 625 mg/Kg. Estes resultados estão ilustrados na Figura 10 e 11 e na Tabela 2.

Figura 10:Imagens dos estômagos após indução de úlcera por (indometacina + cetoprofeno), (A) controle negativo; (B) EMPM 100 mg/kg; (C) EMPM 250 mg/kg; (D) EMPM 625 mg/kg.

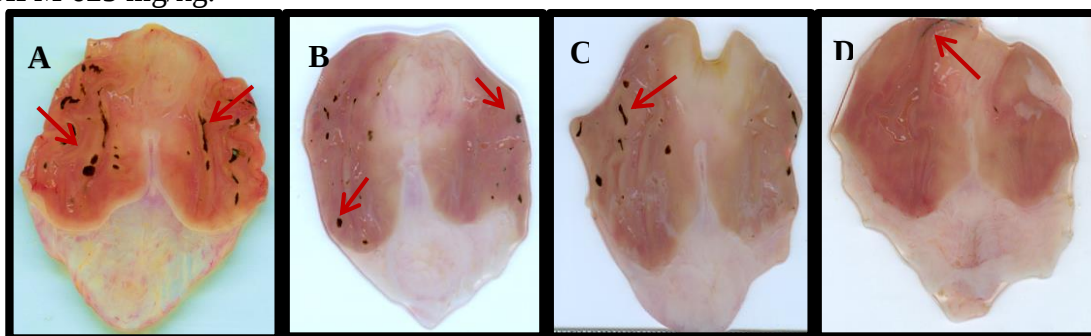
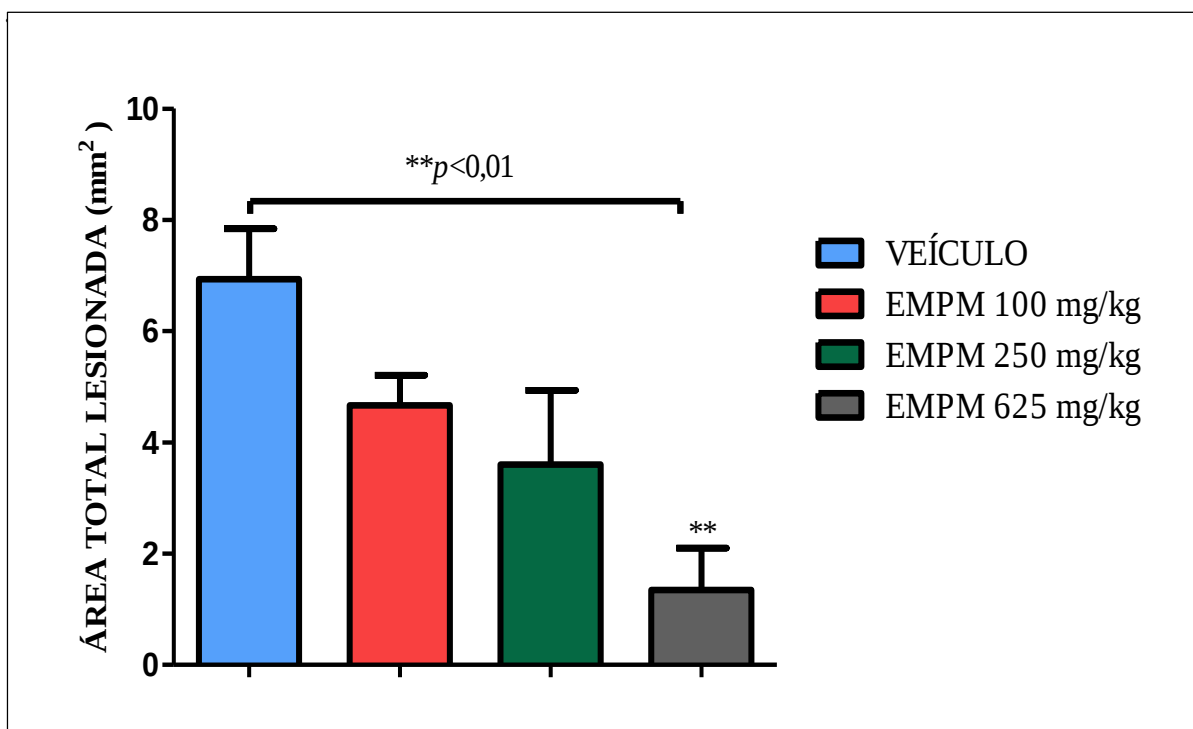


Figura 11: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre o parâmetro área total lesionada (mm²) em modelos de úlceras gástricas induzidas por AINEs em ratos.



Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m (n=5, por grupo). Foi utilizada a Análise de Variância de uma Via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett: ** $p<0,01$ comparado o grupo controle negativo (veículo) vs. extrato (625 mg/kg).

Tabela 2: Efeito da administração oral do EMPM nas doses de (100, 250 e 625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em modelos de úlceras gástricas induzidas por AINEs- (indometacina + cetoprofeno).

Tratamento (v.o)	I.L.U	% de Úlceras	% de Cura
VEÍCULO	10,77 $\pm$ 2,77	0,80 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,00
EMPM 100	4,96 $\pm$ 0,75	0,48 $\pm$ 0,05	53,94% $\pm$ 7,00
EMPM 250	4,94 $\pm$ 1,82	0,413 $\pm$ 0,13	54,10 $\pm$ 16,91
EMPM 625	1,68 $\pm$ 0,966 ⁺⁺	0,15 $\pm$ 0,08 ⁺⁺	84,33 $\pm$ 8,97

Os resultados são apresentados como média $\pm$ e.p.m (n=5). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett: ⁺⁺ $p<0,01$ EMPM na dose de (625 mg/kg) vs. veículo, ILU. ⁺⁺ $p<0,01$ EMPM dose de 625 (mg/kg) vs. veículo, % de úlceras.

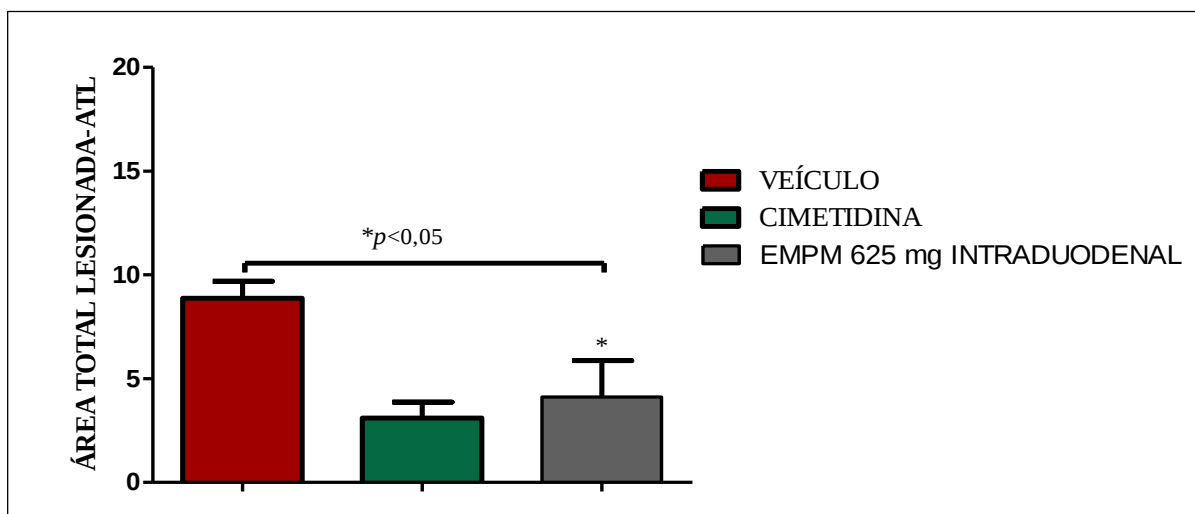
5.3 AVALIAÇÃO DE MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE *Pentaclethra macroloba*

Com base nos resultados positivos verificados nos diferentes modelos de úlcera gástrica surgiu o interesse em avaliar a possível participação dos grupamentos sulfidrilicos e do óxido nítrico no efeito gastroprotetor do EMPM,

5.3.1 Efeito da administração Intraduodenal do EMPM (625 mg/kg) e Cimetidina em Úlceras Gástricas Induzidas por Contensão do Suco Gástrico por meio da Ligadura do Píloro em camundongos.

Na avaliação do Extrato metanólico de *P. macroloba* administrado por via intraduodenal, utilizando o modelo de ligadura do píloro em camundongos, se observou que o EMPM (625 mg/kg) e a cimetidina (100 mg/Kg) apresentaram redução da ATL, quando comparado com o grupo controle negativo que recebeu o veículo. Foi verificado também inibição do ILU e da % de Úlceras. Quando se calculou a percentagem de cura os valores foram de 63,71% para o EMPM (625 mg/kg) e 73,00% para Cimetidina (100 mg/kg). Como mostra a Figura 12 e a Tabela 3.

Figura 12: Efeito da administração intraduodenal do EMPM 625 mg/kg) sobre o parâmetro área total da lesão em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do piloro.



Os resultados estão expressos como média±e.p.m n=(6). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett: * $p<0,05$ (EMPM 625 mg/kg) vs. (Veículo).

Tabela 3: Efeito da administração intraduodenal do EMPM (625 mg/kg) sobre os parâmetros ILU, % de Úlceras e % de Cura em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do piloro.

Tratamento (via intraduodenal)	I.L.U	% de Úlceras	% de Cura
VEÍCULO	24,38±3.72	3,56±0.49	0,00
CIMETIDINA	6,57±2.03	0,01±0.00	73,00%±8,33
EMPM (625 mg/kg)	8,84±5,59*	0,01±0,00**	63,71%±22,95

Os resultados estão expressos como média±e.p.m n=(6). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA seguido do teste de Dunnett): * $p<0,05$ (EMPM 625 mg/kg) vs. (Veículo), ILU. ** $p<0,01$ quando se comparou (EMPM 625 mg/kg) vs. (Veículo), % de úlceras.

5.3.1.1 Avaliação dos Parâmetros Físico-químicos do Suco Gástrico após Ligadura do Píloro via Intraduodenal

No estudo do modelo de ligadura do píloro os parâmetros físico-químicos do conteúdo estomacal dos camundongos foram investigados, como volume do suco gástrico, pH e concentração de íons H^+ , posteriormente a administração intraduodenal do veículo, cimetidina (100 mg/kg) e EMPM (625 mg/kg). O extrato administrado por via intraduodenal não alterou estes parâmetros de maneira significativa. Nos animais tratados com cimetidina se observou aumento significativo do pH somado a diminuição da concentração de H^+ , contudo não ocorreu alteração do conteúdo gástrico. Conforme Tabela 4.

Tabela 4: Efeito da administração intraduodenal do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os Parâmetros Físico-Químicos do suco gástrico após a ligadura do píloro em camundongos.

Tratamento	Volume (mL)	pH	[H ⁺] (mEq/mL/4h)
VEÍCULO	$325 \times 10^{-3} \pm 59 \times 10^{-3}$	$5300 \times 10^{-3} \pm 574 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-3} \pm 0,7 \times 10^{-3}$
CIMETIDINA	$240 \times 10^{-3} \pm 5 \times 10^{-3}$	$665 \times 10^{-3} \pm 189 \times 10^{-3}^*$	$1 \times 10^{-3} \pm 0,07 \times 10^{-3}^*$
EMPM (625 mg/kg)	$208 \times 10^{-3} \pm 35 \times 10^{-3}$ ns	$4973 \times 10^{-3} \pm 429 \times 10^{-3}$ ns	$1 \times 10^{-3} \pm 0,2 \times 10^{-3}$ ns

Os resultados estão expressos como média $\pm$ e.p.m n=(6). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA seguido do teste de Dunnett). * $p < 0,05$. (ns = diferença não significativa).

5.3.2 Efeito da Administração Oral do Veículo, Cimetidina e EMPM (625 mg/kg) em Úlceras Gástricas Induzidas por Contensão do Suco Gástrico por meio da Ligadura do Píloro em camundongos.

Na avaliação do Extrato metanólico de *P. macroloba* administrada por via oral, utilizando o modelo de ligadura do píloro em camundongos, se observou que o EMPM (625 mg/kg) e a cimetidina (100 mg/Kg) não apresentaram diferença significativa sobre a ATL, ILU e % de úlceras quando comparados com o grupo controle negativo (veículo). Quando se calculou a percentagem de cura os valores foram de 21,61% para o EMPM (625 mg/kg) e 52,23% para Cimetidina (100 mg/kg). Como mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Efeito da Administração Oral do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os parâmetros ATL, ILU, % de Úlcera e % de Cura em úlceras gástricas induzidas por contensão do suco gástrico por meio da ligadura do píloro.

Tratamento (via intraduodenal)	ATL	I.L.U	% de Úlceras	% de Cura
VEÍCULO	5,14±1,15	10,50±2,86	1,82±0,56	0,00±0,00
CIMETIDINA	1,48±0,58	1,63±0,62	0,20±0,09	52,26±15,12
EMPM (625 mg/kg)	3,83±1,37 ^{ns}	8,22±3,58 ^{ns}	1,56±0,55 ^{ns}	21,65±34,12 ^{ns}

Os resultados estão expressos como média±e.p.m. (n=6). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett. (ns = diferença não significativa).

5.3.2.1 Efeito da Administração Oral do EMPM (625 mg/kg sobre os Parâmetros Físico-Químicos do Suco Gástrico após a Ligadura do Píloro em camundongos.

No modelo de ligadura do píloro os parâmetros físico-químicos do conteúdo estomacal dos camundongos foram investigados, como volume do suco gástrico, pH e concentração de íons H^+ , posteriormente a administração oral da do veículo, cimetidina (100 mg/kg) e EMPM (625 mg/kg). O extrato administrado por via oral não alterou nem um dos parâmetros avaliado. Já os animais que receberam cimetidina apresentaram aumento do pH e da concentração de H^+ quando comparado com o veículo, porém não alterou o volume do conteúdo gástrico.

Tabela 6: Efeito da administração oral do EMPM (625 mg/kg, cimetidina e veículo) sobre os Parâmetros Físico-Químicos do suco gástrico após a ligadura do píloro em camundongos.

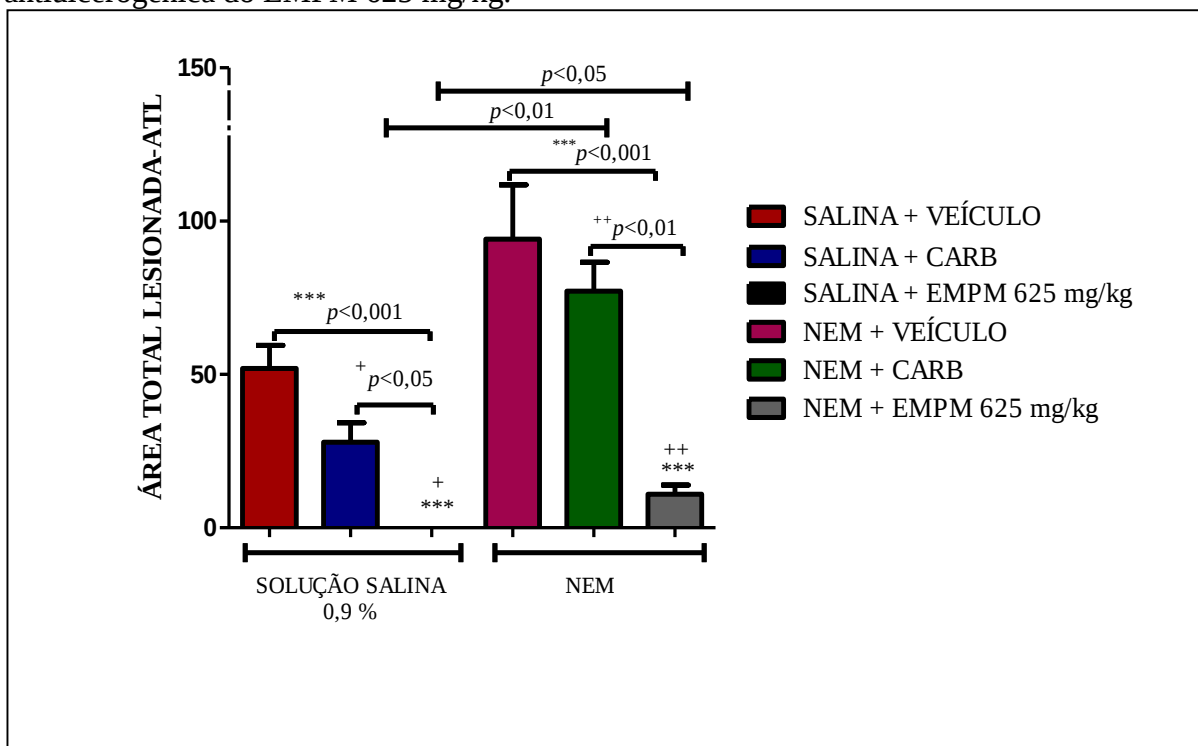
Tratamento	Volume (mL)	pH	[H+] (mEq/mL/4h)
VEÍCULO	$478 \times 10^{-3} \pm 123 \times 10^{-3}$	$5163 \times 10^{-3} \pm 502 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-3} \pm 0,2 \times 10^{-3}$
CIMETIDINA	$380 \times 10^{-3} \pm 97 \times 10^{-3}$	$6670 \times 10^{-3} \pm 134 \times 10^{-3}^*$	$0,56 \times 10^{-3} \pm 0,07 \times 10^{-3}^*$
EMPM (625 mg/kg)	$814 \times 10^{-3} \pm 113 \times 10^{-3}$ ns	$5194 \times 10^{-3} \pm 566 \times 10^{-3}$ ns	$0,88 \times 10^{-3} \pm 0,2 \times 10^{-3}$ ns

Os resultados estão expressos como média $\pm$ e.p.m $n=(6)$. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett. * $p<0,05$. (ns = diferença não significativa).

5.3.3 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrilícos (SHs) na Atividade Antiulcerogênica do EMPM

No protocolo que avaliou a participação do grupamento sulfidrilíco na gastroproteção mediada pela *P. macroloba*. Observou-se que quando foi realizado o pré-tratamento com a salina e tratamento com (EMPM 625 mg/kg) ocorreu inibição da área total lesionada quando comparado com o grupo controle negativo (veículo). Quando comparado o EMPM na dose de (625 mg/kg) vs. o grupo tratado com a droga padrão (carbenoxolona) o mesmo apresentou inibição da área total lesionada. Quando os animais foram submetidos ao pré-tratamento com NEM droga que quebra as pontes dissulfetos e tratados com o EMPM na dose de (625 mg/kg) ou carbenoxolona (100mg/kg) ocorreu um aumento da área total lesionada, contudo o EMPM (625 mg/kg) mesmo na presença do NEM apresentou área total lesionada menor que o grupo tratado com a droga padrão. Em relação ao Índice de Lesão Úlcerativa-ILU quando foi realizado pré-tratamento com a salina e tratamento com (EMPM 625 mg/kg) ocorreu inibição da lesão quando comparado com o grupo controle (veículo) e quando comparado com a droga padrão (carbenoxolona). Quando os animais foram submetidos ao pré-tratamento com NEM ocorreu aumento do índice de Lesão Úlcerativa (ILU), porém o EMPM apresentou índices de lesão menor que a droga padrão carbenoxolona. Os resultados apresentados para % de úlceras quando foi realizado pré-tratamento com a salina e tratamento com (EMPM 625 mg/kg) demonstrou que ocorreu inibição significativa quando comparado com grupo controle (veículo) e quando comparado com a droga padrão (carbenoxolona). Quando os animais foram submetidos ao pré-tratamento com NEM ocorreu aumento significativo da % de úlceras, entretanto o grupo tratado com EMPM (625 mg/kg) apresentou um percentual de úlceras menor que o grupo tratado com a droga padrão. Conforme ilustrado na Figura 13 e Tabela 7.

Figura 13: Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrilcos (SHs) na atividade antiulcerogênica do EMPM 625 mg/kg.



Os resultados foram expressos como média $\pm$ e.p.m $n=5$). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA): *** $p<0,001$ (Salina+Veículo) vs. (Salina + EMPM 625 mg/kg); + $p<0,05$ (Salina+Carbenoxolona) vs. (Salina+EMPM). *** $p<0,001$ quando se comparou (NEM + Veículo) vs. (NEM + EMPM 625 mg/kg); ++ $p<0,01$ (NEM + Carbenoxolona) vs. (NEM + EMPM 625mg/kg). A comparação entre os grupos não-bloqueados e bloqueados usou-se o teste “t” de Student: $p<0,01$ (Salina + Carbenoxolona) vs. (NEM + Carbenoxolona).

Tabela 7: Avaliação da participação dos grupamentos sulfidrilícos (SHs) na atividade antiulcerogênica do EMPM.

Pré-tratamento	Tratamento (v.o)	I.L.U	% de Úlceras	% Cura
SALINA	VEÍCULO	115,34±24,89	4,03±0,70	0,00±0,00
	CARBENOXOLONA	79,03±18,13	3,18±0,60	31,45±15,72
	EMPM 625	0,00±0,00 ^{**+}	0,00±0,00 ^{***+} +	100%0,00
NEM (i.p)	VEÍCULO	270,19±52,02	14,29±2,21	0,00±0,00
	CARBENOXOLONA	218,3±27,76	8,54±1,15	46,68±15,61
	EMPM 625	26,12±8,29 ^{***} ++	1,23±0,36 ^{***} ++	93,62±2,02

Os resultados foram expressos como média ± e.p.m (n=5). Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA): ^{**} $p < 0,01$ quando se comparou (Salina + Veículo) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg), ⁺ $p < 0,05$ (Salina + CARB) vs. (Salina + EMPM 625mg/kg), estudo do ILU. ^{***} $p < 0,001$ analisando-se (Salina + DMSO) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg), ⁺⁺ $p < 0,01$ (Salina + CARB) vs. (Salina + EMPM 625 mg/kg) % de úlceras.

Após pré-tratamento com N-etilmalemeide (NEM): ^{***} $p < 0,001$ (NEM + Veículo) vs (NEM + EMPM 625 mg/Kg); ⁺⁺ $p < 0,01$ (NEM + CARB) vs (NEM + EMPM 625 mg/kg) ILU; ^{***} $p < 0,001$ (NEM + Veículo) vs. (NEM + EMPM 625 mg/Kg); ⁺⁺ $p < 0,01$ (NEM + CARB) vs (NEM + EMPM 625 mg/kg) % de úlceras. A comparação entre os grupos bloqueados e não bloqueados foi feita pelo teste “t” de Student: $p < 0,01$ (Salina + EMPM 625mg/kg) vs. (NEM + EMPM 625mg/kg).

5.3.4 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico (NO) na Gastroproteção do EMPM

O presente protocolo avaliou a participação do óxido nítrico na atividade anti-ulcerogênica mediada pelo extrato metanólico de *P. macroloba* (625 mg/Kg). De acordo com os resultados obtidos pôde-se observar que nos grupos cujo pré-tratamento foi feito com a salina, tanto o EMPM (625 mg/kg) quanto a droga padrão (Carbenoxolona) apresentaram alterações significativas nos parâmetros aferidos (ATL, ILU, % de Úlceras e % de cura), quando comparados ao grupo veículo, Tabela 8. Podemos observar ainda, que o efeito do extrato foi maior que a carbenoxolona. Quando os animais foram submetidos ao pré-tratamento com L-NAME, um inibidor da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS), constatou-se que a eficácia tanto de EMPM quanto da Carbenoxolona foi diminuída quando comparado com os respectivos grupos não submetidos à ação do L-NAME. Tal resultado demonstra que o NO participa do mecanismo de ação do extrato estudado, porém não é o único agente que contribui para a gastroproteção, visto que, apesar de diminuída a eficácia ela ainda é considerada uma diminuição parcial. Conforme ilustrado na Tabela 8.

Tabela 8: Efeito do Extrato Metanólico de *P. macroloba* (625mg/Kg) em Úlceras Gástricas Induzidas por Etanol Absoluto em ratos após pré-tratamento com um inibidor da enzima Oxido Nítrico Sintase (L-NAME).

Pré-tratamento	Tratamento (v.o)	ATL	I.L.U	% de Úlceras	% Cura
SALINA	VEÍCULO	46,26±5,13	125,984±14,85	4,50±0,419	0,00±0,00
	CARBENOXOLONA	26,94±1,16	62,57±2,66	3,24±0,63	49,51±2,30
	EMPM 625	5,48±2,08*** ++	12,51±5,62*** ++	0,688±0,266*** ++	90,06±4,46
L-NAME (i.p)	VEÍCULO	42,47±1,08	122,44±27,87	3,55±1,46	0,00±0,00
	CARBENOXOLONA	42,44±9,29	80,71±2,69	4,16±0,77	34,07±2,22
	EMPM 625	12,61±6,54** ++	33,24±4,95**	2,28±0,70	72,85±4,04

Os resultados foram expressos como média ± e.p.m. *** $p < 0,001$ quando se comparou (Salina + Veículo) vs. (Salina + EMPM (625 mg/Kg); ++ $p < 0,01$ (Salina + CARB) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg) ATL; *** $p < 0,001$ (Salina + Veículo) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg); ++ $p < 0,01$ (Salina + CARB) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg) estudo do ILU; *** $p < 0,001$ (Salina + Veículo) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg); ++ $p < 0,01$ (Salina + CARB) vs. (Salina + EMPM 625 mg/Kg) estudo da % de úlceras.

Após pré-tratamento com L-NAME: ** $p < 0,01$ (L-NAME + Veículo) vs. (L-NAME + EMPM 625 mg/Kg); ++ $p < 0,01$ (L-NAME + CARB) vs. (L-NAME + EMPM 625 mg/kg) ATL; ** $p < 0,01$ (L-NAME + Veículo) vs. (L-NAME + EMPM 625 mg/Kg) ILU.

A comparação entre os grupos bloqueados e não bloqueados foi feita pelo teste “t” de Student: $p < 0,05$ (Salina + EMPM 625mg/kg) vs. (L-NAME + EMPM 625mg/kg).

6 DISCUSSÃO

O estudo da atividade de compostos com propriedades gastroprotetora baseia-se primeiramente em demonstrar a capacidade de estes agentes atuarem na prevenção ou tratamento de lesões ocasionadas por diferentes agentes, sendo uma preocupação subsequente a investigação do mecanismo de ação pelo qual ocorre essa gastroproteção.

No nosso estudo investigamos primeiramente a atividade do extrato metanólico de *P. macrolobra* (“Pracaxi”) frente a lesões gástricas ocasionadas por dois importantes modelos de indução úlceras, em animais, que mimetizam fatores causadores de úlcera no homem. Bem como avaliamos a interferência de EMPM na estimulação de reconhecidos mecanismos de proteção gástrica, como dos grupamentos sulfidrílicos e do óxido nítrico. Outra preocupação foi analisar a influência de EMPM sobre as características do conteúdo gástrico (volume, acidez total e livre) e observar se o efeito do extrato se dá de forma local ou sistêmica.

O primeiro protocolo de indução úlceras que realizamos foi à indução de lesão gástrica por etanol acidificado em camundongos. Essa lesão, assim ocasionada é consequência de um efeito direto deste agente sobre a mucosa do estômago comprometendo sua integridade por muitos mecanismos, como solubilizar a barreira de muco e bicarbonato, permitir o acesso de íons H^+ advindos do lúmen, ocorrer à geração de radicais livres, bem como a possibilidade de produção de danos a macromoléculas como o DNA (MIZUI; DOTEUCHI, 1983; LIMA et al., 2009). Sendo assim, tal modelo é considerado adequado para investigar drogas com possível atividade citoprotetora.

Para o modelo de úlceras induzida por Etanol acidificado, nossos resultados demonstraram que o pré-tratamento de grupos animais com EMPM nas respectivas doses de 100, 250 e 625 mg/Kg, levou a um importante efeito gastroprotetor. O extrato foi capaz de diminuir de forma significativa a área total lesionada (ATL), o percentual de úlceras e o índice de lesões ulcerativas (ILU) para todas as doses utilizadas chegando a promover uma percentagem de cura de 100 % para os animais que receberam a dose de 625 mg/kg, quando comparados com o grupo que recebeu apenas o veículo. Essa resposta gastroprotetora apresentada pelo EMPM nesse protocolo experimental sugere que o extrato atua possivelmente aumentando a defesa da mucosa gástrica o que sugere proteção frente a fatores agressores locais. Os resultados obtidos estão em conformidade com Fernandes et al., (2010)

que evidenciou que a *Parkia platycephala* Benth. Planta pertencente à família Fabaceae, possui efeito gastroprotetor pelo modelo de úlceras gástricas induzida por etanol acidificado.

Diante da caracterização da atividade antiulcerogênica de *P. macroloba*, partimos para avaliar se tal extrato também seria capaz de prevenir lesões provocadas pelo uso de Antiinflamatórios Não Esteroidais-AINES, uma classe de medicamentos que tem como principal efeito adverso o surgimento de lesões gástricas, e é utilizada por mais de 30 milhões de pessoas, diariamente, em todo o mundo (LUZ et al., 2006; SUNG et al., 2009).

Os AINES como piroxicam, indometacina e aspirina induzem a formação de úlceras gástricas de maneira multifatorial e através de efeitos locais e sistêmicos. No que se referem à atividade citotóxica local dos AINEs, estes podem ocasionar diminuição da secreção de muco e bicarbonato, causar dano a camada de fosfolipídios que reveste a superfície mucosa, comprometendo suas propriedades hidrofóbicas, levando a quebra da integridade da membrana e aumento de sua permeabilidade (PHILLIPSON et al., 2002; LIKHTENBERGER et al., 2006; BAUMGARTNER et al., 2009).

Os efeitos sistêmicos dos AINEs envolvem inibição da enzima Ciclooxygenase (COX), e consequente bloqueio da síntese de prostaglandinas citoprotetoras, levando ao comprometimento dos mecanismos de proteção da mucosa gástrica, como regulação da secreção ácida, produção de muco e bicarbonato, entre outros (MUSUMBA et al., 2009).

Os mecanismos dos fármacos que são usados para diminuir as lesões gástricas causadas por indometacina (AINE) relatada na literatura incluem abertura de canais de potássio ATP dependentes, inibição de granulócitos elastase, aumento do óxido nítrico, diminuição da concentração de adrenalina e redução das proteínas de choque térmico (VANE; BOTTING, 1998; WALLACE, 2008; MUSSUMBA et al., 2009).

No modelo de úlceras induzidas por AINEs, os resultados obtidos demonstraram que o EMPM, na dose de 625 mg/Kg, foi capaz de reduzir significativamente as lesões gástrica causadas pelos antiinflamatórios não esteroidais (indometacina + cetoprofeno). O que leva a sugerir que a espécie avaliada apresenta atividade antiulcerogênica via mecanismos citoprotetores, já que as lesões provocadas por AINEs estão relacionadas com a inibição das prostaglandinas, que são mediadores fundamentais para proteção da mucosa gástrica (KHENNOUF et al., 2003).

Com base nos resultados obtidos nos modelos estudados o próximo passo foi escolher a melhor dose buscando compreender os mecanismos envolvidos na ação antiulcerogênica

proporcionado pelo extrato metanólico de *Pentaclethra macroloba* (EMPM), a dose de 625 mg/kg foi definida como a dose mais efetiva.

Por conseguinte foi avaliada a atividade antissecretória gástrica utilizando o modelo de ligadura do piloro, onde acontece acúmulo de secreção gástrica (ALMEIDA et al., 2012). Através da análise da (ATL, ILU, % de Úlceras e % de Cura) e dos parâmetros físico-químicos como: volume do suco gástrico, pH e concentração dos íons H^+ . Neste modelo, a droga utilizada como controle negativo foi o veículo e como controle positivo foi a cimetidina por ser uma droga padrão (antagonista de receptor H_2) largamente utilizada como agente antissecretório gástrico, que produz seus efeitos, basicamente, por meio da inibição da secreção ácida atuando na prevenção e tratamento de úlceras gástricas (DIAS et al., 2000; GUSTAFSON; WELLING, 2010).

Após a realização da ligadura do piloro as úlceras são formadas por contensão do suco gástrico. Esta metodologia incita a secreção de hormônio gástrico que estimula as células parietais a produzir HCl (BAGGIO et al., 2003). As diferentes formas de administração do extrato possibilita observar o efeito sistêmico (intraduodenal) ou local (oral).

Posteriormente a ligadura do piloro verificou-se que a administração intraduodenal do EMPM (625 mg/kg) reduziu de forma estatisticamente significativa a ATL, ILU, e % de úlceras frente as lesões resultantes da contenção do suco gástrico. No entanto o EMPM administrado por via oral não apresentou proteção tão significativa sugerindo que o efeito gastroprotetor de EMPM é predominantemente sistêmico.

Na avaliação dos parâmetros físico-químicos do conteúdo gástrico de animais tratados com EMPM, administrado tanto por via intraduodenal como oral, não se observou alterações no pH, na acidez total, nem no volume do conteúdo gástrico. O que sugere que a atividade antiulcerogênica do EMPM não ocorre via atividade antissecretória, porém envolve outros mecanismos. Resultado semelhante foi observado por Ribeiro (2013) na investigação da ação gastroprotetora da *C. pyramidalis* em que o extrato protegeu a mucosa gástrica dos agentes lesivos, porém não foi capaz de alterar o pH, acidez e secreção gástrica, assim como inibir a secreção de ácidos pelas células parietais.

Diante dos resultados obtidos e no intuito de investigar os mecanismos de ação gastroprotetora promovidos pelo EMPM foram realizados protocolos experimentais para investigar a participação dos grupamentos sulfídricos e do óxido nítrico, no efeito farmacológico provocado pela espécie.

Os compostos sulfidrílicos não proteicos exercem proteção, contra danos provocados pelo etanol à mucosa gástrica, basicamente por conter alta concentração de glutathione reduzida (GSH), cisteína (CSH), coenzima A, quando sua concentração diminui os danos na mucosa aumentam devido à formação de radicais livres por agentes lesivos. (NAGY et al., 2007; FERREIRA et al., 2008).

Conforme os resultados obtidos, a partir do modelo de úlcera induzida por etanol absoluto em ratos, na presença e ausência de NEM N-etilmaleimida (i.p), bloqueador de compostos sulfidrílicos que potencializa as lesões induzidas por etanol (KAPLAN et al., 2012; SZABO, 2014). No experimento realizado o EMPM (625 mg/kg) administrado por via oral após pré-tratamento (i.p) com solução salina (0,9%) inibiu de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol absoluto. Contudo o pré-tratamento com NEM (i.p), diminuiu a atividade antiulcerogênica do EMPM tanto para a (ATL, ILU e % de úlceras). Quando se analisou o grupo bloqueado em relação ao grupo não-bloqueado verificou-se que houve diferença significativa sugerindo assim que os grupamentos sulfidrílicos endógenos estão envolvidos no mecanismo de proteção do EMPM, porém não é o único fator de proteção pelo qual o EMPM promove gastroproteção.

Com o objetivo de investigar a participação de outro agente gastroprotetor endógeno na ação citoprotetora de *P. macroloba*, partiu-se para verificar o envolvimento do óxido nítrico neste efeito.

O Óxido nítrico é produzido pela enzima NO sintase, o mesmo exerce papel fundamental na manutenção da integridade, pois tem participação na regulação da secreção de muco, bicarbonato e ácidos gástricos participa também da regulação do fluxo sanguíneo no estômago (CALVO et al., 2007) e ajuda no efeito protetor das prostaglandinas, pois agem concomitantemente impedindo a migração de neutrófilos e elevando a produção de muco e bicarbonato (WALLACE 1996; KIM, 2014; TAKEUCHI, 2014).

Para avaliar o papel do óxido nítrico no efeito antiulcerogênico do EMPM (625 mg/kg), três grupos de animais foram submetidos ao pré-tratamento com solução salina (0,9%) e três grupos foram pré-tratados com L-NAME (i.p), um inibidor da sintase do óxido nítrico. Conforme o experimento realizado o EMPM (625 mg/kg) administrado por via oral no grupo pré-tratado com solução salina inibiu de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol absoluto. Os animais pré-tratados com L-NAME (i.p), e tratados com EMPM apresentaram inibição da área total lesionada (ATL) e do índice de lesão ulcerativa (ILU) frente ao controle negativo (veículo) como também quando comparado com a droga padrão

carbenoxolona. Quando comparado o grupo que teve a síntese de NO bloqueada, com o não-bloqueado verificou que houve diferença significativa sugerindo assim que a síntese de NO está envolvida no mecanismo de proteção produzido pelo EMPM. Isso se dar porque o principal papel do NO envolve a manutenção do fluxo sanguíneo e manter a integridade do epitélio gástrico como também estimular a secreção e síntese de muco e bicarbonato (BRZOZOWSKI et al., 2005; FREITAS et al., 2011), contudo a proteção evidenciada é somatória a outros mecanismos.

Baseando-se na fitoquímica da família Fabaceae é possível que o efeito gastroprotetor do EMPM esteja relacionado com os compostos polifenólicos, como flavonoides e taninos (BAJRACHARYA, 2015). Visto que tais compostos estão diretamente relacionados a atividade antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante (ZUANAZZI; MONTANHA, 2010). Outro composto encontrado nas plantas da família Fabacea são as saponinas triterpênicas presentes na *Glycyrriza glabra* apresentando atividade cicatrizante, bem como na espécie *P. macroloba* que também é detentora de saponinas triterpênicas tendo como resultado semelhante o efeito gastroprotetor.

7 CONCLUSÕES

Os dados obtidos no presente estudo com EMPM permitiu concluir que:

- O extrato das cascas de *Pentaclethara macroloba*, nas doses analisadas, apresenta uma notável atividade antiulcerogênica frente a diferentes agentes agressões da mucosa gástricas como o etanol acidificado e drogas anti-inflamatórias não esteroidais;
- A atividade do EMPM parece não envolver mecanismos antissecretórios gástricos;
- A ação antiulcerogênica de EMPM, possivelmente se deve um efeito sistêmico;
- O mecanismo de proteção do EMPM sobre a mucosa gástrica parece envolver a participação de grupamentos sulfidrílicos não-proteicos e do Óxido Nítrico;
- Os outros mecanismos protetores podem atuar de maneira somatória aos mecanismos já evidenciados neste estudo.

O EMPM demonstra ser detentor de compostos bioativos, com potencial terapêutico frente a úlceras gástricas em modelos animais podendo futuramente ser um provável candidato a medicamento fitoterápico. No entanto, estudos complementares serão necessários inclusive àqueles voltados a melhor esclarecer a ação gastroprotetora de *P. macroloba*.

8 PERSPECTIVAS

Estudos posteriores serão necessários com o intuito de avaliar o efeito curativo da *P. macroloba* para tratamento das úlceras gástricas crônicas (úlceras induzidas por ácido acético), as quais são semelhantes a úlceras em humanos, assim como estudos voltados a avaliar o efeito do tratamento com o extrato de *P. macroloba* sobre a colonização da bactéria *H. pylori* no tecido gástrico.

REFERÊNCIAS

- AIHARA, E.; NOMURA, Y.; SASAKI, Y.; ISE, F.; KITA, K.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. *Life Sciences*, v. 80, p. 2446-2453, 2007.
- ALTMAN, d. F. Fármacos utilizados nas doenças gastrointestinais. Em: KATZUNG, B. G. *Farmacologia Básica Clínica*, 9 ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 867-891, 2005.
- ALANKO J., RIUTTA A., HOLM P., ET AL., “Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidant/prooxidant properties,” **Free Radical Biology & Medicine**, vol. 26, pp. 193-201, 1999.
- ALONSO, J. Bases Clínicas y Farmacológicas In: *Tratado de Fitomedina*. Buenos Aires, Argentina: **ISIS**, p.198-735, 1998.
- ALQASOUMI, Saleh et al. Rocket “Eruca sativa”: A salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 15, n. 16, p. 1958, 2009.
- ANDRADE, S. F., COMUNELLO, E., NOLDIN, V. F., MONACHE, F., CECHELIN FILHO, V., & NIERO, R. Antiulcerogenic activity of fractions and 3, 15-Dioxo-21 α -hydroxy friedelane isolated from *Maytenus robusta* (Celastraceae). **Archives of Pharmacal Research**, v. 1, n. 31, p. 41-46, 2008.
- AVILLA, J. R.; DE LA LASTRA, C. A.; MARTIN, M. J.; MOTILVA, V.; LUQUE, I.; DELGADO, D.; ESTEBAN, J.; HERRERIAS, J. Role of endogenous sulphydryls and neutrophil infiltration in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by piroxicam in rats. **Inflamm. Res.**, 45(2): 83-88, 1996.
- ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S. e DUBOIS, A. Eicosanoids and the stomach. **Prostaglandins Other Lipids Mediat.** v. 61, n. 3-4, p. 105-124, 2000.
- BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BATISTA, L.M., ALMEIDA, A.B.A., MAGRI, L.P., TOMA, W., CALVO, T.C., VILEGAS, W., SOUZA BRITO, A.R.M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* SILVEIRA. **Biol. Pharm. Bull.** 27: 328-332, 2004.
- BI, W-P.; MAN, H-B.; MAN, M-Q. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. *World J Gastroint. Pathophysiol.* v. 20, p.17020-17028, 2014.
- BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. in Goodman & Gilman’s the pharmacological basis of therapeutics. 12ª Edição. United States of America: Mc Graw-Hill Companies, Inc., 2012.
- BOGLIOLO, L. *Bogliolo Patologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1472p, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL, 2010. Resolução RDC nº. 14 de 31 de março de 2010. D. O. U. 05/43/10 Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010

BROWN, J. F. (1993). Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells. **American Journal of Physiology** , 418-422.

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

BRZOZOWSLI, 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 on nitric oxide and lipoxins. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 59, p. 89-102, 2008.

BULUT, R.; UNLUCERCI, Y.; BEKPINAR, S.; KUNTSAL, L. Nitric oxide-mediated regulation of gastric H⁺ , K⁺ -ATPase and alcohol dehydrogenase following ethanolinduced injury in rats. **Dig. Dis. Sci.**, v. 7, p. 1417-22, 1999.

BULUT, M. et al. Medical experience of a university hospital in Turkey after the 1999 Marmara earthquake. **Emergency medicine journal**, v. 22, n. 7, p. 494-498, 2005.

CALDAS FILHO, M. R. D. et al. Avaliação da atividade gastroprotetora de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek (Celastraceae). 2013.

CARVALHO A, NUNUES D, BARATELLI T, SHUQAIR N, NETTO E. Aspectos da legislação no controle de medicamentos fitoterápicos. **T & C Amazônia**. 2007;05(11):26-32.

CARVALHO, W. A. Antiinflamatórios Não Esteroides, Analgésicos, Antipiréticos e Drogas Utilizadas na Tratamento da Gota. In: SILVA, Penildo. *Farmacologia*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap. 45, p. 439-466

CARVALHO, M.M.C.M. **Úlcera péptica: Etiopatogenia, diagnóstico, aspecto clínicos e tratamento**. 2013 74f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2013.

CARLI, D. M.; PIRES, R. C.; ROHDE, S. L.; KAVALCO, C. M.; FAGUNDES, R. B. **Peptic ulcer frequency differences related to *H. Pylori* or AINES**. *Arq. Gastroent.* v. 52, p.46-49, 2015.

CENTRY, A. H. In: *Human Medicinal Agents from Plants*; KINGHORN, A. D.; BALANDRIN, M. F., eds.; American Chemical Society-ACS Symposium Series 534: Washington - DC., 1993 p. 13-24.

CHANDRANATH, S. I.; BASTAKI, S. M. A.; SINGH, J. A Comparative Study On The Activity Of Lansoprazole, Omeprazole And PD-136450 On Acidified Ethanol-And Indomethacin-Induced Gastric Lesions In The Rat. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, n. 3, p. 173-180, 2002.

DINIZ, P. B. F.; RIBEIRO, A. R. S.; ESTEVAM, C. S.; BANI, C. C.; THOMAZZI, S. M. Possible mechanisms of action of *Caesalpinia pyramidalis* against ethanol-induced gastric damage. **J. Ethnopharmacol.** v. 168. p. 79-86. 2015.

DUSSE, L. M. S. A., VIEIRA, L. M., & CARVALHO, M. D. G. Revisão sobre óxido nítrico. **J Bras Patol Med Lab**, v. 39, n. 4, p. 435-50, 2003.

EL MESALLAMY, H. O., EL-DEMERDASH, E., HAMMAD, L. N., & EL MAGDOUB, H. M.L. Effect of taurine supplementation on hyperhomocysteinemia and markers of oxidative stress in high fructose diet induced insulin resistance. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 2, n. 1, p. 46, 2010.

FAVIER L.S., MARÍA A.O.M., WENDEL, G.H., “Anti-ulcerogenic activity of xanthanolide sesquiterpenes from *Xanthium cavanillesii* in rats,” **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 100, pp. 260-267, 2005.

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

FERNANDES, H. B.; SILVA, F. V.; PASSOS, F. F. B.; BEZERRA, R. D. S.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biol Res**. v. 43. p. 451-457. 2010.

FOX, R. K.; MUNIRAJ, T. Pharmacologic Therapies in Gastrointestinal Diseases. *Med. Clin. Of North America*. v. 100, p.827-850, 2016. (gastroproteção).

FRY, C. Secretions of the salivary glands and stomach. **Basic Science**, v. 27, p. 503-506, 2009.

FURST, D. E.; ULRICH, Robert W. Fármacos antiinflamatórios não esteroides, fármacos anti-reumáticos modificadores da doença, analgésicos não-opioides e fármacos usados. In: KATZUNG, Bertram G. *Farmacologia Básica e Clínica*. 10 ed. São Paulo: AMGH, 2010. Cap. 36, p. 515-524.

GANESAN, A. The impact of natural products upon modern drug Discovery. **Curr.Opin. Chem Biol.**, v. 12, p. 306-317, 2008.

GYIRES, K.; TOTH, V.E.; ZADORI. Gastric mucosal protection: from the periphery to the central nervous system. **Journal Of Phys. And Pharm.** v. 66, p.319-329, 2015.

GOO, T.; AKIBA, Y.; KAUNITZ, J. D. Mechanisms of intragastric pH sensing. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v. 12, p. 465-470, 2010.

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. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 284, p. G638-G64, 2003.

GURBUS, I., AKYUZ, C., YESILADA, E., SENER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Mormodica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **J. Ethnopharmacol.** 71: 77-82, 2000.

GYIRES, K.; TOTH, V. E.; ZADORI, Z. S. Gastric mucosal protection: from the periphery to the central nervous system. **J Physiol Pharmacol**, v. 66, n. 3, p. 319-329, 2015.

HAWKEY C.J., "Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy," **Gastroenterology**, vol. 119, pp. 521–535, 2000.

HOLZER, P.; LIPPE, I. T. Stimulation of afferent nerve endings by intragastric capsaicin protects against ethanol-induced damage of gastric mucosa. **Neuroscience**, v. 27, p. 981-987, 1988.

JAIN, K.S.; SHAH, A.K.; BAKIWAL, 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 and Medicinal Chemistry**; v.15, p.1181-1205, 2007.

KAPLAN, K.A.; ODABASOGLU, F.; HALICI, Z.; HALICI, M.; CADIRCI, E.; ATALAY, F.AYDIN, O.; CAKIR,A. Alpha-lipoic acid protects against indomethacin-induced gastric oxidative toxicity by modulating antioxidant system. **J Food Scie**, v.77, p. H224-H230, 2012.

KAWANO, S., TSUJI, S. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **J. Gastroenterol. Hepatol.** 15: D1-6, 2000

KAHYAL, M., EL-GHAZALY, M., KENAWY, S., SEIF-EL-NASR, M.,MAHRAN, L. KAFAFI, Y., OKPANYI, S. Antiulcerogenic effect of some gastrointestinally acting plant extract and their combination. **Arzneimforsch.** 51: suppl7 545-553, 2001.

KANGWAN, N.; PARK, J. M.; KIM, E. H. e HAHM, K. B. Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression. **World J. Gastrointest. Pathophysiol.** v. 5, n. 1, p. 40-47, 2014.

KIM, S.F. The nitric oxide-mediated regulation of prostaglandin signaling in medicine. **Vitam Horm**, v. 96, p.211-245, 2014.

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

LAPA, A. J. et al. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. **Farmacognosia da planta ao medicamento. Florianópolis: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina**, p. 181-196, 1999.

LAPA, A. J. SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMA, M. T. Métodos de avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais. **Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, 2001, p. 551-52.

LANAS, A Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research e Therapy**.; v. 10, 2008.

LEWIS, D. A.; HANSON, P. J. 4 anti-ulcer drugs of plant origin. **Progress in medicinal chemistry**, v. 28, p. 201-231, 1991.

LICHTENBERGER, Lenard M. et al. 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, n. 11, p. 1421-1428, 2006.

MACMICKING, J., XIE, Q. W., & NATHAN, C. Nitric oxide and macrophage function. **Annual review of immunology**, v. 15, n. 1, p. 323-350, 1997.

MAGIEROWSKI, M.; MAGIEROWSKA, K.; KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T. Gaseous Mediators Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in the Mechanism of Gastrointestinal Integrity, Protection and Ulcer Healing. **Molecules**. v. 20, p.9099- 9123, 2015a.

MAJUMDAR, D.; BEBB, J.; ATHERTON, J. Helicobacter pylori infection and peptic ulcers. **Medicine**, v. 39, n. 3, p. 154-161, 2011.

Maity B., Chattopadhyay S., “Natural antiulcerogenic agents: an overview,” **Current Bioactive Compounds**, vol. 4, pp. 225-244, 2008.

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

Mucosa: An Overview. *Current Gastroenterology Reports*. v. 17, p.17-24, 2015.

MALFERTHEINER, P. *et al.* Peptic ulcer disease. *Lancet* [S.I.], v. 374, n. 9699, p. 1449-1461, Oct 2009.

MUSUMBA, C; PRITCHARD.; PIRMDHAMED, M. Review aarticle: cellular and molecular mecanismos of NSAID- induced peptic ulcers. **Aliment Pharm Therap.**; v. 30, p. 517-531, 2009.

NAJM, W. I. Peptic Ulcer Disease. Primary Care: Clinics in Office Practice, v. 38, p.383-394, 2011.(gastroproteção)

NETTER, F. H.. Atlas de Anatomia Humana. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

OLBE, L; CARLSSON, E; LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature reviews drug discovery**, v. 2, n. 2, p. 132, 2003.

OLIVEIRA, A. F. DE; CARVALHO, J. R. DE; COSTA, M. DE F. DOS S.; LOBATO, L.C. DA P.; SILVA, R. S. DA; SCHRAMM, J. M. DE A. Estimativa da prevalência e da mortalidade por complicações da úlcera péptica, Brasil, 2008: uma proposta metodológica. *Epidemiol. Serv. Saúde*, v. 24, p. 45-154, 2015.(gastroproteção)

PECKENPAUGH, Nancy J.; POLEMAN, Charlotte M. **Nutrição: essência e dietoterapia**. Roca, 1997.

PERRINO, B. A. Regulation of gastrointestinal motility by Ca^{2+} /calmodulin-stimulated protein kinaseII. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 510, p. 174-181, 2011.

PERTINO M., RODRÍGUEZ J.A., THEODULOZ C., RAZMILIC I., SCHMEDA-HIRSCHMANN G., “Gastroprotective activity and cytotoxic effect of cyperenoic acid derivatives,” **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, vol. 58, pp. 1507-1513, 2006.

RABELO, A. S; OLIVEIRA, I.D.; GUIMARAES, A. G.; QUITANS, J.S.S.; PRATA, A. P. N.; GELAIN, D. P.; VENCESLAU, E. M.; SANTOS, J. P. A.; QUINTANS-JUNIOR, L.J.; BONJARDIM, L. R.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; SANTOS, A. D. C; NOGUEIRA, P.C.L.; COSTA, E.V.; MORAES, V.R.S.; ARAÚJO, A. A. S antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extract from *Remirea maritima* (Cyperaceae). **J. Ethnopharmacol.**, v. 145, p. 11-17, 2013.

RADONNSKI, Marek VV; MONCADA, Salvador. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. 1993.

RAMSAY; CARR, A. Gastric acid and digestive physiology. **Surg. Clin. N. Am.**, v.91, p. 977-982, 2011.

RIBEIRO. A. R. S. **Efeito Gastroprotetor do Extrato Etanólico da Entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis* Tul em ratos**. 2013. Dissertação (Programa de p=os-graduação em Ciências Fisiológica) Universidade Federal de Sergipe, 2013.

SANTOS, S.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto alegre: editora da UFRGs, 2010. Cap. 24, p. 615-656.

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

SCHUBERT, M. Gastric acid secretion. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 32, p. 452–460, 2016. (ANA)

RIBEIRO, A. R. S.; DINIZ, P. B. F.; ESTEVAM, C. S.; PINHEIRO, M. S.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; THOMAZZI, S. M. Gastroprotective activity of the ethanol extract from the inner bark of *Caesalpinia pyramidalis* in rats. **J. Ethnopharmacol.** v. 147. p. 382-388. 2013.

REPETTO, M.G., LLESUY, S.L. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 35: 523-534, 2002.

SALIM, A. S. Sulphydryl-containing agents: a new approach to the problem of refractory peptic ulceration. **Pharmacology**, 45(6): 301-306, 1992.

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. **J. Ethnopharmacol.** 97: 1-6, 2005.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2010. Cap. 27, p. 711- 740.

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

SCHUBERT, M.L. Gastric. **Curr.Opin. Gastroenterol.**, v. 27,p. 536-542, 2011.

SCHUBERT, M.L. Gastric secretion. **Curr.Opin. Gastroenterol.**, v. 23 ,p. 595-601, 2017.

SCARPIGNATO, Carmelo; PELOSINI, Iva. Experimental and clinical pharmacology of rifaximin, a gastrointestinal selective antibiotic. **Digestion**, v. 73, n. Suppl. 1, p. 13-27, 2006. SULEYMAN, Halis et al. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. **Inflammation**, v. 33, n. 4, p. 224-234, 2010.

SZABO, S."Gastric cytoprotection" is still relevant. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 29, p.124-132, 2014.

- SILVA, M. S.; ALMEIDA, A. C. A.; FARIA, F. M.; LUIZ-FERREIRA, A.; SILVA, M. A.; VILEGAS, W.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R.M. S. Abarema cochliacarpus: Gastroprotective and ulcer-healing activities. **J. Ethnopharmacol.** v. 132. p. 134-142. 2010.
- SILVA, M. S.; ALMEIDA, A. C. A.; FARIA, F. M.; LUIZ-FERREIRA, A.; SILVA, M. A.; VILEGAS, W.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R.M. S. Abarema cochliacarpus: Gastroprotective and ulcer-healing activities. **J. Ethnopharmacol.** v. 132. p. 134-142. 2010.
- SILVA, N. C., ESQUIBEL, M. A., ALVES, I. M., VELOZO, E. S., ALMEIDA, M. Z., SANTOS, J. E., ... & CECINEL-FILHO, V. (2009). **Antinociceptive effects of Abarema cochliacarpus** (BA Gomes) Barneby & JW Grimes (Mimosaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1A), 46-50.
- SUNG, J. J. Y.; KUIPERS, E. J.; EL-SERAG, H. B. Systematic review: the global incidence and prevalence of peptic ulcer disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 29, n. 9, p. 938-946, 2009.
- TAKEUCHI, K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E₂ and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. **J Physiol Pharmacol**, v. 65, p. 3-14, 2011.
- TARNAWSKI A., "Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing," **Digestive Diseases and Sciences**, vol. 1, pp. S24-33, 2005.
- TARNAWSKI, A. S. Cellular and Molecular Mechanisms of Gastrointestinal. Ulcer Healing. **Dig. Dis. Sci.** v. 50, Supl. 1, , p. S24-S33, 2005.
- TARIQ, M.; ELFAKI, I.; KHAN, H.A.; ARSHADUDDIN, M.; SOBKI, S.; AL MOUTAERY, M. Bromophenacyl bromide, a phospholipase A2 inhibitor attenuates chemically induced gastroduodenal ulcers in rats. **World Journal of Gastroenterology**, 12(36): 5798-5804, 2006.
- TULASSAY, Z.; HERSZÉNYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotective. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 24, p.99-108, 2010.
- VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. **Inflammation Research**, v. 47, n. 2, p. 78-87, 1998.
- YUAN, Y.; PADOL, I. T.; HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**. 3: 80-89, 2006.
- WALLACE, J. L., & MILLER, M. J. (2001). Inflammatory mediators in gastrointestinal defense e injury. **Experimental Biology and Medicine** 226 , 1003- 1115.
- WALLACE, J.L. Cooperative modulation of gastrointestinal mucosal defence by prostaglandins and nitric oxide. **Clin Invest Med**, v. 19, p. 346-351, 1996.
- WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? **Physiol. Rev.**, v. 88, p. 1547-1565, 2008.

YANDRAPU, H.; SAROSIEK, J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. Ed. Porto alegre: editora da UFRGs, 2010. Cap. 23, p. 577-614.

ANEXO

Anexo 1: Certificado de submissão ao Comitê de Ética no Uso em Animal- CEUA/UNIFAP.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITE DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

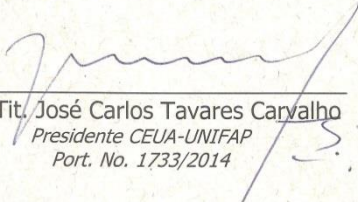
CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na reunião de 27 de maio de 2015, o parecer referente ao protocolo no. **006/2015** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado "**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO METANÓLICO DE *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Pracaxi)**" coordenado por **Alessandra Azevedo do Nascimento**, está de acordo com os princípios de ética e bem estar animal.

CERTIFICATE

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 27 May 2015, the final decision about the Protocol **006/2015** and certify that the research project entitled "**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO METANÓLICO DE *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Pracaxi)**" coordinated by **Alessandra Azevedo do Nascimento**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 27 de maio de 2015


Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Presidente CEUA-UNIFAP
Port. No. 1733/2014

Universidade Federal do Amapá
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNIFAP
Rod. Juscelino Juscelino Kubitschek, km 02 – Campus Marco Zero,
Macapá - AP, 68903-419 email: farmacos@unifap.br
Fone (96)4009-2907