

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
NUCLEO DE PESQUISAS DE PLANTAS MEDICINAIS
(PROFESSOR PAULO HUMBERTO MOREIRA NUNES)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Sterculia striata*
A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) SOBRE O TRATO
GASTRINTESTINAL DE RATOS E CAMUNDONGOS**

JOUBERT AIRES DE SOUSA

**TERESINA
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

JOUBERT AIRES DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Sterculia striata*
A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) SOBRE O TRATO
GASTRINTESTINAL DE RATOS E CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Farmacologia
do Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal do Piauí, como
requisito parcial para obtenção de
título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira UFPI/CCS/NPPM

**TERESINA
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

S725p Sousa, Joubert Aires de.
Avaliação da atividade farmacológica de *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) sobre o trato gastrointestinal de ratos e camundongos [manuscrito] / Joubert Aires de Sousa. – 2009.
92 f.

Cópia de computador (printout).
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Mestrado em Farmacologia de Produtos Naturais, 2009.
“Orientação: Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira”.

1. Farmacologia. 2. Farmacoterapia. 3. Fitoterapia.
4. Gastroenterologia. 5. *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin.
6. Úlceras – Tratamento. I. Título.

JOUBERT AIRES DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Sterculia striata*
A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) SOBRE O TRATO
GASTRINTESTINAL DE RATOS E CAMUNDONGOS**

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca setorial da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que realizada de acordo com as normas da ética científica.

Data da aprovação: 28 de maio de 2009

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira UFPI/CCS/NPPM
(Orientador)
Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira
DCR/CNPq/FAPEPI/NPPM
Universidade Federal do Piauí

AGRADECIMENTOS

Nenhuma obra é fruto do trabalho individual. Por isso sou agradecido aos coautores que deste participaram, pois sem estes, este trabalho não se tornaria realidade.

Meus sinceros agradecimentos...

...à **Deus**, pois, sem sua ajuda, nada teria sido possível;

...à minha família, pela confiança e pelo apoio;

À minha orientadora, Profa. Dra. **Rita de Cássia Meneses Oliveira**, por todo o apoio e confiança.

À Prof. Dra. **Mariana Helena Chaves**, pelo fornecimento do extrato da planta estudada.

À Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia pela formação acadêmica e oportunidade, em especial aos professores do programa.

Ao Núcleo de Pesquisas de Plantas Medicinais Prof. Paulo Humberto Moreira Nunes, pela oportunidade e disponibilização da estrutura.

Aos colegas mestrandos pela acolhida.

A todos os bolsistas de iniciação científica, funcionários e mestrandos do Núcleo de Pesquisas de Plantas Medicinais da UFPI, pela inestimável ajuda.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. <i>Sterculia striata</i> A. St. Hil. & Naudin	21
1.1.1. CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS da <i>Sterculia striata</i> A. St. Hil. & Naudin.....	23
1.2-FISIOPATOLOGIA DO TRATO GASTRINTESTINAL.....	26
1.2.1 Secreção Ácida Gástrica.....	27
1.2.1.1 Mecanismos centrais da secreção gástrica.....	28
1.2.1.2 Mecanismos periféricos.....	28
1.2.1.2 a Estimulantes da Secreção Gástrica.....	28
1.2.1.2 b Inibidores da Secreção Gástrica.....	30
1.2.1.3 Mecanismo intracelular da Secreção Gástrica	31
1.2.2 Fatores relacionados à proteção e/ou agressão da mucosa gástrica.....	32
1.2.3. Gastrite e Úlcera Péptica	40
2. OBJETIVO	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1. MATERIAL.....	42
3.1.1. Animais utilizados.....	42
3.1.2. Coleta da planta e obtenção de extrato etanólico de <i>Sterculia striata</i> St. Hil. & Naudin (Malvaceae).....	42
3.1.3. Drogas e Reagentes.....	43
3.1.4. Materiais e Equipamentos Laboratoriais.....	44
3.2. METODOLOGIA.....	45
3.2.1 TOXICIDADE AGUDA.....	45
3.2.1.1.Determinação da Toxicidade aguda em camundongos.....	45
3.2.1.2. Determinação da Atividade hemolítica em eritrócitos de rato.....	45
3.2.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA.....	46
3.2.2.1. Úlcera induzida por etanol.....	46
3.2.2.2. Úlcera gástrica induzida por etanol acidificado.....	46
3.2.2.3. Isquemia e reperusão.....	47

3.2.2.4. Avaliação da atividade antioxidante.....	47
a - Determinação da glutathiona reduzida.....	48
b - Atividade da catalase.....	48
3.2.2.5. Participação da via óxido nítrico sintase (NOS) na citoproteção gástrica.....	48
3.2.2.6.Úlcera induzida por Indometacina.....	49
3.2.2.7. Estudo da secreção gástrica por ligadura de piloro em ratos.....	50
3.2.3. Estudo da motilidade intestinal, utilizando o modelo do transito intestinal e sobre a diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos.....	50
3.2.4. Análise Estatística	51

4. RESULTADOS 52

4.1. TOXICIDADE AGUDA.....	52
4.1.1. Toxidade aguda em camundongos	52
4.1.2. Determinação da citotoxicidade do extrato etanólico de <i>Sterculia striata</i> em eritrócitos de ratos.....	54
4.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA.....	55
4.2.1. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos machos.....	55
4.2.2 Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> em úlcera induzida por etanol acidificado em camundongos machos.....	56
4.2.3. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> sobre úlceras formadas após Isquemia e Reperfusão em ratos machos.....	57
4.2.4. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> sobre a atividade das enzimas antioxidantes da mucosa gástrica no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos machos.....	58
4.2.5. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> sobre úlceras induzidas por administração de L-NAME, seguida de etanol, em ratos machos.....	60
4.2.6. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> em úlcera induzida por indometacina em camundongos machos.....	61

4.2.7. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> sobre a secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos.....	62
4.3. Avaliação da Atividade sobre a Motilidade Gastrintestinal.....	64
4.3.1 Efeito do extrato etanólico da casca <i>Sterculia striata</i> sobre o trânsito intestinal em camundongos.....	64
4.3.2. Efeito do extrato etanólico da casca de <i>Sterculia striata</i> sobre a diarreia induzida pelo óleo de rícino (0,1 ml/10 g - vo) em camundongos.....	65
5.DISSCUSSÃO	66
6.CONCLUSÃO	78
7. PERSPECTIVAS	79
8.REFERÊNCIAS	80

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DE *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) SOBRE O TRATO GASTRINTESTINAL DE RATOS E CAMUNDONGOS. Autor: Joubert Aires de Sousa. Orientador (a): Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Núcleo de Pesquisa de Plantas Medicinais. Universidade Federal do Piauí, 2009.

A *Sterculia striata* conhecida popularmente por Chichá, possui nas cascas do caule, triterpenos, onde o composto majoritário, lupeol, possui em sua estrutura química hidroxila no carbono 3 o que sugere ação gastroprotetora ao composto. Assim este estudo investigou os efeitos do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* A.St. Hil. & Naudin em modelos experimentais de úlcera induzida por etanol, etanol acidificado e indometacina em camundongos, e modelos de isquemia seguido de reperfusão e de piloro ligado, em ratos. Também foi verificado, a participação da via óxido nítrico sintase no efeito do extrato, a atividade do GSH e da catalase gástrica no efeito antioxidante, além dos efeitos do extrato em modelos de trânsito intestinal e diarreia induzida por óleo de rícino. Os efeitos do extrato foram comparados com ranitida 50 mg/kg, carbenoxolona 100 mg/kg, N-acetilcisteína 750 mg/kg, cimetidina 100 mg/kg e L-NAME 20 mg/kg nos modelos de indução de úlcera, já nos modelos de motilidade in vivo, os efeitos foram comparados à atropina 5 mg/kg, morfina 2 mg/kg e loperamida 2 mg/kg. Ss-EtOH administrado por via oral obteve inibição das lesões gástricas induzidas por etanol (doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg promoveram redução da área de lesão de $20,5 \pm 1,13 \text{ mm}^2$ no veículo para $10,4 \pm 1,95$; $5,8 \pm 0,92$ e $12,1 \pm 0,87 \text{ mm}^2$ respectivamente), etanol acidificado (doses de 25 e 50 mg/kg promoveram redução significativa da área de lesão da mucosa gástrica de $28,9 \pm 1,9 \text{ mm}^2$ no veículo para $12,6 \pm 2,75$ e $17,4 \pm 1,74 \text{ mm}^2$ respectivamente), e isquemia seguida de reperfusão (doses de 12,5 mg/Kg, 25 mg/Kg e 50 mg/Kg, promoveram redução da área de lesão de $33,03 \pm 2,9 \text{ mm}^2$ no veículo para $17,8 \pm 4,9$; $13,9 \pm 3,3$ e $18,9 \pm 3,4 \text{ mm}^2$, respectivamente). Os componentes majoritários detectados em análises

fitoquímicas segundo estudos anteriores foram esteróides e triterpenos. Este estudo fornece evidências que Ss-EtOH possui efeito antiulcerogênico, com possível ação antioxidante, que é relatada com a diminuição das lesões nos modelos de úlcera e aumento da atividade do GSH (nas doses de 25 e 50 mg/kg elevou-se respectivamente de $227,1 \pm 38,8$ no veículo para $568,09 \pm 62,6$ e $705,6 \pm 155,0$) e da catalase (nas doses de 25 e 50 mg/kg elevou-se respectivamente para $1,70 \pm 0,15$ e $1,63 \pm 0,09$, em relação ao veículo ($0,94 \pm 0,07$)). Sugere-se ainda o envolvimento da via óxido nítrico sintase, no efeito do extrato, pois o Ss-EtOH 25 mg/kg reduziu a área de lesão da mucosa gástrica de $29,0 \pm 1,8$ no veículo para $5,8 \pm 0,9 \text{ mm}^2$, sendo que quando o L-NAME 20 mg/kg foi administrado sozinho i.p. aumentou a área de lesão para $50,4 \pm 6,2$ e reduziu para $35,48 \pm 4,3 \text{ mm}^2$, quando administrado seguido de Ss-EtOH 25 mg/kg, tendo um desempenho parecido a administração i.p. da L-arginina 600 mg/kg sozinha e em associação com o L-NAME 20 mg/kg .Também o extrato inibiu de modo significativo o trânsito intestinal, embora que em situações de trânsito induzido por óleo de rícino, modelo de diarreia, não teve efeito inibitório do trânsito intestinal.

Palavras-chave: *Sterculia striata*, efeito gastroprotetor, úlcera gástrica, secreção ácida gástrica

ABSTRACT

ASSESSMENT OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF SHELL OF *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae) on the gastrointestinal tract of rats and mice. Author: Joubert Aires de Sousa. Supervisor (a): Prof.. Dr. Rita de Cássia Meneses Oliveira. Dissertação de Mestrado. Post-Graduate Program in Pharmacology. Research Center of Medicinal Plants. Federal University of Piauí, 2009.

The *Sterculia striata* known popularly by Chichá, has the bark of the stem, triterpenes, where the majority compound, lupeol, has in its chemical structure in the carbon 3 hydroxyl which suggests action gastroprotetora the compound. Thus this study investigated the effects of ethanol extract of the bark of *Sterculia striata* A.St. Hil. & Naudin in experimental models of ulcer induced by ethanol, indomethacin and acidified ethanol in mice, and models of ischemia followed by reperfusion and pylorus on, in rats. It was also verified, through the participation of nitric oxide synthase in the effect of the extract, the activity of GSH and catalase in gastric antioxidant effects than the effects of the extract in models of intestinal transit and diarrhea induced by castor oil. The effects of the extract were compared with ranitida 50 mg/kg, carbenoxolone 100 mg/kg, N-acetylcysteine 750 mg/kg, cimetidine 100 mg/kg and L-NAME 20 mg/kg in models of induced ulcers, since the models motility in vivo, the effects were compared to atropine 5 mg/kg, morphine 2 mg/kg and loperamide 2 mg/kg. Ss-EtOH administered orally obtained inhibition of gastric lesions induced by ethanol (doses of 12.5, 25 and 50 mg/kg promoted the reduction of lesion area of $20.5 \pm 1.13 \text{ mm}^2$ in vehicle to $10.4 \pm 1, 95, 5.8 \pm 0.92$ and $12.1 \pm 0.87 \text{ mm}^2$, respectively), acidified ethanol (doses of 25 and 50 mg/kg promoted a significant reduction in lesion area of the gastric mucosa of $28.9 \pm 1, 9 \text{ mm}^2$ in vehicle to 12.6 ± 2.75 and $17.4 \pm 1.74 \text{ mm}^2$, respectively), and ischemia followed by reperfusion (doses of 12.5 mg/kg, 25 mg/kg and 50 mg/kg, promoted reduction in the area of injury from $33.03 \pm 2.9 \text{ mm}^2$ in vehicle to $17.8 \pm 4.9, 13.9 \pm 3.3$ and $18.9 \pm 3.4 \text{ mm}^2$, respectively). The major components

detected in phytochemical analysis seconds earlier studies were steroids and triterpenes. This study provides evidence that Ss-EtOH has effect antiulcerogênico with possible antioxidant action, which is reported to the decrease of lesions in models of ulcer and increasing the activity of GSH (in doses of 25 and 50 mg/kg increased up to 227.1 ± 38.8 respectively in the vehicle to 568.09 ± 62.6 and 705.6 ± 155.0) and catalase (at doses of 25 and 50 mg/kg are respectively increased to 1.70 ± 0.15 and 1.63 ± 0.09 in the vehicle (0.94 ± 0.07)). We suggest that the involvement of nitric oxide synthase pathway, the effect of the extract, as the SS-EtOH 25 mg / kg reduced the lesion area of the gastric mucosa of 29.0 ± 1.8 in vehicle to 5.8 ± 0.9 mm², whereas when L-NAME 20 mg / kg was administered ip alone increased the area of injury to 50.4 ± 6.2 and decreased to 35.48 ± 4.3 mm², when administered followed by Ss-EtOH 25 mg/kg, with a performance similar to ip administration of L-arginine 600 mg/kg alone and in combination with L-NAME 20 mg/kg. Also the extract significantly inhibited the intestinal transit, but that in cases of transit induced by castor oil, type of diarrhea, not had an inhibitory effect of intestinal transit.

Keywords: *Sterculia striata*, effect gastroprotetor, gastric ulcers, acid gastric secretion

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin

Figura 2: Esteróides (sitosterol(1) estigmasterol (2)) e triterpenos (lupeol (3) e ácido betulínico (4)).

Figura 3: Reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase (A), catalase (B) e glutathione peroxidase (C).

Figura 4: Regulação da função gastrointestinal pelo nervo nitrérgico.

Figura 5: Obtenção do extrato etanólico bruto de *Sterculia striata*

Figura 6: Efeito hemolítico em eritrócitos de rato incubados com extrato etanólico da casca de *Sterculia striata*.

Figura 7: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos .

Figura 8: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol acidificado em camundongos.

Figura 9: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* em úlceras induzidas por isquemia seguida de reperfusão em ratos.

Figura 10: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre os níveis de GSH no estômago de camundongos

Figura 11: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre a atividade da catalase no estômago de camundongos.

Figura 12: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre úlceras induzidas pela administração de L-NAME, seguida por etanol, em ratos.

Figura 13: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* em úlcera induzida por indometacina em camundongos.

Figura 14: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre o pH da secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos.

Figura 15: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre a acidez total da secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos.

Figura 16: Efeito do extrato etanólico da casca da casca de *Sterculia striata* sobre o volume da secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos.

Figura 17: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* 12,5mg/kg, 25mg/kg e 50mg/kg; do veículo (água+tween, 0,1 ml/10g - vo); da atropina (5mg/kg - vo) e morfina 2mg/kg(sc)-sobre o trânsito intestinal em camundongos .

Figura 18: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata*, do veículo (água+Tween, 0,1 ml/10 g - vo) e da loperamida (5,0 mg/kg - vo), sobre a diarreia induzida pelo óleo de rícino (0,1 ml/10 g - vo) em camundongos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Toxicidade aguda do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* (Ss-EtOH), na dose de 500 mg/kg e 2 g/kg, via oral, e de 500 mg/kg e 1000 mg/kg, via intraperitoneal

LISTA DE ABREVIATURAS

A₂- Receptor de adenosina

ACh - Acetilcolina

ADP- Adenosina difosfato

AINE(s) – Antiinflamatórios não esteroidais

AMP- Adenosina monofosfato

AMPc - Adenosina monofosfato cíclica

APG- Angiosperm Phylogeny Group

ATC – Ácido tricloroacético

ATP – Adenosina 5-trifosfato

ATPase- Adenosina trifosfatase

CaCl₂- Cloreto de cálcio

CCK- Colecistocinina

CCK₁ – Receptor de colecistocinina tipo 1

CCK₂– Receptor de colecistocinina tipo 2

CCKB – Receptor de colecistocinina do tipo B

CDNB – 1-cloro 2,4-dinitrobenzeno

CGRP- Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

COX – Enzima ciclooxygenase

COX-1 – Enzima ciclooxygenase do tipo 1

COX-2 – Enzima ciclooxygenase do tipo 2

CO₂–Dióxido de Carbono

DL₅₀ – Dose letal 50

DNA- Ácido desoxiribonucleico

DTNB – 5,5'-ditiobis 2-ácido nitrobenzóico

ECL – Célula do tipo enterocromafin

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

EGF – Fator de crescimento epidermal

eNOS– Óxido nítrico sintase endotelial

EP– Receptor de prostaglandina E

EROs – Espécies reativas de oxigênio

GC– Guanilato ciclase

Gi – Proteína G inibitória

GMPc – Guanilato monofosfato cíclico

GPx – Glutathione peroxidase

GR- Glutathione reductase

GSSG- Glutathione oxidada

GSH – Glutathione reduzida

GST – Glutathione S-transferase

H₂ – Receptor de histamina do tipo 2

HA- Histamina

HCl- Ácido clorídrico

H⁺/K⁺-ATPase – Enzima H⁺/K⁺-adenosina trifosfato

HNE- Hidroxinoneal

IL1-B- Interleucina 1-Beta

iNOS - Óxido nítrico sintase induzível

IP₃ – Inositol 1,4,5-trifosfato

L-NAME- N-nitro-L-arginina metil éster

LT-Leucotrienos

M₁ – Receptor muscarínico do tipo 1

M₃ – Receptor muscarínico do tipo 3

MDA - Malondialdeído

NAC - N-Acetilcisteína

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NMDA- N-metil D-aspartato

NO – Óxido nítrico

NOS – Óxido nítrico sintase

nNOS- Óxido nítrico sintase neuronal

PACAP- Ativador de adenilato ciclase pituitário

PAF- Fator de agregação plaquetária

PAR- Receptor ativado por protease

PG(s) – Prostaglandina(s)

PGE₁- Prostaglandina E₁

PGE₂- Prostaglandina E₂

PGH₂ – Prostaglandina do tipo H₂

PGI₂- Prostaciclina

pH – Potencial hidrogeniônico

PKA – Proteína quinase A

PKC – Proteína quinase C

SH-Grupamento sulfidrílico

SNC – Sistema nervoso central

SSTR- Receptor de Somatostatina

SSTR₁- Receptor de Somatostatina tipo 1

SSTR₅- Receptor de Somatostatina tipo 5

TGI – Trato gastrintestinal

TNB- Íon tiobenzoato

TNF-alfa- Fator de Necrose Tumoral alfa

VR₁–Receptores vanilóides tipo 1

XD- Xantina desidrogenase

XO- Xantina oxidase

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como fonte de produtos terapêuticos acompanha a história da humanidade e, apesar do enorme desenvolvimento da síntese química atualmente, 25% das drogas prescritas no mundo são de origem vegetal. Entre 2001 e 2002 quase um quarto dos fármacos mais vendidos no mundo eram obtidos diretamente ou derivados de fontes naturais (BALUNAS & KINGHORN, 2005). Nos últimos anos, os produtos naturais têm contribuído imensamente para o desenvolvimento de fármacos de importância terapêutica usados correntemente na medicina convencional, demonstrando o importante papel dos produtos naturais na descoberta de fármacos relacionados a todos os tipos de doenças (CALIXTO, 2005).

Plantas medicinais utilizadas como recurso terapêutico é uma tendência generalizada na medicina popular brasileira, sendo que diversos fatores têm impulsionado a busca de novas drogas de origem vegetal: a descoberta de drogas eficazes para o combate ao câncer; estudos sobre a biodiversidade e a preservação das espécies; falta de acesso da maioria da população aos medicamentos modernos, fazendo com que vias alternativas mais baratas sejam oferecidas (CALIXTO, 2005). Por outro lado, a falta de informação e o mau uso dessas plantas geralmente provocam o aparecimento de reações colaterais graves ou então o insucesso do tratamento, causando descrença na sua eficácia. A falsa crença na absoluta segurança de uso dos fitoterápicos é bastante disseminada. Há uma tendência em acreditar que tudo o que existe na natureza foi feito para satisfazer as necessidades humanas, não existindo riscos em seu consumo (CARVALHO, 2001).

As plantas e os extratos vegetais continuam sendo de grande relevância na área farmacêutica, tendo em vista a utilização das substâncias ativas isoladas como protótipos para a obtenção de fármacos, para a obtenção de adjuvantes, ou ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente a base de extratos vegetais (SCHENKEL et al., 2001).

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde, isso devido à pobreza ou ao difícil acesso a medicina moderna. Entretanto, poucas plantas (menos de 10%) têm estudos científicos para validação de sua qualidade, segurança e eficácia (CALIXTO, 2005).

A América Latina possui grande parte da biodiversidade mundial, e o Brasil sozinho possui em torno de 20-22% de todas as plantas e microorganismos existentes. Entretanto, é estimado que não mais do que 25.000 espécies de plantas no mundo tem sido objeto de algum tipo de investigação científica (CALIXTO, 2005).

Ainda que o Brasil possua a mais rica biodiversidade do mundo, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (YUNES et. al., 2001).

Em contraste, ao desenvolvimento de drogas sintéticas que requerem alto custo e vários anos de pesquisa necessários para o seu desenvolvimento, a produção de fitoterápicos demanda consideravelmente menos dinheiro e mostra ser perfeitamente possível em países em desenvolvimento, como o Brasil (CALIXTO, 2000).

Entre os diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas e de importância atualmente, podemos mencionar a forskolina, obtida de *Coleus barbatus*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores, a artemisinina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica, e o diterpeno anticancerígeno taxol, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que após sua síntese em escala industrial, já se encontra disponível no mercado farmacêutico, constituindo-se numa grande esperança para pessoas portadoras de câncer nos ovários e pulmões (YUNES, 1998).

Várias plantas conhecidas da flora brasileira têm atividade no trato gastrointestinal (TGI), dentre elas, cascas das espécies vegetais *Styrax camporum* Pohl, conhecida popularmente por estoraque do campo ou cuia do brejo, *Caesalpinia ferrea* Mart. ou pau-ferro, que são há muito tempo utilizadas na

medicina popular como cicatrizantes e no tratamento de úlceras gastroduodenais, sendo comprovados seus efeitos em trabalhos experimentais com animais (BACCHI, et. al.1991); também as espécies *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira santa), demonstraram possuir atividade antiúlcera gástrica em ratos e seres humanos, utilizando-se os extratos aquosos das folhas (infusões) (YARIWAKE, et. al. 2005); muitas outras são utilizadas popularmente como, *Calendula officinalis* L. (calêndula). e *Matricaria recutita* L. (camomila), utilizadas devido às suas atividades antiinflamatória, antiúlcera gástrica e antiespasmódica (SARTORI, et. al. 2003).

Em estudos utilizando modelos de úlcera gástrica foi comprovada a atividade citoprotetora de extratos e princípios ativos obtidos do *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Luehea divaricata* Mart. (açoita cavalo), já os extratos e a cumarina obtidos da *Mikania laevigata* Spreng (guaco), exerceram efeitos antiulcerogênicos por inibição da secreção de ácido clorídrico. Plantas como a *Artemisia*, é utilizada popularmente no tratamento de distúrbios do trato digestivo, onde na espécie *Artemisia douglasiana* Besser, foram isoladas substâncias químicas do tipo, lactonas sesquiterpênicas com atividade antiulcerogênica (CARVALHO, 2006).

Os compostos obtidos de plantas com atividade antiulcerogênica apresentam estruturas químicas diversas e distintos mecanismos de ação. Dentre as principais classes de compostos relacionados a essa atividade têm-se os terpenos, triterpenos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos, saponinas e polissacarídeos (LEWIS e HANSON, 1991).

Substâncias obtidas a partir de plantas com atividade antiulcerogênica exercem seus efeitos estimulando os fatores de proteção da mucosa gástrica (aumentando a síntese de prostaglandina e/ou estimulando a secreção de muco e bicarbonato) ou inibindo a secreção ácida (LEWIS e SHAW, 2001; BORRELLI et al., 2000; BEIL et al., 1995).

Assim, a simples confirmação ou negação da presença de atividade farmacológica em plantas consideradas pela população como úteis, por exemplo, para o tratamento de distúrbios gástricos e de motilidade do trato gastrointestinal, muito contribuiria para uma aplicação mais racional, segura e econômica de suas propriedades terapêuticas, especialmente para as populações de baixa renda

(MATOS,1998). Portanto, ensaios farmacológicos e toxicológicos são necessários nestas plantas medicinais, a fim de orientar melhor seu uso, pois o conhecimento inadequado da dose, da parte empregada e das propriedades terapêuticas das plantas, pode acarretar sérios problemas ao indivíduo. Por outro lado, é de nosso interesse o desenvolvimento de novos fitofármacos ou substâncias naturais extraídas como alternativa na terapêutica atual.

No dia a dia, os produtos destinados para o tratamento de problemas gastrintestinais são muito procurados na prática da automedicação. Embora existam vários medicamentos que são bastante utilizados no tratamento de distúrbios gastrintestinais, muitas destas drogas produzem variados efeitos adversos. Os produtos derivados de plantas de uso tradicional no tratamento das doenças gastrintestinais têm mostrado resultados promissores (SCHMEDA-HIRSCHMANN e YESILADA, 2005).

1.1. *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin

Na nova classificação de Angiospermae proposta pela APG II (Angiosperm Phylogeny Group II/2003), as famílias Sterculiaceae, Tiliaceae e Bombacaceae foram recentemente reclassificadas, passando a comporem a família Malvaceae. Entre as espécies descritas, encontra-se a *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin.

A família Malvaceae é constituída por 243 gêneros e 4.225 espécies (STEVENS, 2003), onde as espécies desta família apresentam-se como ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores (BARACHO, 1998) e são amplamente distribuídas em quase todo o mundo, com exceção de regiões muito frias, ocorrendo predominantemente nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (HEYWOOD, 1993). Dentre os maiores gêneros desta família destacam-se *Hibiscus* (300 espécies), *Sida* (200), *Pavonia* (150), *Abutilon* (100), *Nototriche* (100), *Cristaria* (75) e *Gossypium* (40) (STEVENS, 2003). No Brasil, a família Malvaceae está representada por cerca de 40 gêneros e 400 espécies, distribuídas em todas as regiões do país (BARROSO et al., 1991).

Em estudos fitoquímicos desta família tem sido isolada uma variedade de metabólitos secundários como: ácidos graxos (CARMODY et al.,1945;

VICKERY, 1980), esteróides (AHMED et al., 1990; AHMED et al.,1991), monoterpenos (AMES et. al., 1990), sesquiterpenos (WILLIAMS et al., 1995; ZHANG et al., 1998; SHARMA et al., 1989), flavonóides (SILVA et al, 2005; BILLETER et al.,1991; ELLIGER, 1984), ácidos fenólicos (GAIND, 1976; AHMED et al. 1991), triterpenos (AHMED et al., 1990) e alcalóides (GUNATILAKA et al. 1980). Além destes constituintes químicos, bem difundidos na família Malvaceae, existem trabalhos que mostram o isolamento de constituintes minoritários, de classes diferentes, como algumas xantonas (CAFFERTY et al. 1996), saponinas (TIWARI et. al., 1980), naftalenos (YOO et. al. ,1998) e taninos condensados (LANE et. al. , 1981).

Sterculia L. é um gênero com distribuição em regiões tropicais e subtropicais da América, Asia, África, Australia e Filipinas, com aproximadamente 200 espécies de hábito arbóreo (MONDRAGÓN, 2005).

Algumas espécies de planta do gênero *Sterculia* destacam-se por apresentar diversos constituintes químicos de importância farmacológica, sendo que como exemplo, podemos citar, algumas atividades biológicas relatadas para a espécie *Sterculia foetida* L., onde é citada a sua ação como antiinflamatória e depressora do Sistema Nervoso Central (MUJUMDAR, et al., 2000).

Sterculia striata A.St. Hil. & Naudin é conhecida popularmente por Chichá, Pau-rei, Mendubi-guaçu, Arachachá, Chechá-do-norte e Castanheiro-do-mato. É uma árvore de grande porte, distribuída do Amazonas até o Piauí, Mato Grosso, Minas Gerais e Rio Grande do Sul e suas sementes são bastante utilizadas na alimentação humana (CORRÊA, 1984). Na literatura existem trabalhos fitoquímicos com as sementes desta espécie de planta, sendo que foi verificado nesta, a presença de ácidos graxos ciclopropenóides (CHAVES et. al., 2004).



Figura 1: *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin.(à direita detalhe do fruto, das folhas e do caule)

1.1.1. CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DA *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin

A análise fitoquímica com as cascas do caule de *S. striata* permitiu até momento o isolamento de dois esteróides e dois triterpenos. Esteróides- sitosterol **(1)** e estigmasterol **(2)** e dos triterpenos-lupeol **(3)** e ácido betulínico **(4)** (COSTA,et. al., 2007).

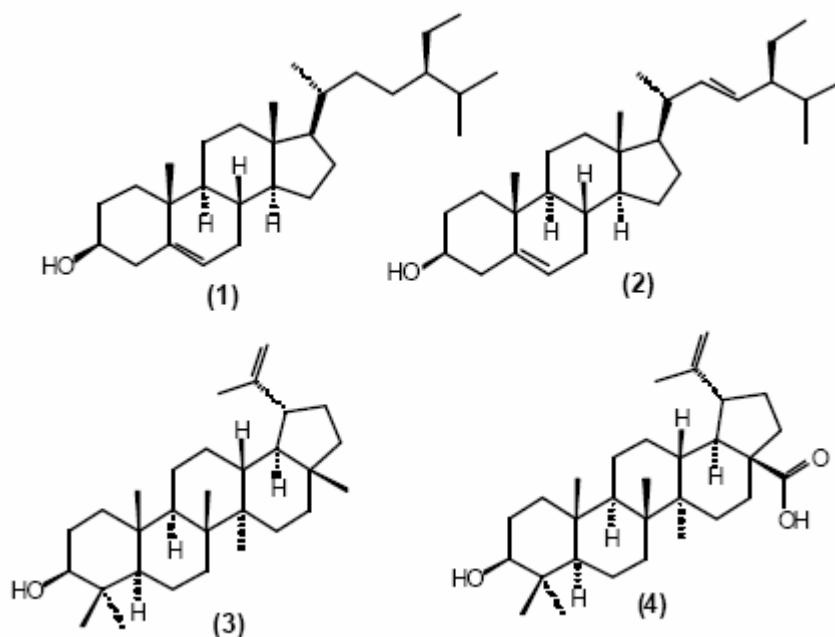


Figura 2: Esteróides- sitosterol **(1)** estigmasterol **(2)** e **triterpenos-** lupeol **(3)** e ácido betulínico **(4)**) (COSTA,et. al., 2007).

Os triterpenóides possuem bastantes propriedades medicinais, com grandes potencialidades farmacológicas, podendo agir como antiinflamatórios, antiulcerogênicos, hepatoprotetores, antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antiplasmodial, analgésicos, antitumorais, além de efeitos a nível cardiovascular, dentre outros efeitos. Os efeitos antiinflamatórios dos triterpenóides estão associados a inibição da 5-lipoxigenase e elastase leucocitária humana, assim como modulando a resposta imune e a produção de anticorpos. Alguns triterpenóides antiinflamatórios estimulam a liberação de NO, outro diminuem a expressão da iNOS, e alguns relativamente hidrofóbicos são também inibidores da PKA. Triterpenos pentacíclicos, como o lupeol e ácido betulínico, derivam do arranjo do epóxido do esqualeno, e são compostos muito encontrados em plantas (DZUBAK et. al., 2006).

Na literatura são descritos efeitos antiulcerogênicos de compostos triterpenos β - *Amirina* e α - *Amirina*, onde segundo Oliveira (2005), a resina de *Protium heptaphyllum* que é rica em triterpenos pentacíclicos do tipo α - e β -amirina, possuem atividade gastroprotetora em modelos experimentais de lesões gástricas. Estudos fitoquímicos demonstram que o grupamento hidroxila na

posição 3 parece conferir propriedades antiulcerogênicas a triterpenos pentacíclicos, isso verificado em triterpenos com atividade gastroprotetora já confirmada, como a carbenoxolona (NAVARRETE et al.,2002).

O lupeol é apresentado na literatura como possuidor de várias atividades farmacológicas, dentre elas, antiinflamatória. Age ativando uma série de enzimas antioxidantes- catalase, glutathione peroxidase, glicose-6-fosfato 1-dehidrogenase, glutathione-disulfito redutase and glutathione transferase, e suprimindo a indução de espécies reativas de oxigênio (DZUBAK et. al., 2006).

O ácido betulínico é um triterpeno pentacíclico, de ação citotóxica, capaz de induzir apoptose em melanomas, neuroblastomas, meduloblastomas, além de possuir atividade anti-HIV, antimalária e antiinflamatória, sendo recentemente observada a sua ação antineoplásica em células leucemias, com potencial maior que alguns antineoplásicos utilizados na terapêutica. (DZUBAK et. al., 2006).

Uma vez apresentados na literatura dados em relação as atividades farmacológicas atribuídas as espécies da família Malvaceae, em especial algumas espécies do gênero *Sterculia*, e uma vez conhecido alguns constituintes químicos presentes na *Sterculia striata*, dentre eles triterpenos (presentes na maioria das plantas que tem atividade farmacológica), temos motivos suficientes para estudá-la.

Dessa forma, a *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin. (Chichá), tem sido de interesse para realização de estudos farmacológicos, pois a mesma possui em sua composição química substâncias com potencial antioxidante (COSTA et. al., 2007),isso verificado em estudos fitoquímicos realizados a partir da espécie coletada em nossa região, que sugerem como substância majoritária presente no extrato, um triterpeno, mais especificamente o tipo lupeol (CHAVES et al., 2004), composto presente em muitos vegetais, ao qual são atribuídas diversas atividades farmacológicas (DELLA LOGGIA et al., 1994; RECIO et al., 1995; HASMEDA et al., 1999; RAJIC et al., 2000), além do que esta planta possui poucos relatos na literatura, principalmente em relação as suas atividades farmacológicas.

1.2-FISIOPATOLOGIA DO TRATO GASTROINTESTINAL

Anatomicamente, o estômago possui três porções bem definidas - fundo, corpo e antro pilórico; é limitado por dois esfíncteres - esfíncter esofágico inferior, na parte superior ou proximal do estômago e o esfíncter pilórico ou piloro, na parte inferior ou distal do estômago (HOGBEN et al., 1974). Funcionalmente, a mucosa gástrica pode ser dividida em duas regiões glandulares: a mucosa oxíntica e a mucosa antral. A mucosa oxíntica é mais extensa, ocupando o corpo e o fundo, e é o sítio da secreção de ácido clorídrico. A mucosa oxíntica é formada por glândulas oxínticas, que são constituídas por células parietais (ou oxínticas), células principais, células produtoras de somatostatina (células D) e células do tipo enterocromafins (ECL). No colo glandular, predominam as células produtoras de muco, que protegem a mucosa gástrica da ação corrosiva das secreções originadas pela glândula (LUCEY e YAMADA, 1989; CHUANG et al., 1991; SUNDLER et al., 1991). As glândulas da mucosa antral apresentam os mesmos tipos celulares que as glândulas oxínticas, exceto as células parietais (HOGBEN et al., 1974). A inervação do estômago compreende fibras extrínsecas e intrínsecas, onde na inervação intrínseca encontramos dois plexos principais, o plexo mioentérico (que inerva as camadas musculares e regula a função motora) e o plexo submucoso (que inerva a mucosa e regula a absorção e as secreções gastrintestinais) (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990). Neurônios de ambos os plexos recebem aferências do sistema nervoso central através de fibras do sistema nervoso parassimpático e simpático (inervação extrínseca) e de outros neurônios entéricos, incluindo neurônios sensoriais e interneurônios. Estes circuitos neuronais permitem regular as funções motoras e secretoras do tubo digestivo (COSTA e BROOKES, 1994).

Entre as diversas regiões do organismo o estômago é a que possui o ambiente mais peculiar principalmente pela quantidade elevada de ácido clorídrico, onde esse ambiente ácido, além de participar da digestão, desempenha também um papel de extrema importância protegendo o organismo de agentes infecciosos. No entanto, isso faz com que a mucosa estomacal e duodenal fique exposta à ação do ácido e da pepsina, responsáveis pelo início do processo de

digestão (ALLEN, 1993). Em condições normais essa mucosa possui mecanismos que a defendem desses agentes, além de protegê-la contra agentes agressivos exógenos como etanol, drogas antiinflamatórias e estresse. A produção de muco citoprotetor e bicarbonato criam uma barreira que neutraliza a ação do ácido sobre as células (BIGHETTI, 2002). Essa peculiaridade faz com que o controle da secreção, da digestão e da produção de fatores citoprotetores seja de extrema complexidade, com a participação do sistema nervoso central, plexo mioentérico, sistema nervoso autônomo, hormônios, neurotransmissores e autacóides. Os neurônios do plexo mioentérico secretam vários neurotransmissores, sendo que muitos não tem sua função ainda conhecida, diferente da acetilcolina e da noradrenalina, provavelmente os mais influentes sobre esse sistema, onde a acetilcolina tende a aumentar a atividade de todo o sistema nervoso entérico, aumentando o peristaltismo e as secreções no TGI, enquanto que a noradrenalina diminui. Também, a adrenalina liberada pela glândula adrenal exerce efeitos inibitórios sobre o trato gastrintestinal. Outros neurotransmissores liberados pelo plexo mioentérico são- trifosfato de adenosina, serotonina, dopamina, colecistocinina, substância P, peptídeo intestinal vasoativo, somatostatina, leu-encefalina, met-encefalina e a bombesina, sendo que alguns têm ações estimulantes e outras ações inibitórias (GUYTON, 2002).

1.2.1 Secreção Ácida Gástrica

A secreção ácida gástrica das células parietais é regulada por mecanismos neuronais, hormonais e parácrinos, existindo um componente central e periférico envolvidos. Quando os mecanismos homeostáticos estão prejudicados por algum motivo, o volume e a acidez gástrica podem aumentar desproporcionalmente, superando assim as defesas da mucosa gástrica, levando a formação de úlcera duodenal, úlcera gástrica e doença do refluxo gastroesofágico (SCHUBERT, 2004).

1.2.1.1 Mecanismos centrais da secreção gástrica

O nervo vago contém fibras aferentes que transmitem informações sensoriais do estômago até o tronco cerebral e fibras eferentes que formam o tronco motor dos reflexos vago-vagais (TEBBE et al., 2003; MONDAL et al., 2003).

O cérebro regula a secreção ácida gástrica através de vários efeitos centrais, sendo que os mecanismos pelos quais os neurotransmissores e neuropeptídeos atuam na secreção ainda é objeto de pesquisas. A injeção no ventrículo lateral de cainato ou NMDA (N-metil D-aspartato) estimulam de forma dose dependente a secreção ácida (TSUCHIYA et al., 2001). Estes efeitos foram bloqueados pela vagotomia, sugerindo que o glutamato, atuando via vagal, estaria envolvido na regulação central da secreção ácida gástrica (SCHUBERT, 2004). Também agonistas dos receptores κ -opióides, estimulam a secreção ácida gástrica via neurônios vagais colinérgicos (ISHIHARA et al., 2001). Foi observado também que a injeção de capsaicina no ventrículo lateral do cérebro estimulou a secreção ácida gástrica via receptores vaniloides VR1 e via vagal em ratos anestesiados, sendo investigado a participação de peptídeos relacionados com o gene da calcitonina (CGRP) e glutamato (MINOWA, et. al, 2004).

1.2.1.2 Mecanismos periféricos

1.2.1.2 a Estimulantes da Secreção Gástrica

- **Gastrina**

A gastrina é produzida pelas células G, sendo o principal hormônio estimulante de secreção ácida durante a ingestão de alimentos. Sua estimulação ocorre diretamente via receptores CCK_2 na célula parietal e, principalmente, indiretamente pelos receptores CCK_2 nas células ECL, que liberam histamina e assim estimulam a secreção ácida ativando os receptores H_2 presentes nas células parietais. A gastrina também regula o crescimento normal de tecidos e de

células tumorais no TGI. Possui uma seqüência pentapeptídica carboxi-terminal idêntica a colecistocinina (CCK), onde duas principais classes de receptores de gastrina/CCK são bem caracterizadas: CCK₁(ou CCK-A) e CCK₂ (ou CCK-B). Os receptores de CCK₁ são específicos para CCK, enquanto que os receptores CCK₂ reconhecem tanto CCK como gastrina com alta afinidade (SCHUBERT, 2004). A gastrina, atuando através dos CCK₂ presentes nas células enterocromafins, estimula as células parietais indiretamente, que resulta em liberação de histamina, onde esta irá induzir a secreção ácida atuando em receptores H₂ nas células parietais (POMMIER et al., 2003).

- **Histamina**

Os receptores de histamina têm sido classificados em quatro grandes subclasses: H₁, H₂, H₃ e H₄. No estômago, a histamina é principalmente estocada em células enterocromafins, que residem na parte basal das glândulas oxínticas. A gastrina e o mediador neuronal simpático Peptídeo Ativador de Adenilato Ciclase Pituitário (PACAP) estimulam a síntese de histamina, armazenamento e secreção pelas células enterocromafins (ECL), sendo que quando liberada se difunde para as células parietais vizinhas e estimula a secreção gástrica pela interação com os receptores H₂ expressos na superfície da célula parietal (PRINZ et al. 2003).

- **Acetilcolina**

A acetilcolina liberada do sistema nervoso entérico estimula diretamente a secreção gástrica através da ativação dos receptores muscarínicos M₃ nas células parietais, mediado pelo segundo mensageiro AMPc, ou de maneira indireta, através da interação com receptores muscarínicos M₁ das células enterocromafins, promovendo a liberação de histamina, que estimula diretamente a célula parietal. A ativação do receptor colinérgico resulta na liberação de cálcio dos estoques, mediada pela formação do inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) pela fosfolipase C, bem como da entrada de cálcio extracelular que é modulada por várias substâncias ativadas pela fosfolipase A₂, sendo que o

cálcio se une a proteínas fixadoras de cálcio, como a calmodulina, formando o complexo cálcio-calmodulina que fosforila proteínas em cascata e ativa as proteínas quinases cálcio dependentes (PKC) que permitem a fosforilação de proteínas que irão ativar a H^+/K^+ -ATPase (BAGGIO, 2004).

1.2.1.2 b Inibidores da Secreção Gástrica

- **Somatostatina**

No estômago a somatostatina, presente nas células D, inibe a secreção ácida atuando diretamente nas células parietais pela inibição da enzima H^+K^+ /ATPase, e indiretamente por inibir a secreção de histamina pelas células ECL (mais importante na inibição da secreção ácida gástrica) e inibir a secreção de gastrina pelas células G. A ação da somatostatina é mediada via cinco subtipos de receptores acoplados a proteína G, $SSTR_1$ a $SSTR_5$. (SCHUBERT, 2004). Ambos os mecanismos ocorrem através da ativação de receptores de somatostatina $SSTR_2$, localizados nas células ECL e parietal, sendo que este receptor está acoplado à proteína G inibitória (G_i) (BAGGIO, 2004).

- **Adrenomedulina**

Adrenomedulina é um potente vasodilatador e regulador da proliferação celular, que está presente no estômago, sendo que possui estrutura homóloga ao peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Em ensaios com radioimunoensaio foi verificado a presença da adrenomedulina no TGI, em particular no epitélio glandular conforme pesquisa imunohistoquímica. Recentemente, foi mostrado que a adrenomedulina esta relacionada com a restituição da mucosa gástrica *in vitro*. Também adrenomedulina e seus receptores são altamente expressos em mucosa gástrica normal, sendo aumentados após injúrias por etanol (WANG et. al., 1999).

Em estudos *in vitro* com estômagos de ratos e camundongos, a adrenomedulina, atua via neurônios intramurais, estimulando a secreção de

somatostatina, inibindo a liberação de histamina e a secreção ácida (GOMEZ et al., 2004; HIRSCH et al., 2003).

- **Amilina**

A amilina é um peptídeo hormonal sintetizado e secretado pelas células Beta do pâncreas e presente dentro do estômago. Diminui o peristaltismo estomacal, possuindo efeito antiulcerogênico em diferentes modelos de úlcera. O efeito da amilina está relacionado com a diminuição da atividade secretória dos mastócitos (LUK'YANTSEVA et. al, 2008).

A amilina tem a mesma localização que a somatostatina em células endócrinas do fundo gástrico, sendo que em estômagos de ratos e camundongos, a amilina, liberada de células D contendo somatostatina, interage com receptores distintos de amilina para aumentar a secreção de somatostatina, o que leva a inibição de histamina e porconsequente inibição da secreção ácida (SCHUBERT, 2004).

- **Prostaglandinas**

As prostaglandinas (PGs) inibem a secreção de ácido por ação direta na célula parietal ou indiretamente pela inibição da liberação de gastrina (WALLACE, 2001 b). As PGs unem-se ao receptor de PGE₂ na célula parietal e ativam uma proteína G inibitória (Gi), que inibe a enzima adenilato ciclase. As PGs endógenas modulam a secreção ácida pelo bloqueio do aumento de AMPc estimulado por histamina dentro da célula parietal (ATAY et al.,2000).

1.2.1.3 Mecanismo intracelular da Secreção Gástrica

As células parietais possuem um sistema de canalículos ramificados secretórios, que cursam através do citoplasma e estão conectados a uma saída comum para a superfície luminal da célula. A célula parietal gástrica tem dois sistemas de membranas características. Um é constituído pelos canalículos intracelulares e o outro, pelas membranas tubulovesiculares. O compartimento

tubulovesicular é drasticamente depletado durante a secreção ácida gástrica máxima e isto é coincidente com um aumento da superfície da membrana canalicular da célula (BAGGIO, 2004).

A ativação das células parietais determina o transporte ativo dos íons Cl^- do citoplasma dessas células para o lúmen dos canalículos, que se comunicam com a luz das glândulas gástricas, sendo o Cl^- é trocado por HCO_3^- , ao mesmo tempo em que ocorre um transporte de íons Na^+ para dentro das células. Esses fluxos criam um potencial de -40 a -70 milivolts, esse gradiente elétrico causa difusão passiva de grande quantidade de K^+ e de quantidades menores de Na^+ para fora da célula. O K^+ excretado volta a célula por transporte ativo, através da H^+/K^+ ATPase, e o Na^+ também retorna a célula por transporte ativo, através de uma bomba de sódio específica. Dessa forma a maior parte do K^+ e Na^+ secretados retorna as células parietais, e os íons H^+ (oriundos do CO_2 produzido pelo metabolismo da célula) substituem nos canalículos, resultando em uma solução de ácido clorídrico, que é então secretado para o lúmen da glândula (SACHS, et. al. 1995).

1.2.2 Fatores relacionados à proteção e/ou agressão da mucosa gástrica

O primeiro mecanismo de defesa do estômago consiste de fatores secretados no lúmen incluindo ácido gástrico, bicarbonato, muco, imunoglobulinas e outras substâncias antibacterianas (WALLACE e GRANGER, 1996). O ácido pode ser visto como a primeira linha de defesa da mucosa, por causa de sua importância na redução da possibilidade de colonização bacteriana no estômago, da mesma forma que o muco secretado na superfície luminal (WALLACE, 2001 a). O epitélio se encontra logo abaixo ao muco e também é uma barreira de proteção a difusão passiva de vários agentes (WALLACE e GRANGER, 1996).

O epitélio gastrintestinal é especializado de forma a manter sempre as suas funções, como uma barreira ao ácido gástrico e a outros agressores. A grande capacidade de proliferação do epitélio lhe confere habilidade de reparação ao dano epitelial e contribui para a resistência da mucosa gástrica contra as lesões (WALLACE, 2001a). O epitélio gástrico humano possui um ciclo de renovação celular de cerca de 2 a 4 dias, ou seja, a cada 3 dias todo o epitélio

gástrico é renovado, mesmo que essas células estejam íntegras, sendo que as células velhas são expulsas para o lúmen juntando-se ao muco (WRIGHT, 1984).

A capacidade da mucosa gástrica em resistir a lesões por secreções endógenas (ácido, pepsina e bile) e por ingestão de agentes irritantes (álcool e anti-inflamatórios não esteroidais (AINES)) pode ser atribuída a numerosos fatores que tem sido coletivamente referido como defesa da mucosa (WALLACE, 2001a). O Muco também tem um importante papel na prevenção da agressão mecânica ao epitélio e fornece um microambiente sobre a área lesionada que é rapidamente restituída (WALLACE et al., 1986). O muco em combinação com o bicarbonato secretado pelas células epiteliais superficiais tem um importante papel na proteção gástrica à lesão induzido por ácido e pepsina (ALLEN e GARNER, 1980). A secreção de muco e bicarbonato são alguns dos recursos regulados pela síntese de prostaglandinas. Assim, os AINE(s) podem reduzir à secreção de muco e bicarbonato aumentando assim a susceptibilidade da mucosa à lesão (WALLACE, 2001 a).

O fluxo sangüíneo é outro fator que contribui para a proteção gástrica, por fornecer a mucosa- oxigênio, bicarbonato, substâncias nutritivas e por remover dióxido de carbono, íons hidrogênio e difundir agentes tóxicos do lúmen gástrico. A hipóxia gástrica resulta na acumulação de H^+ na mucosa gástrica, levando a acidificação do estômago e desenvolvimento de úlcera gástrica (SORBYE e SVANES, 1994).

Um importante papel na proteção contra danos à barreira de muco do estômago é feito pela microcirculação gástrica (KWIECIEN et al. 2002b). Em adição ao fornecimento de nutrientes e oxigênio ao epitélio, a microcirculação também remove, dilui e neutraliza substâncias tóxicas que se difundem do lúmen para a mucosa (WALLACE e GRANGER, 1996).

A microcirculação da mucosa gástrica é alterada pelos mediadores localizados na mucosa e submucosa gástrica. A difusão de ácido ou toxinas para a mucosa gástrica resulta em uma elevação do fluxo sangüíneo, que é essencial para limitar os danos e facilitar a reparação celular (WALLACE e GRANGER, 1996).

Também já foi descoberto o envolvimento de receptores de adenosina (A_2) com o aumento do fluxo sanguíneo gástrico, onde estes receptores ativados

pelo etanol não metabolizado induzem a dilatação arteriolar no estômago de ratos (NAGATA et. al., 1996), podendo ser sugerido um mecanismo inicial de reparo da agressão pelo organismo.

A redução da perfusão sangüínea da mucosa gástrica resulta em formação de erosões e úlcera. Os principais fatores que regulam esse fluxo são as prostaglandinas, peptídeos liberados dos terminais nervosos aferentes (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina-CGRP) e o óxido nítrico (KWIECIEN et al., 2002 b).

As prostaglandinas têm efeito na motilidade, secreção e citoproteção do trato gastrointestinal. As PGE₂ podem influenciar de duas maneiras a secreção ácida gástrica. Em baixas concentrações inibem a secreção ácida através da interação com receptores EP₃ e em concentrações maiores estimulam a secreção ácida através da interação com receptores EP₄. Ambos os receptores estão presentes nas células parietais e nas células principais da mucosa gástrica (DING et al, 1997). Muitas prostaglandinas (PG) incluindo PGE₂ e PGI₂ previnem a formação da úlcera por um mecanismo adicional a inibição da secreção gástrica, chamado de citoproteção gástrica (TAKEUCHI et al., 2002). A secreção de muco e bicarbonato, a vasodilatação e a rápida regeneração epitelial são alguns dos componentes de defesa da mucosa que são regulados pelas PG (WALLACE e GRANGER, 1996). Segundo Susuki (2000), a ação gastroprotetora de PGE₂ está relacionada com a inibição da motilidade gástrica.

A inibição da produção de PG endógena, como a que ocorre pela ingestão de AINE, leva a formação de úlceras no estômago e intestino. A identificação de duas isoformas de PG sintase (ciclooxigenase, COX) no começo dos anos 90, direcionou as atenções para a possibilidade de que a supressão da isoforma COX-2 poderia produzir muitos dos efeitos antiinflamatórios dos AINE, mas poupando a síntese de PG gástrica e, assim, causando menos irritação ao estômago (FLOWER, 2003).

Algumas observações de experimentos realizados sugerem que a COX-2 contribui significativamente para a defesa da mucosa gástrica. Também, dados de estudos com animais e humanos têm mostrado que a combinação de aspirina com inibidores seletivos de COX-2 resulta em aumento do dano gástrico

maior do que os danos observados quando as duas drogas são administradas sozinhas (FIORUCCI, et al., 2002).

A PGI₂ endógena está envolvida na resposta à lesão ocasionada pelo estresse, mas não na cicatrização da úlcera gástrica pré-formada, além disso, PGI₂ e seus receptores podem ter um papel fundamental na proteção gástrica induzida por capsaicina, mas não na citoproteção adaptativa induzida por irritantes leves. A ação protetora em ambos os casos é dependente de PG endógena, ainda que os receptores envolvidos nessa ação mostrem ser diferentes; os receptores IP estão envolvidos na formação da úlcera, enquanto os receptores EP₁ na úlcera já formada (TAKEUCHI et al., 2002).

Cerca de 20% dos usuários regulares de AINE desenvolvem uma úlcera de estômago ou duodeno. A importância das prostaglandinas (PG) na defesa da mucosa é evidenciada pela capacidade dos AINE induzirem danos na mucosa gástrica, dano esse correlacionado com sua habilidade em suprimir a síntese de PG gástrica. (WALLACE, 2001 b).

Ainda existe a linha de defesa da mucosa gástrica representada pelo sistema imunológico, que consiste de várias células, como os mastócitos e macrófagos, que reconhecem a entrada de invasores na mucosa e produzem uma resposta inflamatória apropriada (WALLACE e GRANGER, 1996). Os mastócitos e macrófagos residentes na lamina própria atuam como células sinalizadoras da presença de substâncias estranhas, essas células são capazes de liberar uma grande quantidade de mediadores inflamatórios e citocinas que podem alterar o fluxo sanguíneo da mucosa e aumentar o recrutamento de granulócitos para a região afetada. Tem sido sugerido que a estabilização dos mastócitos pode ser um mecanismo chave através do qual as PGs possam proteger o estômago de danos. Além disso, as PG são potentes inibidores da liberação de grande número de mediadores dos mastócitos, incluindo PAF, HA e TNF- α (HOGABOAM et al., 1993).

As citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β e o TNF α têm um importante papel na produção da inflamação aguda (KONTUREK et al., 2000). Essa inflamação aguda é acompanhada por infiltração de neutrófilos na mucosa gástrica, onde estes neutrófilos produzem o anion superóxido (O₂^{•-}), que pertence ao grupo das espécies reativas de oxigênio (EROs). O radical superóxido reage

com os lipídios celulares, levando a formação de peróxidos de lipídios, que são metabolizados aos compostos malondialdeído (MDA) e 4-hidroxinonenal (4-HNE) (KWIECIEN, et al., 2002 a).

As espécies reativas de oxigênio geradas pelo metabolismo do ácido araquidônico, plaquetas, macrófagos e células musculares lisas também podem contribuir de forma significativa para o dano na mucosa gástrica (REPETTO e LESSUY, 2002).

O organismo possui muitos sistemas enzimáticos, que capturam os EROs e previnem sua ação destrutiva (KWIECIEN, et al., 2002 a). A principal enzima antioxidante é a superóxido dismutase (SOD) (BRZOWSKI et al., 2001), a qual pode ser distinguida entre: citoplasmática, mitocondrial e extracelular. A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em um peróxido (H_2O_2) menos lesivo, que posteriormente é degradado pela catalase (CAT) ou glutaciona peroxidase (GPx) (KWIECIEN, et al., 2002 a).

A CAT é uma enzima que acelera a degradação do H_2O_2 em água e oxigênio (HALLIWELL 1990). A segunda via do metabolismo do H_2O_2 depende da ativação da GPx e da cooperação da glutaciona redutase (GR). A redução do H_2O_2 em água pela GPx é acompanhada da conversão de glutaciona da forma reduzida (GSH) para a forma oxidada (GSSG) (KWIECIEN, et al., 2002 a).

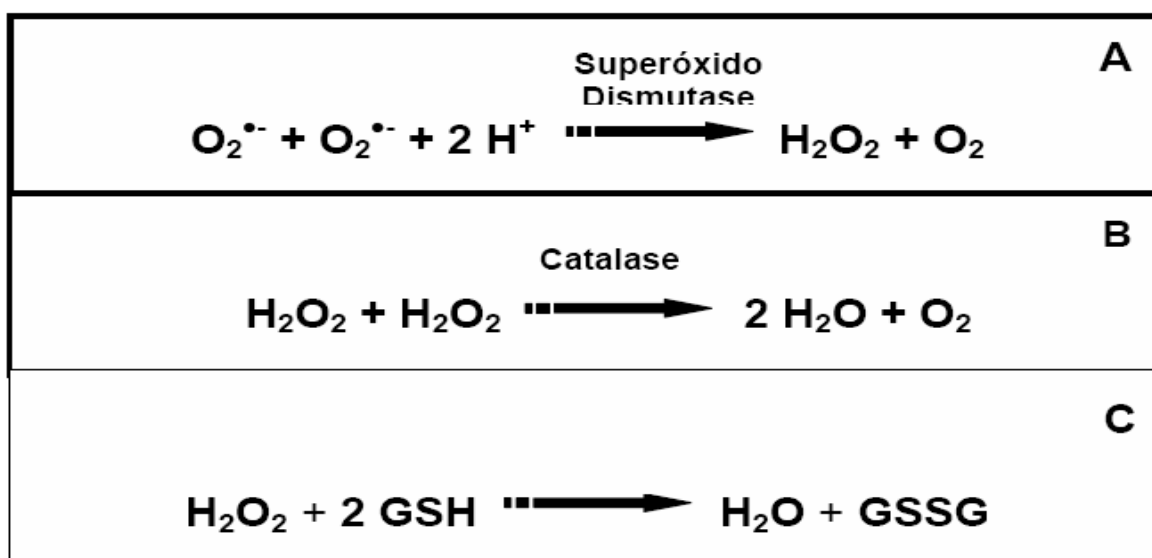


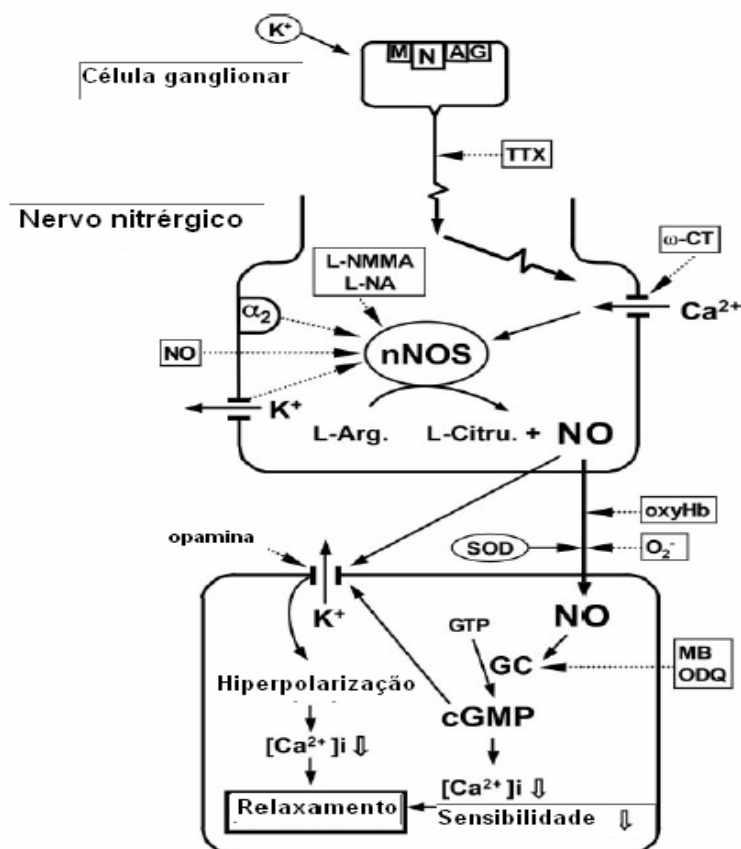
Figura 3: Reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase (A), catalase(B) e glutaciona peroxidase (C), (adaptado de CNUBBEN *et al.*, 2001).

Outra substância de importância na proteção gástrica, é o óxido nítrico (NO), que tem um papel chave na perfusão e regulação vascular, promovendo uma vasodilatação, pela sinalização da célula muscular lisa via GMPc (TODA e HERMAN, 2005). O principal fluxo sanguíneo para o TGI chega através da veia mesentérica, e a regulação do fluxo até as arteríolas mesentéricas é um passo importante para a regulação do fluxo sanguíneo intestinal geral e local (SHAH et al., 2002).

A produção constitutiva de NO é importante para manter a barreira protetora da mucosa gastrintestinal, sendo que esse mecanismo protetor do NO pode ser devido a sua capacidade em aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa e estabilizar a influência dos mastócitos (ALICAN et al., 1996). Contudo, o excesso na produção de NO associado com estados inflamatórios é caracterizado pelo aumento na permeabilidade epitelial na mucosa gástrica e perda da função da barreira de muco. Dessa forma, os níveis de produção de NO, a isoforma geradora de NO e o estado redox das células epiteliais podem determinar os efeitos do NO na permeabilidade da mucosa e proteção (SHAH et al., 2004).

O óxido nítrico também pode contribuir para o dano celular em condições inflamatórias através de reações de nitração, dessa forma, gerando peroxinitritos, os quais são responsáveis pela nitração de resíduos de tirosina nas proteínas, depleção de reserva energética nas mitocôndrias e causar quebras nas fitas de DNA (BECKMAN et al., 1996).

Existem três tipos de óxido nítrico sintase- neuronal, endotelial e induzida (nNOS, eNOS e iNOS respectivamente), cada uma com capacidade de gerar NO através de mecanismos regulatórios complementares e distintos. Através dessa via o NO se liga ao grupo heme da guanilato ciclase (GC) que estimula a enzima a gerar guanosina monofosfato cíclica (GMPc), que por sua vez ativa a proteína quinase G (PKG), que gera uma corrente de fosforilações conduzindo a funções efetoras (TODA e HERMAN, 2005). O NO também pode mediar sinalizações independentemente da ativação da GC, regulando diretamente as funções dos canais iônicos, de enzimas e de várias outras proteínas (STAMLER et al., 2001).



Célula do músculo liso do TGI

Figura 4: Regulação da função gastrointestinal pelo nervo nitrérgico (adaptado de TODA e HERMAN, 2005).

Estudos clínicos têm demonstrado que a co-administração de agentes doadores de NO com AINE podem proteger contra a indução da úlcera pelos AINE, e a combinação aos AINE de uma molécula que libere NO pode resultar em menos dano a mucosa, quando comparada com os tradicionais inibidores de COX, e podem até aumentar a reparação do tecido mucoso (SHAH et al., 2002).

A produção de óxido nítrico (NO) pode ser aumentada pela via da capsaicina, que inclui fibras nervosas sensoriais sensíveis a capsaicina, e que liberam CGRP (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina) (KAUNITZ e AKIBA, 2004). Estas terminações nervosas e os mediadores estão envolvidos com a resposta protetora da mucosa ao ácido luminal, incluindo aumento do fluxo sanguíneo da mucosa e da secreção de muco e bicarbonato. Takeuchi et al. (2002) demonstrou que a capsaicina protegeu contra lesões gástricas provocadas

por HCl/etanol, proteção essa que foi abolida pela indometacina quando administrada junto com a capsaicina.

Os nervos sensoriais primários sensíveis a capsaicina servem para condução da informação nociceptiva para o SNC, mas também são capazes de liberar neurotransmissores dos terminais periféricos ativados (DEMBINSKI et al., 2005). Baixas doses de capsaicina estimulam os nervos sensoriais primários pela abertura de canais de cátions não seletivos complexados com receptores vanilóides, resultando em liberação local de neurotransmissores como peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e substância P (REN et al., 1993). Por outro lado, doses neurotóxicas de capsaicina levam a eliminação dos nervos sensoriais com a diminuição dos níveis plasmáticos e teciduais de CGRP (DEMBINSKI et al., 2005).

No estômago, o CGRP está presente nos terminais periféricos dos nervos aferentes sensíveis a capsaicina, onde este peptídeo mostrou efeitos gastroprotetores quando foram induzidas lesões por etanol, indometacina e aspirina. Em estômago de ratos, seu efeito gastroprotetor é mediado principalmente pelo aumento do fluxo sangüíneo da mucosa gástrica através do aumento da produção de NO (KAWASHIMA et al., 2002).

O receptor ativado por proteinases (PAR) é outro sistema de sinalização que participa da proteção gastrintestinal (KAWABATA, 2003), sendo que esses receptores estão bastante presentes em todo o trato gastrintestinal e conectados a órgãos secretórios, expressos principalmente nas células musculares lisas e na mucosa gastrintestinal (KAUNITZ e AKIBA, 2004).

A mucosa gástrica tem dois desses receptores, PAR-1 e PAR-2, que são associados à gastroproteção, sendo que a ativação de PAR-2 mimetiza a resposta da mucosa ao ácido luminal, com um aumento na secreção de muco e do fluxo sangüíneo da mucosa, seguida da inibição da secreção ácida gástrica, onde essas respostas são dependentes da presença de terminações nervosas sensíveis a capsaicina e CGRP (KAWABATA, 2003).

Dessa forma, uma variedade de fatores produz danos à mucosa gástrica, incluindo eventos sistêmicos como estresse térmico ou contato direto na mucosa com vários irritantes que são comumente chamados de desestabilizadores da barreira da mucosa gástrica. O desequilíbrio entre agentes

gastrotóxicos e mecanismos protetores resultam em inflamação aguda (KWIECIEN et al. 2002 a). Contudo existe também o *H. pylori*, uma das bactérias patogênicas mais amplamente distribuídas, podendo ser encontrada em aproximadamente metade da população mundial (ZEVERING et al., 1999) e está relacionada com algumas importantes doenças gastrintestinais como gastrite crônica (BLASER e BERG, 2001), úlcera péptica (PARSONNET et al., 1994) e carcinoma gástrico (EL-OMAR et al., 2000). A infecção pela *H. pylori* não pode ser considerada causa única de desenvolvimento de úlcera péptica, sendo que muitas pessoas são infectadas e não desenvolvem úlcera gástrica. Existem evidências que o estresse fisiológico funciona como um co-fator para o *H. pylori* (LEVENSTEIN, 1998) na formação da úlcera gástrica.

1.2.3. Gastrite e Úlcera Péptica

Gastrite refere-se a uma inflamação da mucosa gástrica, podendo ser superficial ou penetrar mais profundamente na mucosa, e em muitos casos podendo levar a uma atrofia da mucosa gástrica. A gastrite aguda, pode ser devida a um dano tóxico a mucosa gástrica comumente ocasionada por antiinflamatórios não esteroidais (AINE) ou ingestão de álcool (LIPOF et al., 2006), já a úlcera por estresse se desenvolve usualmente em poucas horas após queimadura, politraumas, lesão no sistema nervoso central, choque, grandes operações ou infecção severa (DEMBINSK et al., 2005).

A úlcera é uma lesão profunda da mucosa, onde tanto os componentes dos tecidos epitelial e conectivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos, podem ser destruídos (MILANI e CALABRÒ, 2001).

A úlcera péptica é uma doença comum do trato gastrintestinal e a sua patogênese é multifatorial, incluindo infecções pelo *Helicobacter pylori*, aumento da concentração de ácido gástrico, de pepsina, alterações na motilidade gastroduodenal, hábitos de vida como o tabagismo e ingestão de bebida alcoólica, onde todas essas ações contribuem para o desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores do estômago (EASTWOOD, 1997).

2. OBJETIVO

-Objetivo Geral

Investigar a eventual atividade gastroprotetora e espasmolítica do extrato etanólico (Ss-EtOH), obtido a partir das cascas do caule de *Sterculia striata* A. St. Hil. & Naudin (Malvaceae), em modelos animais *in vivo*.

-Objetivos Específicos

- Avaliar a toxicidade aguda e a citotoxicidade do extrato (Ss-EtOH) em camundondos.

-Avaliar a possível atividade gastroprotetora do extrato (Ss-EtOH) em modelo agudo de úlcera gástrica induzida por etanol, etanol acidificado e indometacina em camundongos.

-Estudar o efeito do extrato (Ss-EtOH) sobre a secreção gástrica (volume, pH e concentração de íons hidrogênio), utilizando ligadura de piloro em ratos;

-Determinar a participação da via óxido nítrico sintase (NOS) na possível citoproteção do extrato (Ss-EtOH), utilizando o modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos;

-Verificar a possível ação antioxidante do extrato (Ss-EtOH), através de modelos de isquemia e reperfusão em ratos, e das dosagens das atividades da catalase e GSH em camundongos.

-Investigar a possível atividade espasmolítica do extrato (Ss-EtOH) em modelos animais *in vivo*, tentando correlacionar com a secreção gástrica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Animais utilizados:

Utilizou-se ratos Wistar machos (200-300 g) e camundongos Swiss, machos e fêmeas (25-30 g), de 3 a 4 meses de idade, provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí, mantidos sob condições controladas de alimentação, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 h.

Os animais foram sacrificados por meio de injeção intraperitoneal de anestésicos barbitúricos (tiopental sódico), seguido de deslocamento cervical, de acordo com a resolução nº714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária- CFMV, sob a supervisão do médico veterinário Dr. Rozeverter Moreno Fernandes (CRMV-PI 290), sendo que os protocolos experimentais realizados foram aprovados pelo “Comitê de Ética em Pesquisa” da Universidade Federal do Piauí, de acordo com o protocolo de número 12/2008.

3.1.2. Coleta da planta e obtenção de extrato etanólico de *Sterculia striata* St. Hil. & Naudin (Malvaceae).

As cascas do caule de *Sterculia striata* foram coletadas na fazenda Várzea da Cruz, no município de Oeiras-PI, em novembro de 2004 e identificada no Herbário Graziela Barroso da UFPI, recebendo a exsicata a numeração 10.165.

O material botânico fresco foi desidratado ao ar livre sendo em seguida triturado até a obtenção do pó (1800,0 g). Este foi macerado em etanol 95%, e colocada em aparelho Ultrassom por 45 min, sendo tal procedimento repetido quatro vezes. A solução etanólica foi concentrada em rotaevaporador a 60°C produzindo 67,0 g do extrato etanólico bruto, conforme figura abaixo:

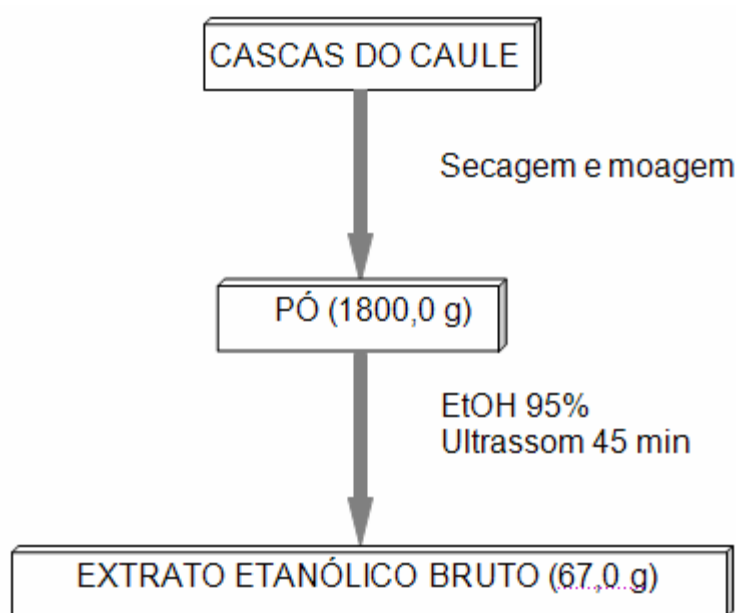


Figura 5: Obtenção do extrato etanólico bruto de *Sterculia striata*

A obtenção do extrato foi realizada no Departamento de Química da UFPI, sob a orientação da Profa. Dra. Mariana Helena Chaves.

3.1.3. Drogas e Reagentes

- Indometacina (Indocid) 50 mg MSD Merck Sharp&Dohme (Brasil)
- Sulfato de morfina (Dimorf) 10 mg/ml Cristália
- Sulfato de atropina (Atropinon) 0,25 mg/ml Hipolabor
- Óleo de Rícino da Uniphar Anápolis (Brasil)
- N-acetilcisteína(Fluimucil) 100 mg/ml injetável Zambon (Brasil)
- Carbenoxolona
- L-NAME Sigma (USA)
- Fenoltaleína (FarmanilQuima, Curitiba, Brasil)
- EDTA (Reagen, RJ, Brasil)
- Ditiobisácido 2-nitrobenzóico (DTNB)
- Loperamida(Imosec) JanssenCilag (Brasil)
- Cimetidina (Tagamet) Glaxos Mithkline (Brasil)
- Cloridrato de ranitidina (Antak) Glaxos Mithkline (Brasil)

- Tween 80, Riedel (Alemanha)
- Ácido tricloroacético P.A. Sigma USA
- Álcool etílico P.A. 95% Quimex, Brasil
- Triton-X 100, Vetec, Duque de Caxias Brasil
- CaCl_2 10 mM, Merck, Germany
- Carvão ativado, Reagen Brasil
- Tris 0,4 M
- Hidróxido de sódio, Reagen Brasil

3.1.4. Materiais e Equipamentos Laboratoriais

Os materiais laboratoriais utilizados foram:

- Agitador de tubos – VORTEX, AP 56 PHOENIX
- Balança analítica Adventur, Ohaus, New Jersey, EUA.
- Balança analítica ACCULAB
- Espectrofotômetro (Biospectrofotômetro P 220)
- Homogenizador (Marconi, Bosch, Piracicaba, Brasil)
- Centrífuga Fanem
- Lupa entomológica
- Clamp microvascular

3.2. METODOLOGIA

3.2.1 TOXICIDADE AGUDA

3.2.1.1.Determinação da Toxicidade aguda em camundongos

Para a determinação da toxicidade aguda do extrato Ss-EtOH, camundongos Swiss, 25-30 g, foram divididos em grupos de 5 machos e 5 fêmeas, em jejum de sólidos de 18h e tratados, com veículo (3% de Tween 80 em salina 0,9%, 10 mL/kg), Ss-EtOH (500 e 2000 mg/kg, via oral; 500 e 1000 mg/kg, via intraperitoneal). A toxicidade aguda em camundongos foi avaliada por 4 horas e nas 72 horas após a administração do extrato, onde foram observados alguns parâmetros: hiperatividade, agressividade, tremores, convulsão, piloereção, ptose palpebral, sedação, anestesia, ataxia, reflexo do indireitamento, catatonía, analgesia, perda do reflexo palpebral, perda do reflexo auricular, lacrimejamento, salivação, cianose, dentre outros, além do número de animais mortos em cada grupo; sendo calculada a DL₅₀ utilizando um método de regressão linear. Também como parâmetro adicional de toxicidade, os camundongos foram monitorados por 14 dias após o início do experimento e ao final deste período todos animais foram sacrificados para análise dos órgãos vitais (MILLER & TAINTER, 1944).

3.2.1.2. Determinação da Atividade hemolítica em eritrócitos de rato

Esse procedimento seguiu a metodologia descrita por Rangel et al. (1997). Para a obtenção do sangue, os ratos foram decapitados e o sangue coletado imediatamente em um béquer com 30 mL de solução de salina 0,9 % com CaCl₂ 10 mM sob agitação. As hemáceas foram lavadas duas vezes por centrifugação a 5000 rpm/3 min. O sedimento da última centrifugação foi ressuspenso a 0,5 % em salina e borbuhlada com mistura carbogênica por 30 min. Os produtos testes foram avaliados nas concentrações variando de 1 a 1000 µg/mL. A montagem dos tubos foi feita em triplicata para todos os produtos testes nas concentrações desejadas e o volume foi completado para 0,5 mL com solução salina. Para o controle positivo, foi adicionado 100 µL de Triton X-100 1 % (100 % de hemólise). A cada tubo foi adicionado 4 mL de suspensão de eritrócitos

que incubou-se 1 hora à temperatura ambiente sob agitação constante. Centrifugaram-se as amostras (5.000 rpm durante 3 min.), sendo a hemólise medida pela absorbância do sobrenadante a 540 nm.

3.2.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA

Os animais foram divididos em grupos, mantidos em gaiolas de arame durante a realização dos experimentos e identificados como grupo controle (veículo- 3% de tween 80 em salina 0,9%), grupo experimental e grupo padrão.

3.2.2.1. Úlcera induzida por etanol

Após jejum de sólidos de 18 horas, os animais (camundongo) foram divididos em grupos e tratados por via oral com veículo, com os produtos testes (Ss-EtOH nas doses de 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg) ou Carbenoxolona 100 mg/kg, via oral. Após 1 h do tratamento as lesões gástricas foram induzidas pela administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Decorridos 30 min após a administração do etanol, os animais foram sacrificados, os seus estômagos foram retirados e abertos pelas suas curvaturas maiores, lavados e fixados com alfinetes em pequenas plataformas de isopor, para observação com lupa entomológica, onde as lesões presentes no estômago foram desenhadas em folhas de transparência e medidas usando papel milimetrado, sendo os resultados expressos pela média da área de lesão em mm² (ROBERT et al., 1979).

3.2.2.2. Úlcera gástrica induzida por etanol acidificado

Após jejum de sólidos de 18 horas, os animais (camundongo) foram divididos em grupos e tratados por via oral com veículo, com os produtos testes (Ss-EtOH nas doses de 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg) ou Carbenoxolona 100 mg/kg, por via oral. Uma hora após os tratamentos os animais receberão 0,2 mL de uma solução de 0,3 M de HCl em etanol 60% e após 1h foram sacrificados, os estômagos retirados e abertos pelas suas curvaturas maiores, lavados e fixados com alfinetes em pequenas plataformas de isopor, para observação com lupa

entomológica, onde as lesões presentes no estômago foram desenhadas em folhas de transparência e medidas usando papel milimetrado, sendo os resultados expressos pela média da área de lesão em mm² (ROBERT et al., 1979; MIZUI & DOUTEUCHI, 1983).

3.2.2.3. Isquemia e reperfusão

Após um período de jejum de sólidos de 24 horas, ratos foram pré-tratados com veículo, extrato (Ss-EtOH nas doses de 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/kg) via oral ou NAC (N-acetilcisteína) 750 mg/kg via intraperitoneal, 30 min após foram anestesiados por via intraperitoneal com tiopental sódico (50 mg/kg). Após 1 hora do tratamento, foi feita uma incisão de aproximadamente 3 cm do lado esquerdo do abdômen. A artéria aorta foi localizada e, posteriormente, a artéria celíaca a qual foi obstruída por 30 minutos usando um “clamp” microvascular. Transcorridos 30 minutos da isquemia, retirou-se o “clamp” para permitir a reperfusão da mucosa gástrica por 60 min. Ao final desse período, os animais foram sacrificados. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura e lavados com salina e fixados com alfinetes em pequenas plataformas de isopor, para observação com lupa entomológica, onde as lesões presentes no estômago foram desenhadas em folhas de transparência e medidas usando papel milimetrado, sendo os resultados expressos pela média da área de lesão em mm² (ROBERT et al., 1979; UEDA et al. 1989a).

3.2.2.4. Avaliação da atividade antioxidante

Camundongos, após jejum de 24h, foram tratados com veículo (3% de Tween 80 em salina 0,9%, 10 mL/kg) via oral, N-acetilcisteína (750 mg/kg) intraperitoneal ou Ss-EtOH (25 e 50 mg/kg) via oral. Após 1 h do tratamento as lesões gástricas foram induzidas pela administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Decorridos 30 min após a administração do etanol, os animais foram sacrificados, os seus estômagos foram retirados e abertos pelas suas curvaturas maiores, lavados com salina, onde foram observados a presença de

lesões, em seguida mantidos em superfície gelada, onde cada porção glandular foi removida e analisada a atividade da GSH e catalase.

a - Determinação da glutathiona reduzida: foi avaliada no homogenado do tecido gástrico a 10% em EDTA 0,02 M e o ensaio foi realizado em tampão tris 0,4 M, pH=8,9, na presença de DTNB 0,1M. As amostras foram analisadas no espectrofotômetro em 412 nm (SEDLAK & LINDSAY, 1968).

A porção glandular do estômago de cada animal foi retirado, pesado e homogenizado em solução de EDTA 0,02 M gelada, tratado com ácido tricloroacético e centrifugado para descarte do precipitado. Em seguida, 2 ml do sobrenadante foi misturado com 4 ml de tampão TRIS 0,4 M pH 8,9 e 100 µl de solução de ácido ditionitrobenzóico DTNB 0,01 M. Por fim, as amostras foram analisadas no espectrofotômetro em 412nm, onde a concentração de GSH foi determinada indiretamente a partir da determinação espectrofotométrica do íon tiobenzoato (TNB) e expressa como µM por massa (g) de tecido do corpo do estômago (SEDLAK & LINDSAY, 1968).

b - Atividade da catalase: conforme descrito por Ching (1975), onde um homogenato do tecido com tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7, é centrifugado por 10 minutos a 5800rpm para descarte do precipitado, em seguida é feita uma diluição da amostra com o tampão Tris, e faz-se a quantificação da catalase por decomposição do peróxido de hidrogênio mediante o decréscimo da densidade ótica a 230 nm, onde a redução da absorbância do H₂O₂ é acompanhada espectrofotometricamente.

3.2.2.5. Participação da via óxido nítrico sintase (NOS) na citoproteção gástrica

Esse método é descrito por Sikiric et. al (1997), onde camundongos foram colocados em jejum por 24 h com livre acesso à água; os animais foram divididos em grupos e receberão por via intraperitoneal injeção de solução salina+tween (veículo), e os demais grupos, injeção de N^G-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME, 20 mg/kg), um inibidor da NO-sintase. Decorridos 30 min dos tratamentos, os animais receberam, veículo do extrato (v.o), o extrato (v.o) ou L-

arginina 600 mg/kg (via i.p.). Após uma hora do tratamento inicial, foi administrado etanol absoluto (0,2 mL/animal) a todos os grupos. Os animais foram sacrificados 1h após a administração do etanol para determinação da área de lesão gástrica glandular, onde os resultados foram expressos pela média da área de lesão em mm², conforme métodos anteriores.

3.2.2.6. Úlcera induzida por Indometacina

Após um período de jejum de sólidos de 24 horas, os animais (camundongos) foram tratados via oral, com veículo, Cimetidina 100 mg/kg , ou Ss-EtOH (25 e 50 mg/kg), após 1 hora, úlceras gástricas foram induzidas em cada animal através da administração de indometacina (30 mg/kg sc), sendo que 6 horas depois, os animais foram sacrificados, seus estômagos foram retirados e abertos pela sua curvatura maior, lavados e fixados com alfinetes em pequenas plataformas de isopor, para observação com lupa entomológica (BHARGAVA et. al., 1973) e as extensões das lesões foram registradas atribuindo-se escores de acordo com a escala de Szabo, et. al , (1985) evidenciada abaixo:

1. Perda de pregas da mucosa	1 ponto
2. Descoloração da mucosa	1 ponto
3. Edema	1 ponto
4. Hemorragias	1 ponto
5. Número de petéquias	
• Até 10	2 pontos
• Mais de 10	3 pontos
6. Intesnsidade de ulceração	
• Úlceras ou erosão de até 1 mm	n x 2
• Úlceras ou erosão maiores que 1 mm	n x 3
• Úlceras perfuradas	n x 4

n= número de úlceras encontradas

3.2.2.7. Estudo da secreção gástrica por ligadura de piloro em ratos machos

Metodologia para a determinação do volume, do pH e da acidez titulável da secreção gástrica na mucosa de estômagos de ratos machos, tratados com veículo, com Ss-EtOH na dose de 25 mg/kg (p.o.) e ranitidina (50 mg/kg) após um período de jejum de sólidos de 24 horas.

Grupos de ratos (180-200g) foram anestesiados com éter etílico e submetidos a ligadura do piloro e administração intraduodenal do veículo, ranitidina (50 mg/kg) e com Ss-EtOH na dose de 25 mg/kg (p.o.). Após 4 horas, os animais foram sacrificados e tiveram seus estômagos retirados para determinação de: 1- volume; 2- pH; 3- acidez titulável da secreção gástrica, (SHAY et al.,1945).

3.2.3. Estudo da motilidade intestinal, utilizando o modelo do transito intestinal e sobre a diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos:

Teste A – Os animais permaneceram em jejum de sólidos por 12 horas, com fornecimento livre de água. Grupos de camundongos foram tratados por via oral com veículo (salina+tween), atropina (5 mg/kg), extrato Ss-EtOH nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg, ou morfina 2 mg/kg (s.c.), sendo que 30 minutos após o tratamento, receberam 0,2 ml (cada animal) de carvão ativado (10 %, via oral). Após 1h do tratamento inicial, esses animais foram sacrificados por deslocamento cervical e, em seguida, foi removido o intestino delgado, para determinar a distância percorrida pelo carvão do piloro até a última porção do intestino que contiver pelo menos 1 centímetro contínuo de carvão. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão da porcentagem do comprimento total do intestino delgado (STICKNEY & NORTHUP, 1959).

Teste B – Os animais permaneceram em jejum de sólidos por 12 horas, com fornecimento livre de água. Grupos de camundongos foram tratados oralmente com o veículo (salina+ tween), loperamida (5 mg/kg) ou Ss-EtOH (6,25; 12,5 ;25 e 50 mg/kg) , com 0,1 ml/10 g de peso. Após trinta minutos, foi administrado o óleo de rícino (0,1ml/animal) pela via oral e os animais foram

colocados separadamente em caixas forradas com papel, quantificando-se a defecação de fezes totais por 4 horas. Em um grupo não foi feito tratamento e nem foi administrado o óleo de rícino, para termos um controle fisiológico (AWOUTERS, 1978).

3.2.4. Análise Estatística

Os valores experimentais obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As análises estatísticas foram realizadas através da aplicação do teste ANOVA (one-way) seguida do teste Tukey para análise de significância entre as médias, e em relação ao controle. Os valores foram considerados estatisticamente significantes quando o $p < 0,05$. Foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism, versão 3.02.

4. RESULTADOS

4.1. TOXICIDADE AGUDA

4.1.1. Toxicidade aguda em camundongos e determinação da DL₅₀

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	TEMPO (min.)				
	30	60	120	180	240
ESTIMULANTE					
Hiperatividade	0	0	0	0	0
Agressividade	0	0	0	0	0
Tremores	0	0	0	0	0
Convulsão	0	0	0	0	0
Piloereção	0	0	0	0	0
DEPRESSOR					
Ptose palpebral	0	0	0	0	0
Sedação	0	0	0	0	0
Anestesia	0	0	0	0	0
Ataxia	0	0	0	0	0
Reflexo de endireitamento	0	0	0	0	0
Catatonía	0	0	0	0	0
Analgesia	0	0	0	0	0
Perda do reflexo palpebral	0	0	0	0	0
Perda do reflexo auricular	0	0	0	0	0
SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO					
Diarréia	0	0	0	0	0
Constipação	0	0	0	0	0
Lacrimejamento	0	0	0	0	0
Salivação	0	0	0	0	0
Cianose	0	0	0	0	0
OUTROS COMPORTAMENTOS					
Ambulação	0	0	0	0	0
Autolimpeza	0	0	0	0	0
Levantar	0	0	0	0	0
Escalar	0	0	0	0	0
Vocalização	0	0	0	0	0
Contorções abdominais	0	0	0	0	0
MORTE	0	0	0	0	0

Tabela1: Toxicidade aguda do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* (Ss-EtOH), na dose de 500 mg/kg e 2 g/kg, via oral, e de 500 mg/kg e 1000 mg/kg, via intraperitoneal. (0) Sem efeito; (-) efeito diminuído; (+) efeito aumentado.

O extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* (Ss-EtOH), na dose de até 2 g/kg, via oral e de 1 g/kg, via intraperitoneal, não demonstraram nenhum sinal de toxicidade evidente e não provocaram morte dos animais, sendo que dessa forma não foi possível o cálculo da DL₅₀.

Após 14 dias da administração do extrato Ss-EtOH (500 e 2000 mg/kg, via oral; 500 e 1000 mg/kg, via intraperitoneal) os órgãos vitais não apresentavam nenhuma alteração a nível macroscópico.

4.1.2. Determinação da citotoxicidade do extrato etanólico de *Sterculia striata* em eritrócitos de ratos.

Na avaliação da citotoxicidade em eritrócitos de ratos, o extrato etanólico de *Sterculia striata* (Ss-EtOH), nas concentrações de 1- 100 $\mu\text{g/mL}$ praticamente não induziram lise em eritrócitos de ratos, entretanto induziram lise nas maiores concentrações testada, mas num percentual inferior a 20%, sugerindo uma boa margem de segurança nas doses testadas em modelos animais utilizados no presente projeto.

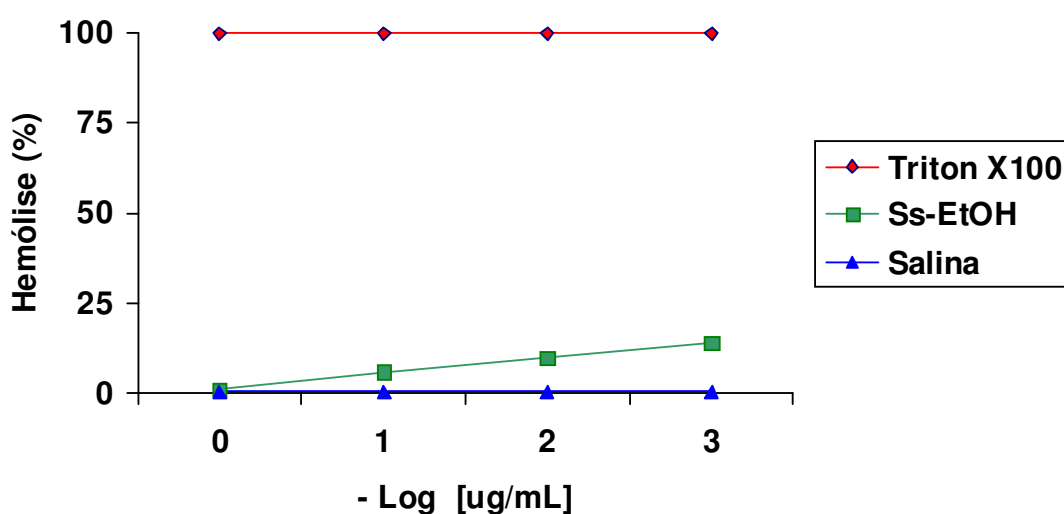


Figura 6: Efeito hemolítico em eritrócitos de rato incubados com extrato Ss-EtOH (1 - 1000 $\mu\text{g/mL}$ ■), por um período de 60 min em temperatura ambiente sob agitação constante. Como controle positivo foi usado Triton X-100 1 % (100 μL ; 100 % de hemólise ◆) e, salina como controle negativo (▲). Os experimentos foram feitos em triplicata. ANOVA “one-way” seguido do teste de Tukey.

4.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA

4.2.1. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos machos.

O Ss-EtOH reduziu a área de lesão da mucosa gástrica. As doses do extrato utilizadas, 12,5; 25 e 50 mg/kg promoveram redução da área de lesão de $20,5 \pm 1,13 \text{ mm}^2$ no controle (salina+tween) para $10,4 \pm 1,95$; $5,8 \pm 0,92$ e $12,1 \pm 0,87 \text{ mm}^2$, respectivamente. Os animais que receberam carbenoxolona (100 mg/kg) tiveram a área de lesão reduzida para $7,96 \pm 1,43 \text{ mm}^2$.

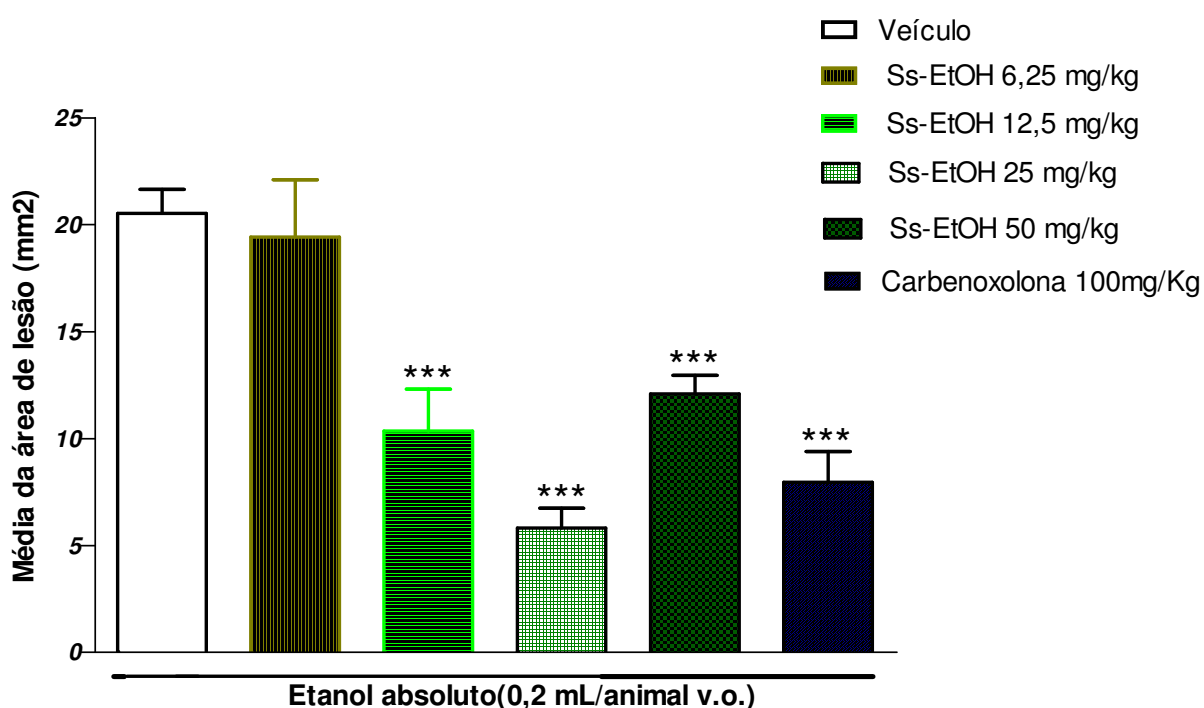


Figura 7: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos machos. Os dados representam a média \pm e.p.m. (n=5-12 animais por grupo), com análise estatística realizada pelo One-Way ANOVA, seguida do teste de Tukey, onde $***p < 0,001$ em relação ao veículo.

4.2.2 Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* em úlcera induzida por etanol acidificado em camundongos machos.

As doses de 25 e 50 mg/kg do extrato de *Sterculia striata* (Ss-EtOH) utilizadas, promoveram redução significativa da área de lesão da mucosa gástrica de $28,9 \pm 1,9 \text{ mm}^2$ no controle (veículo) para $12,6 \pm 2,75$ e $17,4 \pm 1,74 \text{ mm}^2$, de área de lesão respectivamente. Os animais que receberam carbenoxolona (100 mg/kg) tiveram a área de lesão reduzida para $12,4 \pm 1,84 \text{ mm}^2$.

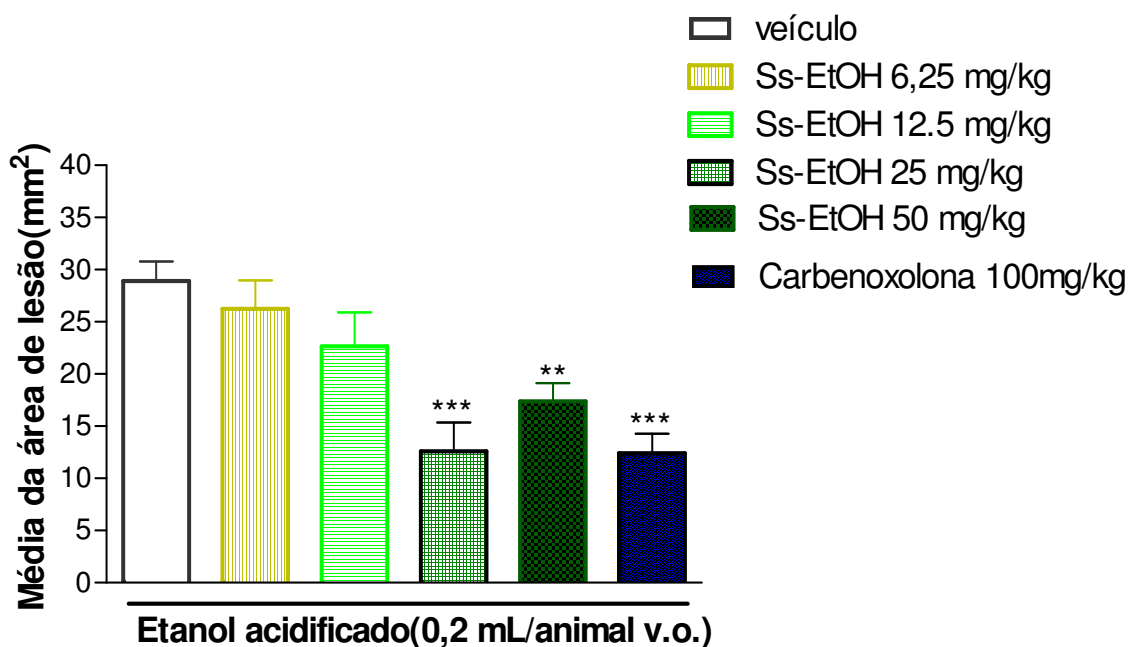


Figura 8: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol acidificado em camundongos machos. Os dados representam a média \pm e.p.m. (n=7-12 animais por grupo), com análise estatística realizada pelo One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde *** $p < 0,001$ em relação ao veículo.

4.2.3. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* sobre úlceras formadas após Isquemia e Reperfusão em ratos machos.

Os efeitos do extrato etanólico de *Sterculia striata* em ratos tratados com Ss-EEtOH nas doses de 6,25 mg/kg; 12,5 mg/Kg; 25 mg/Kg e 50 mg/Kg e submetidos a isquemia e reperfusão da artéria celíaca, foram plotados no gráfico seguinte.

O Ss-EtOH reduziu a área de lesão da mucosa gástrica. As doses do extrato utilizadas, 12,5 mg/Kg, 25 mg/Kg e 50 mg/Kg , promoveram redução da área de lesão de $33,03 \pm 2,9 \text{ mm}^2$ no controle (salina+tween) para $17,8 \pm 4,9$; $13,9 \pm 3,3$ e $18,9 \pm 3,4 \text{ mm}^2$, respectivamente, sendo essa redução estatisticamente significativa em relação ao controle. Os animais que receberam N-acetilcisteína (750 mg/kg) tiveram a área de lesão reduzida para $13,1 \pm 1,5 \text{ mm}^2$.

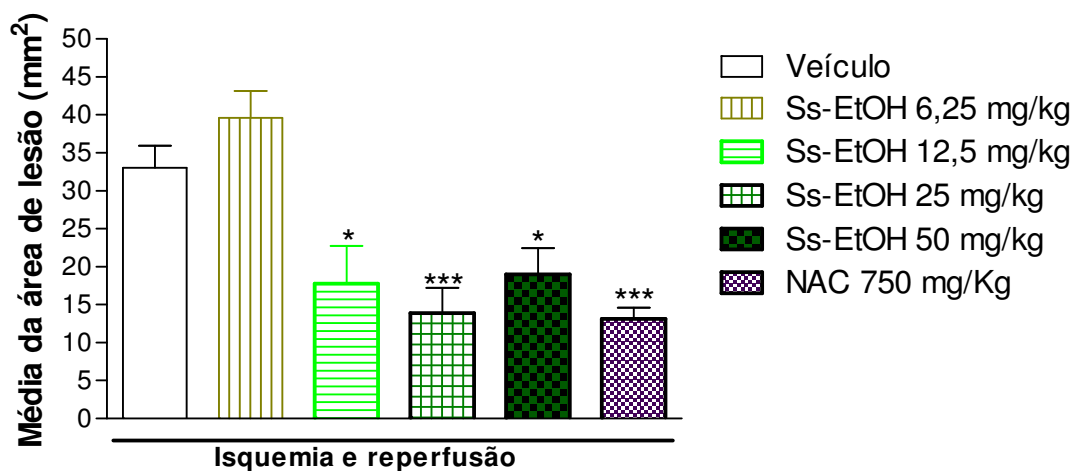


Figura 9: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* Ss-EtOH em úlceras induzidas por isquemia seguida de reperfusão em ratos. Os dados representam a média \pm e.p.m., com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde $***p < 0,001$ e $*p < 0,01$ em relação ao veículo e com um número de 6 a 12 animais por grupo.

4.2.4. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* sobre a atividade das enzimas antioxidantes da mucosa gástrica no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos machos

Os níveis de GSH ($\mu\text{g/g}$ de tecido) no estômago de camundongos foi de $854,3 \pm 88,6$, sendo que, após a administração do etanol ocorreu uma redução para $227,1 \pm 38,8$ (veículo). Quando do tratamento prévio com Ss-EtOH nas doses de 25 e 50 mg/kg a atividade do GSH elevou-se respectivamente para $568,09 \pm 62,6$ e $705,6 \pm 155,0$, sendo estatisticamente significativos em relação ao controle (salina+tween). Os animais que receberam N-acetilcisteína (750 mg/kg) tiveram um aumento nos níveis de GSH, de modo estatisticamente significativo, para $587,4 \pm 71,9$ ug/g de tecido em relação ao controle.

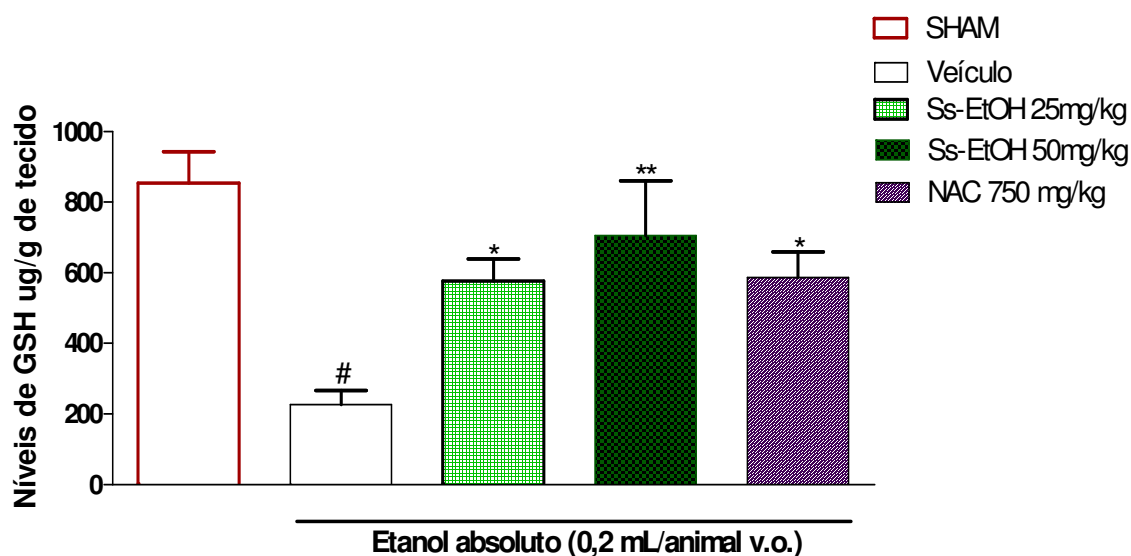


Figura 10: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre os níveis de GSH no estômago de camundongos tratados com N-acetilcisteína (750 mg/kg) ou Ss-EtOH (25 e 50 mg/Kg), e submetidos ao etanol absoluto. Os dados representam a média \pm e.p.m., com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, (n= 6- 7 animais por grupo), onde ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ em relação ao controle (veículo) e # $p < 0,001$ em relação ao sham .

A atividade da catalase (moles|min|ml de tecido) no estômago de camundongos foi de $3,06 \pm 0,17$, sendo que esta, após a administração do etanol reduziu para $0,94 \pm 0,07$ (veículo). Quando do tratamento prévio com Ss-EtOH nas doses de 25 e 50 mg/kg a atividade da catalase elevou-se respectivamente para $1,70 \pm 0,15$ e $1,63 \pm 0,09$, sendo estatisticamente significativos em relação ao controle(salina+tween). Também os animais que receberam N-acetilcisteína (750 mg/kg) tiveram um aumento da atividade da catalase, de modo estatisticamente significativo, para $1,79 \pm 0,19$ moles/min/mL de tecido.

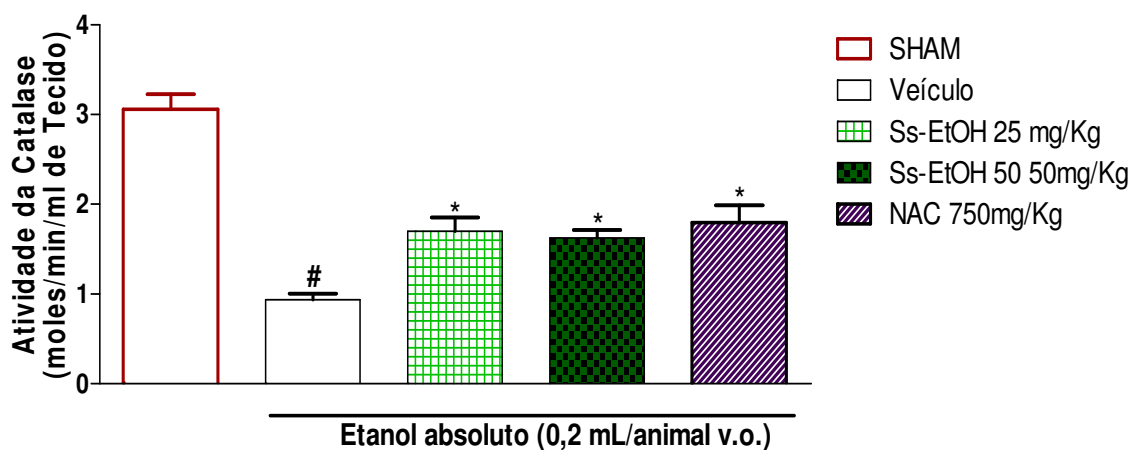


Figura 11: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre a atividade da catalase no estômago de camundongos tratados com N-acetilcisteína (750 mg/kg) ou Ss-EtOH (25 e 50 mg/Kg), em animais submetidos à administração de etanol. Os dados representam a média \pm e.p.m (n=5-7 animais por grupo), com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ em relação ao controle (veículo) e # $p < 0,001$ em relação ao sham .

4.2.5. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* sobre úlceras induzidas por administração de L-NAME, seguida de etanol, em ratos.

O Ss-EtOH 25 mg/Kg reduziu a área de lesão da mucosa gástrica de $29,0 \pm 1,8$ no controle (veículo) para $5,8 \pm 0,9$ mm². O L-NAME 20 mg/Kg aumentou a área de lesão para $50,4 \pm 6,2$ e reduziu para $35,48 \pm 4,3$ mm², administrando o L-NAME seguido da administração do Ss-EtOH 25 mg/Kg. A L-arginina também reduziu a área de lesão ($10,4 \pm 1,5$ mm²), e quando da administração em associação com o L-NAME houve um aumento da área de lesão ($34,5 \pm 2,4$ mm²).

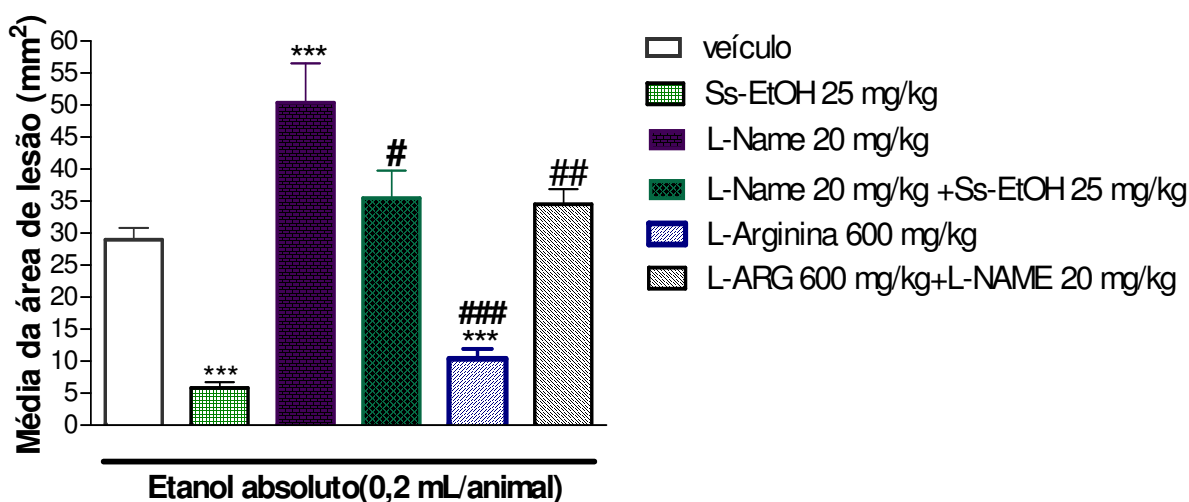


Figura 12: Efeito do extrato da casca etanólico de *Sterculia striata* sobre úlceras induzidas pela administração de L-NAME 20 mg/Kg, seguida por etanol, em ratos. Os dados representam a média \pm e.p.m. (n=6-10 animais por grupo) com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde *** p < 0,001 em relação ao veículo, ### p < 0,001, ## p < 0,05 e # p < 0,01 em relação ao L-NAME.

4.2.6. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* em úlcera induzida por indometacina em camundongos machos.

A administração da indometacina 30 mg/kg (sc.) induziu a formação de lesões gástricas, com escores de lesões de $35,5 \pm 3,3$ no controle (veículo), sendo que as doses do extrato utilizadas, 25 e 50 mg/kg, promoveram redução desses escores para respectivamente $28,5 \pm 3,28$ e $28,7 \pm 5,24$, contudo essas reduções não foram diferente estatisticamente em relação ao veículo. Os animais que receberam cimetidina (100 mg/kg) tiveram os escores de lesões gástricas reduzida para $0,14 \pm 0,14$.

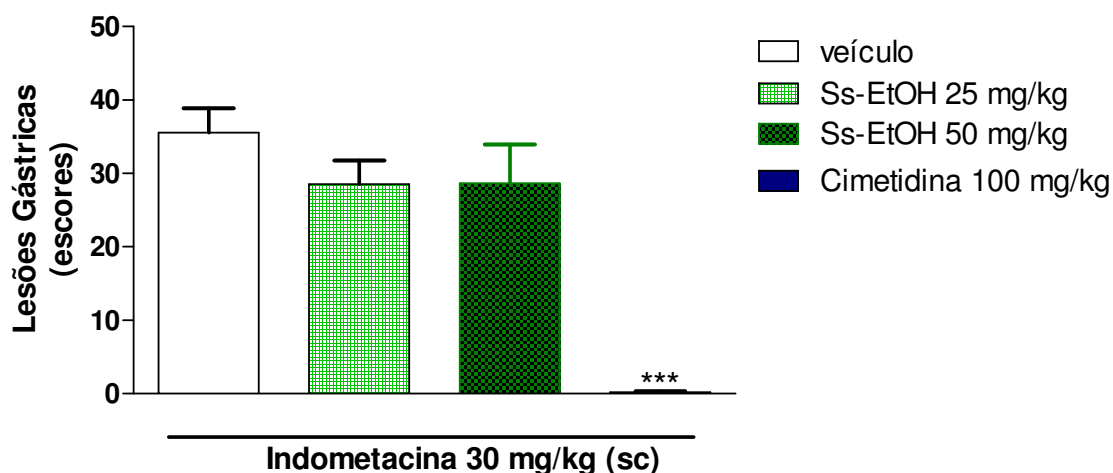


Figura 13: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* em úlcera induzida por indometacina em camundongos machos. Os dados representam a média \pm e.p.m. (n= 4-11 animais por grupo), com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde $***p < 0.001$ em relação ao controle.

4.2.7. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* sobre a secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos

Os resultados obtidos foram plotados em gráfico representando o pH, o volume e a acidez titulável da secreção gástrica em função do tratamento intraduodenal dos animais com salina, ranitidina (50 mg/kg) e Ss-EEtOH na dose de 25 mg/kg.

O Ss-EtOH 25 mg/kg, manteve o pH da secreção gástrica, que foi de $3,59 \pm 0,56$, em relação ao controle- salina+tween ($3,56 \pm 0,48$), e também manteve o volume de secreção gástrico, que no caso do extrato foi de $6,2 \pm 0,39$ ml, e no controle (veículo) foi de $6,09 \pm 0,58$ ml.

A acidez total não foi reduzida pelo Ss-EtOH 25 mg/kg, quando comparado ao controle (veículo), onde os valores do extrato e do controle foram respectivamente- $0,053 \pm 0,013$ e $0,036 \pm 0,009$ mEq[H⁺]/ml.

O anti-histamínico ranitidina aumentou o pH da secreção gástrica para $6,7 \pm 0,15$, reduziu a acidez total para $0,004 \pm 0,001$ mEq[H⁺]/ml e o volume secretado para $4,6 \pm 0,2$ ml, em relação ao controle (veículo).

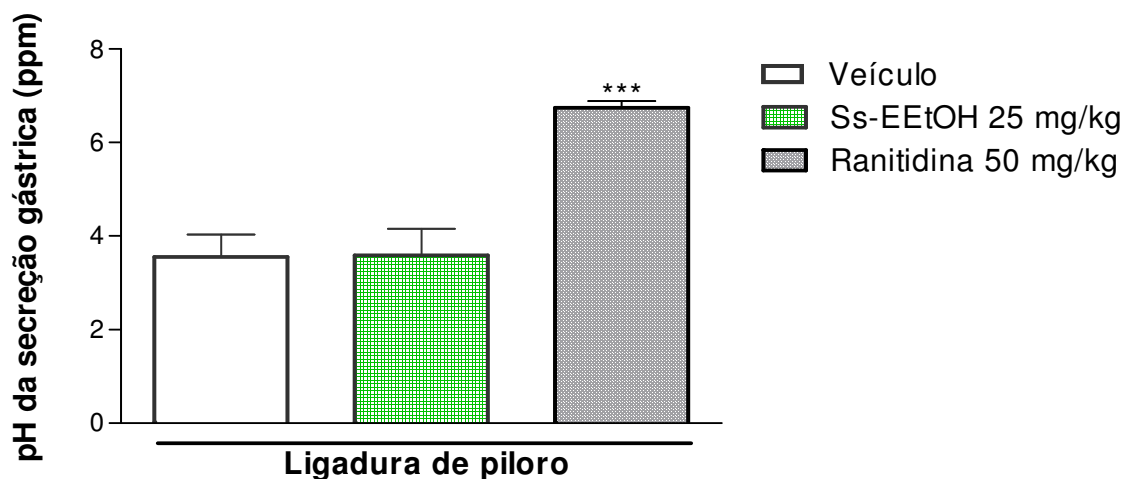


Figura 14: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre o pH da secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos. Os dados representam a média \pm e.p.m.(n= 10-12 animais por grupo), com análise estatística feita com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde $***p < 0.001$, em relação ao controle.

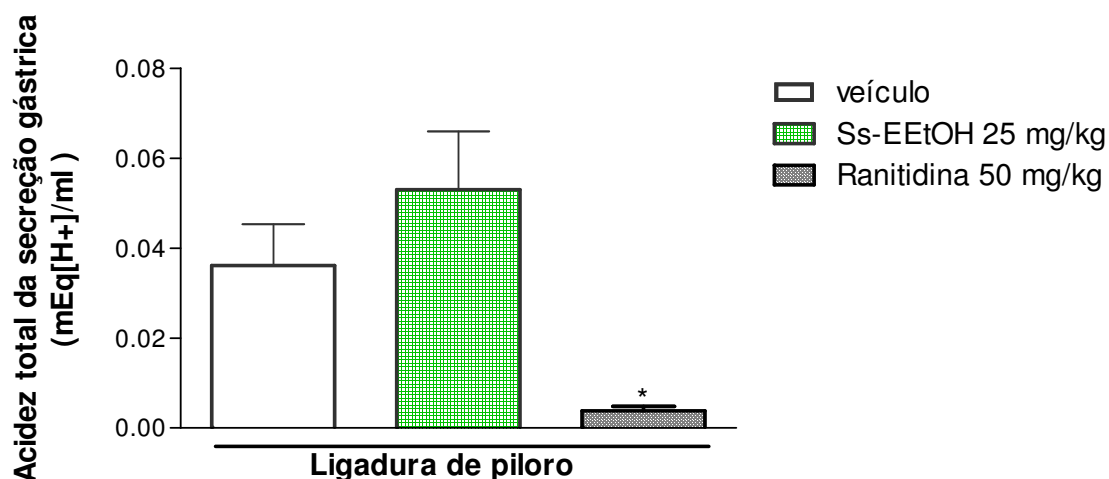


Figura 15: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* sobre a acidez total da secreção gástrica após ligadura de piloro em ratos. Os dados representam a média \pm e.p.m (n=11 animais por grupo), com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde $*p < 0.05$ em relação ao controle (veículo).

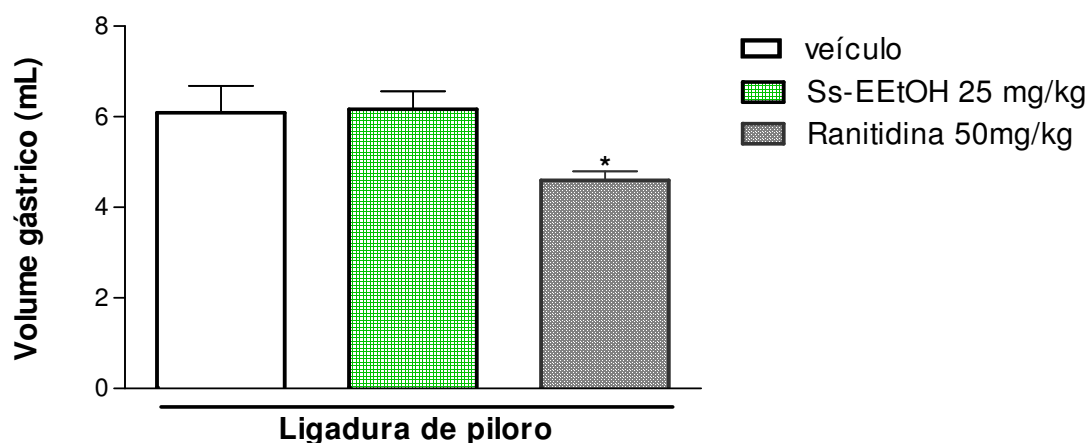


Figura 16: Efeito do extrato etanólico da casca da casca de *Sterculia striata* sobre o volume da secreção gástrica após ligadura de piloro. Os dados representam a média \pm e.p.m. (n=12 animais por grupo) com análise estatística realizada com One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde $*p < 0.05$ em relação ao veículo.

4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE Ss-EtOH SOBRE A MOTILIDADE GASTRINTESTINAL

4.3.1 Efeito do extrato etanólico da casca *Sterculia Striata* sobre o trânsito intestinal em camundongos.

A porcentagem da distância percorrida pelo carvão ativado no intestino delgado de camundongos foi de $70,6 \pm 2,4$; $64,2 \pm 3,3$ e $61,9 \pm 2,9\%$; após tratamento prévio com Ss-EtOH nas respectivas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg. Esses resultados não foram significativamente diferentes do grupo de animais que recebeu apenas salina +tween (veículo) onde o marcador percorreu $78,5 \pm 4,3\%$ do comprimento total do intestino. O grupo de animais que recebeu tratamento com atropina 5mg/kg apresentou $58,3 \pm 5,6\%$ de trânsito gastrointestinal. O grupo de animais que recebeu tratamento com morfina 2 mg/kg apresentou $33,4 \pm 4,2\%$ de trânsito. Esses resultados podem ser observados na figura abaixo.

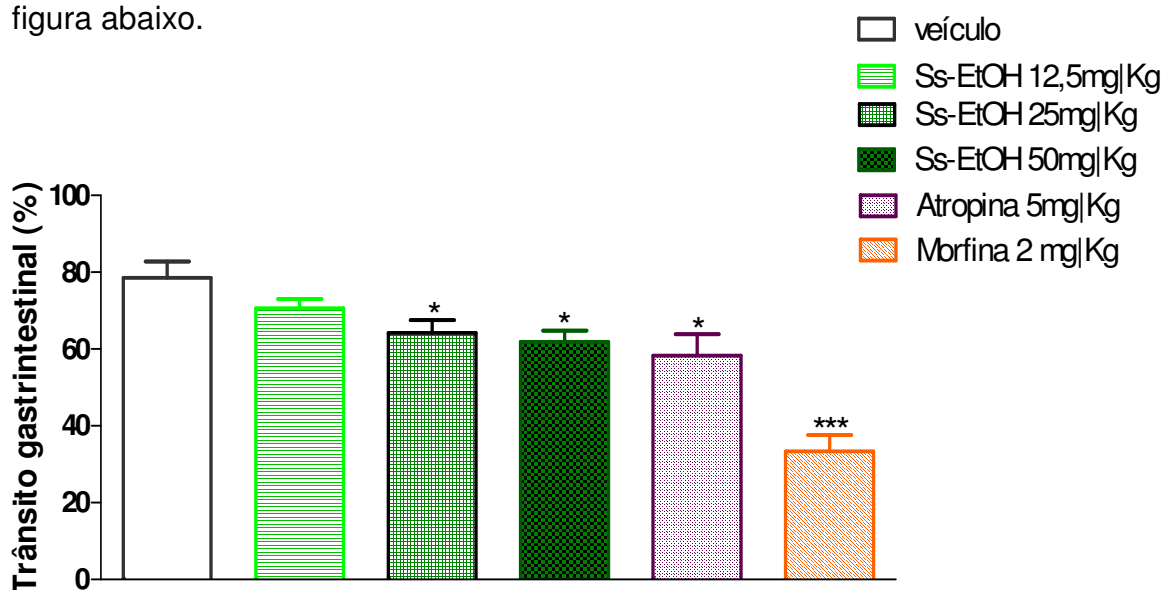


Figura 17: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* (12,5 mg/kg, 25 mg/kg e 50 mg/kg v.o.), do veículo (salina+tween, 0,1ml/10g - vo), da atropina (5mg/kg – vo) e morfina (2mg|Kg sc) , sobre o trânsito gastrointestinal, em camundongos . Os resultados estão expressos como médias da porcentagem da distância percorrida pelo carvão \pm erro padrão, sendo que a comparação estatística entre os grupos (n=4-12) foi realizada através da análise da variância One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, onde * $p < 0,05$ em relação ao veículo.

4.3.2. Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* sobre a diarreia induzida pelo óleo de rícino (0,1 ml/10 g - vo) em camundongos.

O número de episódios totais após administração do óleo de rícino em camundongos foi de $9,7 \pm 1,5$; $11,3 \pm 1,5$ e $10,1 \pm 1,0$; após tratamento prévio com Ss-EtOH nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg respectivamente. Esses resultados não foram significativamente diferentes do grupo de animais que recebeu apenas salina +tween (controle) onde o número de episódios totais foi de $12,2 \pm 1,2$. O grupo de animais que recebeu tratamento com Loperamida 5 mg/kg apresentou um número de episódios totais de $0,9 \pm 0,4$.

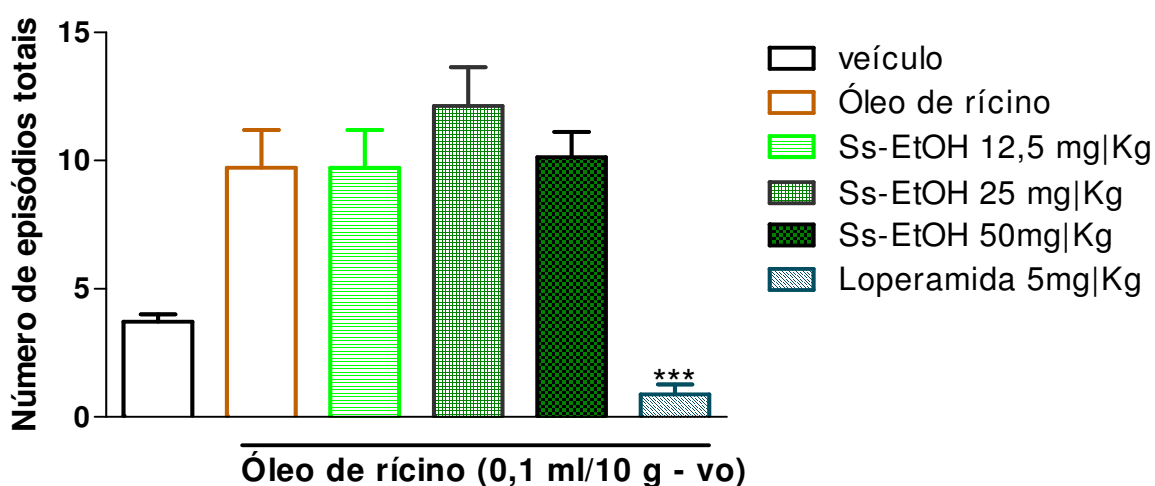


Figura 18: Efeito do extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* (12,5 mg/kg, 25 mg/kg e 50 mg/kg v.o.), do veículo (salina+Tween, 0,1 ml/10 g - vo) e da loperamida (5,0 mg/kg - vo), sobre a diarreia induzida pelo óleo de rícino (0,1 ml/10 g - vo) em camundongos. Os resultados estão expressos como médias \pm erro padrão das médias do número de episódios totais, determinados em 4 horas, em um grupo de 7 animais, com análise estatística One-Way ANOVA seguida do teste Tukey, sendo *** $p < 0.001$ em relação ao grupo que foi administrado somente o óleo de rícino.

5. DISCUSSÃO

No extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* já foram isoladas substâncias do tipo triterpenos, em especial o lupeol, que já possui atividade antioxidante descrita, além do que em sua estrutura possui uma hidroxila na posição 3, que segundo Navarrete (2002), está envolvida com a atividade gastroprotetora, sendo isso inclusive observado na Carbenoxolona, que possui atividade gastroprotetora comprovada.

No entanto antes da realização de testes experimentais para verificar o possível efeito gastroprotetor do Ss-EtOH, o extrato foi avaliado quanto a toxicidade, sendo que nenhum efeito tóxico agudo foi observado neste trabalho (Tabela1), tanto em animais fêmeas quanto em machos, isso com a administração de até 2000 mg/Kg (via oral) e 1000 mg/Kg (via i.p.), o que representa 40 e 20 vezes a maior dose estudada neste trabalho. Também conforme figura 6, verificamos que o extrato apresenta uma boa margem de segurança nas doses testadas em modelos animais utilizados no presente trabalho, uma vez que o mesmo, quando comparado a um agente hemolítico padrão, teve um discreto efeito tóxico nas hemácias, isso em doses bem mais elevadas que as utilizadas nos procedimentos em que o extrato teve efeito antiulcerogênico.

O sucesso da terapêutica em prevenir ou curar lesões gástricas ulcerativas não depende somente do bloqueio da secreção de ácido, mas também do aumento de fatores protetores na mucosa gástrica (DAJANI e KLAMUT, 2000). Assim, os modelos experimentais realizados para a avaliação dos efeitos gastroprotetores foram selecionados por envolverem diferentes agentes e mecanismos, conhecidos na indução de lesões gástricas.

A formação de lesões úlcerativas em modelos experimentais, assim como as decorrentes em humanos, envolve a explicação clássica, de que elas são provocadas por um desequilíbrio entre os fatores protetores e lesivos da mucosa gástrica (MAITY *et al.*, 2003).

No modelo de úlcera induzida pelo etanol, os danos causados pelo etanol na mucosa gástrica devem-se ao distúrbio na microcirculação da mucosa, isquemia e ao aparecimento de radicais livres, degranulação dos mastócitos, inibição das prostaglandinas e diminuição da produção de muco (OATES & HAKKINEN, 1988; SAMONINA *et al.*, 2004). A formação de radicais livres durante a vasoconstrição promove dramáticas mudanças em nível celular induzindo a morte celular, pois os radicais livres são extremamente reativos e atacam principalmente os constituintes celulares, como ácido nucléico, proteínas ou lipídeos, além de também induzir a peroxidação lipídica, levando a formação de compostos tóxicos, como aldeído e novos radicais livres (GLAVIN e SZABO, 1992). Ademais, promovem aumento da permeabilidade vascular, provocando danos visíveis à mucosa, havendo uma diminuição da função da barreira mucobicarbonato e do grupamento sulfidrílico não-protéico (GSH), ocorrendo o aparecimento de congestão e hemorragia (REPETTO e LLESUY, 2002; SIEGMUND, 2003; WOODS *et al.*, 1988).

A substância carbenoxolona, que é utilizada como um padrão de gastroproteção nesse procedimento age induzindo enzimas de síntese de mucoproteínas, sendo que a concentração e o total de polissacarídeos no suco gástrico de cobaias e ratos aumentam significativamente após administração de carbenoxolona em dose de 100 mg/kg, pois esta substância altera as composições de galactose, glicosamina e galactosamina, no muco, sendo que a concentração do muco produzida no estômago fica significativamente aumentada após administração da carbenoxolona, ocorrendo também a inibição da atividade da pepsina, que é acompanhada de uma substancial redução na secreção de íons hidrogênio pelas células parietais, isso verificado em experimentos com ratos pré-tratados com carbenoxolona (SIRCUS, 1972), e também neste trabalho quando do pré-tratamento com carbenoxolona, nas figuras 7 e 8, houve uma proteção contra a ulceração gástrica em ratos e em camundongos.

O Ss-EtOH administrado por via oral, nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg, foram eficazes em proteger a mucosa gástrica contra as lesões induzidas pelo etanol absoluto (0,2 ml/animal), conforme figura 7, onde o extrato reduziu as lesões induzidas pelo agente necrotizante, etanol absoluto (v.o.), indicando possível atividade citoprotetora do extrato, isso pode ser comparado ao efeito de

um dos componentes majoritários, o lupeol, que segundo Barbastefano (2007), tem atividade antiulcerogênica e cicatrizante .

Mizui & Douteuchi (1983), relata que a administração via oral de uma solução de HCl/etanol, em camundongos, produz lesões necrotizantes na mucosa gástrica, principalmente devido a intensa debilidade da camada protetora de muco e à exacerbação da secreção ácida-péptica. Esses danos podem ser devidos à ação direta desse agente lesivo sobre o epitélio gástrico causando estresse oxidativo, o que leva a peroxidação lipídica e conseqüentemente surgem lesões ulcerativas, na mucosa. Também, o tratamento oral com etanol induz a solubilização dos constituintes do muco no estômago, aumenta o fluxo de sódio e potássio no lúmen, aumenta a histamina e pepsina liberada, e diminui os níveis teciduais de DNA, RNA e proteínas, levando a uma injúria no tecido. Dessa forma o etanol induz a formação de úlcera gástrica e a presença do HCl acelera o processo. Os danos podem levar a uma estase no fluxo sanguíneo gástrico, contribuindo para o desenvolvimento injúrias teciduais de aspecto hemorrágico e necrótico (COELHO et al., 2006; ROBERT et al., 1979). Esta ação direta no epitélio gástrico também estimula os mastócitos e medeia a liberação de mediadores vasoativos semelhantes a histamina (OATES e HAKKINEN, 1988).

O extrato (Ss-EtOH) nas doses de 25 e 50 mg/kg foram eficazes em proteger a mucosa gástrica contra as lesões induzidas pelo etanol acidificado, pois reduziram significativamente a formação de úlcera quando comparado ao grupo controle (veículo), conforme figura 8. A dose de Ss-EtOH 12,5 mg/kg, neste procedimento que teve uma agressão acentuada pelo HCl, não apresentou redução significativa das lesões gástricas frente ao grupo controle (veículo).

No experimento de isquemia e reperfusão em ratos, a isquemia, por si só, é bastante lesiva, mas a reperfusão do tecido isquêmico pode levar a uma série de complicações, que podem aumentar as lesões teciduais, além de provocar complicações sistêmicas. Essas alterações são agravadas ainda mais com a reperfusão, pois esta desencadeia o acúmulo de radicais livres, que atacam e lesam as membranas celulares, atraem neutrófilos e liberação de mediadores inflamatórios (RIBEIRO e YOSHIDAW, 2005). Dentre todas essas alterações, aponta-se o aumento de permeabilidade capilar e a produção de

radicais livres do oxigênio como os principais determinantes da instabilidade hemodinâmica e subsequente mortalidade (UEDA et .al.,1989 a).

Nesse procedimento de isquemia seguida de reperfusão, um dos mais importantes fatores causadores de lesão gástrica após reperfusão é a geração de radicais livres do oxigênio, através do sistema enzimático da hipoxantina-xantina oxidase (UEDA et.al. 1989b). Durante a fase de isquemia, ocorre diminuição do aporte de oxigênio para o tecido acometido, levando à inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial e à queda da produção e estoque de adenosina trifosfato (ATP). No entanto, o estoque de ATP continuaria sendo consumido e seria degradado à adenosina difosfato (ADP) e adenosina monofosfato (AMP) e, posteriormente, em adenosina, inosina e hipoxantina. A falta de energia celular causaria a falência da bomba de sódio-potássio (Na^+/K^+) e, devido à falência da bomba, passaria a haver maior acúmulo de Na^+ intracelular e perda de K^+ para fora da célula, com conseqüente edema celular e de suas organelas. Ao mesmo tempo, estaria ocorrendo influxo de Ca^{2+} e de cloreto para o meio intracelular, com acúmulo de Ca^{2+} no citosol, onde este acúmulo de Ca^{2+} no citosol provocaria a ativação da protease calpaína que, por sua vez, promoveria a quebra de uma ponte peptídica da enzima xantina desidrogenase (XD), levando à formação da enzima xantina oxidase (XO), que necessita de oxigênio para realizar a conversão da hipoxantina em xantina. Assim, na fase de isquemia, portanto, ocorreria acúmulo dessas duas substâncias e com a reperfusão, a hipoxantina seria então oxidada à xantina, e esta, em ácido úrico, tendo como subproduto dessa reação a formação do ânion superóxido. Este é instável, transformando-se em peróxido de hidrogênio, espontaneamente ou pela ação da superóxido dismutase (SOD), e o peróxido de hidrogênio, por sua vez, é transformado em água pela ação da catalase e glutathiona peroxidase. Como o substrato (hipoxantina) para xantina oxidase ficou acumulado durante a isquemia, a produção de radical livre na reperfusão acaba sobrepujando a capacidade de neutralização dos antioxidantes endógenos, e esses radicais passam a exercer livremente as suas ações deletérias. O radical superóxido promove a liberação do íon ferroso da ferritina, o qual reage com o peróxido de hidrogênio, formando um radical hidroxila, que é altamente tóxico (RIBEIRO e YOSHIDAW, 2005).

Os radicais livres e, em particular, o radical hidroxila iniciam a peroxidação das membranas celulares, liberando ácido aracdônico e radicais livres lipídios peroxil (UEDA et.al., 1989b). O ácido aracdônico é metabolizado pela cicloxigenase em tromboxano, prostaglandinas do tipo PGE₁ e PGI₂, ou pela lipoxigenase, em leucotrienos do tipo LTB₄, C₄, D₄ e E₄. O radical peroxil promove lipoperoxidação adicional, retirando um hidrogênio do ácido graxo, dando origem a uma reação em cadeia, cujo produto final é o dialdeído malônico (MDA) e cuja dosagem é muito utilizada como marcador de lesões de isquemia e reperfusão. Os radicais livres podem, também, atuar de forma indireta, atraindo e ativando neutrófilos nos tecidos envolvidos. Os neutrófilos ativados secretam enzimas proteolíticas (mieloperoxidases, elastases e proteases) e também sintetizam prostaglandinas, liberam radicais livres, além de ocluírem a microcirculação na fase de reperfusão, dificultando o fluxo sanguíneo (RIBEIRO e YOSHIDAW, 2005).

Nos procedimentos de isquemia e reperfusão, e em outros que levam a produção de radicais livres, utilizou-se como controle a N-acetilcisteína (NAC), que é um antioxidante padrão, bastante usado terapeuticamente devido à sua propriedade de ser um precursor da glutathiona (DE FLORA et al, 1991), possuindo, portanto, um papel-chave na homeostase celular, visto que a depleção de glutathiona pode causar morte celular devido à peroxidação lipídica e declínio nos níveis de tiol-proteínas (REED e FARRISS, 1984). NAC também pode atuar diretamente reduzindo os níveis de EROs *in vivo* e *in vitro* (ARUOMA et al., 1989). Dessa forma, a N-acetilcisteína pode atuar na fosforilação oxidativa através de dois mecanismos: protegendo proteínas da fosforilação oxidativa contra o dano oxidativo através da manutenção dos grupos sulfidrílicos (SH) que são essenciais para a atividade enzimática e evitando a peroxidação lipídica das membranas mitocondriais, o que poderia diminuir a atividade dos complexos (BANACLOCHA et al., 1997).

Assim, o NAC diminuiu as lesões gástricas produzidas no experimento de isquemia e reperfusão em ratos, sendo isto verificado na figura 9, e aumentou a atividade de enzimas antioxidantes, como a catalase e o GSH, que verificamos respectivamente nas Figuras 11 e 10.

De acordo com os resultados obtidos, no procedimento de isquemia ocasionada em ratos por clampeamento da artéria celíaca, seguida de reperfusão,

houve uma redução na área gástrica ulcerada em animais tratados com Ss-EtOH nas doses de 25 mg/kg e 50 mg/kg em relação ao controle (veículo) (figura 9), sendo que os resultados evidenciados neste experimento sugerem uma provável ação antioxidante ao extrato, vindo a validar os resultados obtidos com os procedimentos, de indução de úlcera com etanol e com etanol acidificado, que também são métodos de indução de úlcera via processos oxidativos, vistos nas figura 7 e 8.

Já é sabido que a inflamação aguda no estômago é acompanhada por infiltração de neutrófilos na mucosa gástrica, estes produzem anions superóxidos, que reagem com os lipídios celulares, levando a formação de peróxidos de lipídios, que são metabolizados a malondialdeído (MDA) e a 4-hidroxinonenal (4-HNE) (KWIECIEN et al., 2002a). O organismo possui muitos sistemas enzimáticos, que capturam as espécies reativas de oxigênio e previnem sua ação destrutiva (KWIECIEN, et al., 2002a). A catalase é uma enzima antioxidante endógena, que acelera a degradação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Figura 3) (HALLIWELL, 1990; RIBEIRO e YOSHIDAW, 2005; CNUBBEN, et. al., 2001). Outro sistema antioxidante são os grupamentos sulfidrílicos, que participam da proteção da mucosa pela ligação aos radicais-livres, assim como vimos com o NAC, e por formar pontes de dissulfeto entre as subunidades do muco de maneira a impedir a sua dissociação (AVILA et al., 1996). Esses grupamentos estão presentes na glutathione, uma substância endógena que, em sua forma reduzida, tem importância na redução do estresse oxidativo, por eliminar radicais livres, reduzir os peróxidos e se complexar com compostos eletrofílicos de maneira a proteger estruturas celulares protéicas, DNA e lipídeos, além de proteger a célula de outros produtos tóxicos (KLAASSEM et al., 1985; HAYES e MCLELLAN, 1999; KIMURA et al., 2001).

Na tentativa de determinar a participação de fatores protetores na mucosa gástrica contra o etanol, quantificamos a concentração de grupos sulfidrílicos não-protéicos (GSH), fator importante na proteção da mucosa gástrica em animais com lesão gástrica induzida pelo etanol (REPETTO e LLESUY, 2002). Nesses experimentos, o etanol induziu lesões extensas na mucosa gástrica dos animais com diminuição dos grupos sulfidrílicos não-protéicos da mucosa da parede gástrica dos animais (Figura 10).

Além da sua ação como um antioxidante químico, o GSH também atua na primeira linha de defesa antioxidante, como um cofator da glutathione peroxidase, reduzindo as EROs e havendo uma concomitante formação de dissulfeto oxidado, GSSG (CNUBBEN et al., 2001).

Na avaliação do efeito do Ss-EtOH 25 e 50mg/kg, sobre a atividade das enzimas antioxidantes (GSH e Catalase) após a indução das lesões, observou-se que o mesmo aumentou a atividade do GSH (figura 10) de modo significativo nas doses de 25 e 50mg/kg, assim como a da catalase (figura 11) nas mesmas doses. Estes valores vem a validar outros resultados, como no caso da isquemia e reperfusão, dentre outros, sugerindo um efeito protetor gástrico via atividade antioxidante.

Ainda foi mostrado recentemente que BH₄, que é um essencial cofator para NOS, e fundamental para a síntese do NO, tem efeito protetor contra radicais livres, possuindo atividade antioxidante, sendo que tratamento com BH₄ reduziu lesões gástricas provocadas por isquemia seguida de reperfusão do estômago (ISHII et. al , 2000).

O óxido nítrico (NO) tem sido reconhecido recentemente como um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica, devido a sua habilidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e a produção de muco, e de inibir a aderência de neutrófilos às células endoteliais. O NO endógeno também retarda o esvaziamento gástrico e a atividade motora antral sem afetar a atividade mioelétrica gástrica (BAGGIO, 2004).

O NO é sintetizado via enzima óxido nítrico sintase (NOS) a partir de oxigênio e L-arginina. O L-NAME inibe a enzima óxido nítrico sintase, diminuindo assim o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, diminuindo a atividade da superóxido dismutase, ocasionando um aumento das espécies reativas de oxigênio, além de diminuir a cicatrização de úlcera gástrica em ratos, sugerindo mais ainda a participação do NO na proteção gástrica (TODA e HERMAN, 2005).

Sabendo-se da participação do NO na proteção gástrica, foi verificado se a via NOS está envolvida de alguma forma na possível citoproteção gástrica de Ss-EtOH. O tratamento com Ss-EtOH (25 mg/kg), administrado sozinho, foi capaz de modificar as lesões gástricas induzidas por etanol, reduzindo-as de modo significativo (Figura 12). Administrando o L-NAME e em seguida o Ss-EtOH

25 mg/Kg, houve um aumento de forma significativa na área de lesão ulcerativa em mm², quando comparado ao controle, pois uma vez inibida a enzima NOS pela ação do L-NAME, o extrato não teve sua ação gastroprotetora evidenciada. O extrato teve efeito semelhante a L-arginina, onde esta sozinha diminuiu a lesão gástrica, pois a mesma serve de substrato para produção de óxido nítrico. Da mesma forma associando-se a L-arginina ao L-NAME, houve um aumento das lesões, assim como aconteceu ao extrato. Assim é sugerido que o extrato pode está agindo de forma semelhante a L-arginina, de alguma forma aumentando a produção de NO. Sabe-se que a NOS requer O₂, NADPH, tetrahydrobiopterina (BH₄), flavina adeninucleotídeo (FAD), flavina mononucleotídeo (FMN) e heme como cofatores para exercerem sua atividade (TODA e HERMAN, 2005); também o Ca²⁺ se liga à calmodulina forma-se o complexo Ca²⁺/calmodulina, sendo este responsável pela ativação da NOS. Assim, pode ser que o extrato esteja ativando a enzima NOS diretamente para produzir óxido nítrico, ou agindo de forma indireta ativando os cofatores necessários à atividade da NOS, inclusive ativando a formação do complexo Ca²⁺/calmodulina, sendo que já foi relatado que o cofator BH₄, por si só, tem efeito protetor contra radicais livres, possuindo atividade antioxidante (ISHII et. al., 2000), vindo a validar mais ainda os dados encontrados nos procedimentos de úlcera induzida por etanol e isquemia seguida de reperfusão, que sendo foi verificado diminuição das lesões gástricas induzidas e aumentos das enzimas antioxidantes, como a catalase e GSH.

As úlceras gástricas causadas por drogas antiinflamatórias não-esteroidais (indometacina) envolvem mecanismos de inibição das ciclooxigenases I e II, de maneira a promover redução da produção de prostaglandinas. As prostaglandinas E₂ e I₂ atuam na síntese de muco e bicarbonato, na regulação da secreção ácida e do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica (CURTIS et al., 1995; HALTER et al., 2001). Segundo Suzuki (2000), outros fatores como a hipermotilidade gástrica e infiltração ou ativação de neutrófilos estariam envolvidos com os processos iniciais de formação das lesões. Assim, a redução dos níveis de prostaglandinas compromete a barreira mucosa que é composta de muco e bicarbonato, sendo que as prostaglandinas PGE₂ que também iriam proteger a mucosa via inibição da motilidade gástrica terão esse efeito comprometido, facilitando a formação de lesões causadas pelas secreções

gástricas. Também, a indometacina é capaz de provocar o aumento na produção de leucotrienos, em especial, leucotrieno C₄, que leva a vasoconstrição da mucosa gástrica de ratos, levando a estase nas arteríolas e vênulas submucosas (WHITTLE et. al., 1985).

A gastrina e o mediador neuronal simpático Peptídeo Ativador de Adenilato Ciclase Pituitário (PACAP) estimulam a síntese de histamina, onde esta liberada se difunde para as células parietais vizinhas e estimula a secreção ácida pela interação com os receptores H₂ expressos na superfície da célula parietal (PRINZ et al., 2003). E a cimetidina inibe a produção de ácido no estômago, competindo de modo reversível com a histamina, pelos receptores H₂, presentes na membrana basolateral das células parietais (GOODMAN & GILMAN, 2006), o que foi observado com a administração da cimetidina 100 mg/kg, conforme figura 13.

No experimento de úlceras induzidas por indometacina, o extrato Ss-EEtOH, tanto na dose de 25 como na de 50 mg/kg, não tiveram efeito gastroprotetor significativo, diferentemente da cimetidina 100 mg/kg, conforme verificado na figura 13. Estes resultados podem sugerir que o efeito gastroprotetor do extrato possivelmente não envolve o aumento da produção de prostaglandinas endógenas ou inibição de leucotrienos.

Segundo Shay et. al. (1945) obter quantidades satisfatórias de suco gástrico em estômago de rato em jejum para análise é muito difícil; assim para se obter semelhantes quantidades de suco gástrico faz-se uma ligadura no piloro o que permite o suco gástrico se acumular no estômago. Quando do sacrifício dos ratos, após algumas horas da ligação do piloro, o estômago é distendido pelo acúmulo do suco gástrico, o que ocasiona extensas ulcerações. Estas lesões gástricas podem ser explicadas pelo aumento da atividade da pepsina no conteúdo gástrico.

Ao proceder a ligadura de piloro, as ulcerações são formadas também em decorrência da hipersecreção gástrica. Acredita-se que esta hipersecreção ácida seja estimulada por reflexo vago-vagal, em decorrência da distensão gástrica provocada pelo aumento do volume gástrico devido à obstrução do piloro. Este procedimento estimula a secreção do hormônio gastrina, cuja função no trato gástrico é estimular as células parietais a secretar HCl (BAGGIO et al., 2003).

A possível atividade anti-secretora do extrato foi estudada no modelo de ligadura do piloro com administração via intraduodenal. A utilização desta via é importante para investigar a atividade sistêmica do composto, evitando o contato direto das substâncias testes com a mucosa gástrica dos animais (BARBASTEFANO, 2007).

O Ss-EtOH foi comparado com um anti-histamínico (antagonista H₂) ranitidina 50 mg/kg, e com o veículo, sendo os parâmetros avaliados neste procedimento : acidez total, pH e volume do conteúdo gástrico. O extrato de Ss-EtOH não produziu alterações significativas em nenhum dos parâmetros citados, diferentemente da Ranitidina 50 mg/kg, que reduziu a secreção ácida e elevou o pH gástrico, conforme Figuras 14, 15 e 16. Portanto, o mecanismo pelo qual o extrato protege a mucosa gástrica possivelmente não envolve inibição da secreção ácida gástrica, pois na dose de Ss-EtOH testada (25 mg/kg), foi mantido os parâmetros analisados, principalmente o volume do conteúdo gástrico e o pH.

A avaliação dos efeitos do Ss-EtOH sobre a motilidade gastrintestinal foi realizada utilizando-se o modelo de trânsito intestinal em camundongos e o modelo de diarreia induzida pelo óleo de rícino em camundongos.

No modelo de trânsito intestinal, o Ss-EtOH nas doses de 25 e 50 mg/kg conseguiram promover inibição significativa da motilidade, embora com pequeno efeito, quando comparado ao veículo, sendo verificado na figura 17.

No modelo de diarreia, utilizou-se o óleo de rícino como indutor da diarreia, que é extraído das sementes da *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) e utilizado como laxante, sendo o ácido ricinoléico o principal componente químico responsável pela ação laxante do óleo, pois reduz a absorção de líquido e eletrólitos e estimula o peristaltismo intestinal (BAGGIO, 2004).

O modelo experimental de diarreia induzida pelo óleo de rícino foi padronizado através da determinação do total de episódios (fezes). A administração do Ss-EtOH aos animais não alterou o parâmetro analisado, conforme figura 18, ou seja, o extrato não influenciou no peristaltismo aumentado pelo óleo.

Os opióides que foram utilizados nos modelos de motilidade gástrica in vivo, agem por diversos mecanismos, quer através de receptores μ ou δ , presentes em nervos entéricos, células epiteliais, e músculo. Dentre estes

diversos mecanismos estão presentes efeitos sobre a motilidade intestinal (receptores μ) e secreção intestinal (receptores δ). A morfina e outros agonistas geralmente diminuem a secreção de ácido clorídrico, por efeitos indiretos, incluindo o aumento da secreção de somatostatina do pâncreas que reduz a liberação de acetilcolina. Assim mais uma vez verifica-se a relação entre a diminuição da motilidade e a diminuição da secreção gástrica, já correlacionada com as prostalandinas. Sendo que, baixas doses de morfina diminuem a motilidade gástrica, prolongando assim, o tempo de esvaziamento gastrintestinal (GOODMAN & GILMAN, 2006).

A Loperamida é um ativo agente antidiarreico, com atividade em receptores opióides μ , diminuindo a motilidade, aumenta o tônus do esfíncter anal, além de possuir atividade antissecreatória; já a atropina age por mecanismo anticolinérgico, inibindo os efeitos da acetilcolina interagindo com os receptores colinérgicos presentes no TGI (GOODMAN & GILMAN, 2006).

Assim os dados obtidos sugerem que a Ss-EtOH possui efeito gastroprotetor, mediante os fatores agressores etanol, etanol acidificado, processo de isquemia seguido de reperfusão, possuindo ação antioxidante, comprovada pelo aumento da atividade do GSH e da catalase, onde a via NOS possivelmente faz parte do mecanismo de ação. Também observamos que a Ss-EtOH não reduz a motilidade intestinal em situações induzidas e inibindo muito pouco o trânsito intestinal, de modo que o mecanismo do efeito gastroprotetor, possivelmente não possui envolvimento do tônus muscular, até por conta deste efeito esta relacionado com prostaglandinas, o que foi verificado que este extrato não altera, sendo que as doses que melhor diminuíram as lesões gástricas, produzidas por agentes agressores, não tiveram um bom efeito inibitório na motilidade, conforme experimento de diarreia (Figura 18) e um pequeno efeito inibitório no modelo de trânsito intestinal (figura 17), sendo que ainda conforme Tabela 1, verificamos que o extrato mesmo em altas doses não causa constipação, ou seja basicamente não tem efeito a nível de motilidade gastrintestinal.

Também é interessante colocar que, o lupeol, identificado como componente majoritário da espécie *Sterculia striata*, em ensaios farmacológicos realizados em outros trabalhos com as espécies *Vernonia polyanthes* Less. e

Vernonia ferruginea Less., foi verificado que o mesmo possui atividade antiinflamatória na mucosa gástrica, com participação da via NOS, não promovendo aumento significativo no pH do suco gástrico, o que descarta uma possível atividade anti-secretória, e também não apresentando toxicidade in vivo (BARBASTEFANO, 2007) , são características achadas no extrato etanólico da casca da *Sterculia striata*, assim sugerimos, que assim como nas espécies da *Vernonia* estudadas, o lupeol possa também estar envolvido no mecanismo gastroprotetor da Ss-EtOH.

6. CONCLUSÃO

A análise dos resultados nos permite concluir que o extrato etanólico da casca de *Sterculia Striata* (Ss-EtOH) apresenta atividade gastroprotetora frente aos agentes indutores de lesões gástricas como- etanol, etanol/HCl, isquemia e reperfusão, nas doses de 25 e 50 mg/kg. Também a dose de 12,5 mg/Kg teve efeitos significantes em modelo de úlcera induzido por etanol, contudo modelos em que a agressão a mucosa foram mais intensos, como a indução de lesões com etanol acidificado, não teve efeito significativo.

O mecanismo pelo qual o extrato protege a mucosa gástrica possivelmente não envolve inibição da secreção ácida gástrica, pois na dose testada (25 mg/Kg), que foi a que melhor desempenho teve frente aos modelos de indução de úlceras, não alterou o volume do conteúdo gástrico e o pH gástrico em relação ao controle.

Os mecanismos de indução de úlcera como, etanol, etanol/HCl, isquemia e reperfusão, são mecanismos associados a processos oxidativos e produção de radicais livres, dessa forma sugere-se que o extrato etanólico da casca de *Sterculia striata* (Ss-EtOH) apresenta atividade gastroprotetora via ação antioxidante, sendo isso validado pelas dosagens de GSH e catalase, substâncias antioxidantes endógenas que foram aumentadas, frente a administração do extrato.

Outro mecanismo que pode ser sugerido é a possível participação da via NOS, no efeito gastroprotetor, pois uma vez inibida pelo L-NAME, o extrato não teve seu efeito gastroprotetor evidenciado, mesmo na dose de 25 mg/Kg, que em outros modelos apresentou o melhor efeito gastroprotetor, possuindo desempenho semelhante a L-arginina.

Possivelmente não possui envolvimento do tônus muscular na atividade antiúlcera do extrato Ss-EtOH, uma vez que as doses que melhor diminuíram as lesões gástricas, produzidas por agentes agressores (etanol, etanol acidificado, isquemia e reperfusão), não tiveram um efeito inibitório na motilidade de forma considerável.

7. PERSPECTIVAS

Também sugerimos pesquisas mais aprofundadas a fim de verificar, o efeito deste extrato e de seus constituintes, junto a receptores de capsaicina, uma vez que já foi verificado que baixas doses de capsaicina estimulam os nervos sensoriais primários pela abertura de canais de cátions não seletivos complexados com receptores vanilóides, resultando em liberação local de neurotransmissores como peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Da mesma forma seria importante verificar se existe algum mecanismo central envolvido na gastroproteção deste extrato, utilizando protocolos de estresse térmico, ou outros. Pesquisar a possível participação de receptores k-opióide, glutamato, canais iônicos de potássio dependente de ATP (utilizando bloqueadores destes canais, como a glibenclamida e agonistas como diazóxido). Utilização de modelos de úlcera crônica, como o modelo do ácido acético, podendo também ser analisada a mieloperoxidase. Além da dosagem da atividade de $H^+/K^+/ATPase$, SOD e do MDA, e até mesmo uma possível atividade antibacteriana desta planta contra *Helicobacter pylori*. Da mesma forma seria interessante o desenvolvimento dos mesmos experimentos realizados com extrato, com o triterpeno lupeol, que é o constituinte majoritário do extrato Ss-EtOH.

8. REFERÊNCIAS

AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H.; MALIK, A. Phytochemical Investigation of *Abutilon pakistanicum*. **Fitoterapia**, v.62, n. 4, p. 349-352, 1991.

AHMED, Z.; KAZMI, S. N. H.; MALIK, A. A New Pentacyclic Triterpene from *Abutilon pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 5, p. 1342-1344, set-oct, 1990.

ALICAN, I.; KUBES, P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. **The American Journal of Physiology**. v.270, p.225-237, 1996.

ALLEN, A.; GARNER, A. Mucus and bicarbonate secretion in the stomach and their possible role in mucosal protection. **Gut**, v.21, p.249-262, 1980.

ALLEN, A.; FLEMSTROM, G.; GARNER, A.; KIVILAAKSO, E. Gastroduodenal mucosal protection. **Physiological Reviews**, v.73, p.823-857, 1993.

AMES, J. M.; MACLEOD, G. Volatile Components of Okra. **Phytochemistry**, v. 29, n. 4, p.1201-1207, 1990.

ARUOMA, O.I.; HALLIWELL, B.; HOEY, B.M.; BUTLER, J. The antioxidant action of N-acetylcysteine:its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. **Free radical Biology & Medicine**, v. 6, p.593-597, 1989.

ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S.; DuBOIS, A. Eicosanoids and the stomach. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v.61, n.3-4, p.105-124, 2000.

AVILA, J.R.; LASTRA, A.D.L.; MARTÍN, M.J.; MOTILVA, V.; LUQUE, I.; Delgado, D.; ESTEBAN, J.; HERREIRAS, J. Role of endogenous sulphhydryls and neutrophil infiltration in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by piroxicam in rats. **Inflammation Research**, v.45, p.83-88, 1996.

AWOUTERS, F.; NIEMEGEREERS, C. J.; LENAERTS, F. M. & JANSSEN, P. A. Delay of castor oil diarrhoea in rats: a new way to evaluate inhibitors of prostaglandin biosynthesis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 41-45, 1978.

BACCHI, E.M.; SERTIE, J.A.A. Cromatographic identification and pharmacologic action of *Styrax camporum Pohl* and *Caesalpinia ferrea Martius*. **Journal of pharmacy and biochemistry**, v.27, n.2, p.137-149, 1991.

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

BAGGIO, C.H. Mecanismos envolvidos na atividade gastroprotetora do extrato aquoso das folhas de *Achillea millefolium* L. **Dissertação (Mestrado em Farmacologia)** Curitiba-PR, 2004.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug Discovery from Medicinal Plants. **Life Sciences** , v.78, p.431-441, 2005.

BANACLOCH, M. M. Therapeutic potential of n-acetylcysteine in age-related mitochondrial neurodegenerative diseases. **Medical Hypotheses**, v.56, p.472-477, 2001.

BARACHO, G. S. Taxonomia do gênero *Sida* L. seção *cordifoliae* (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil. **Dissertação (Mestrado em Botânica)** Recife – PE, 1998.

BARBASTEFANO, V. Atividade Antiulcerogênica de extratos brutos, frações semi-purificadas e substância ativa de duas espécies do gênero *Vernonia*: *Vernonia polyanthes* e *Vernonia ferruginea* **Dissertação (Doutorado em Fisiologia)** Campinas-SP, 2007.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, A. C. **Sistemática de Angiospermas no Brasil 2**. Imprensa Universitária, Viçosa, 1991.

BECKMAN, J.; KOPPENOL, W. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. **The American Journal of Physiology**. v.271, p.1424-1437, 1996.

BEIL, W.; BIRKHOLZ, C.; SEWING, K-FR. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. **Drug Research**, v. 45, n.1, p. 697-700, 1995.

BHARGAVA, K. P.; GUPTA, M. B.; TANGRI, K. K. Mechanism of ulcerogenic activity of indomethacin and oxyphenbutazone. **European Journal of Pharmacology**, v. 22, p.191-195, 1973.

BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Regulação e modulação da secreção gástrica. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, v.11, p. 55-60, 2002.

BILLETER, M.; MEIER, B.; STICHER, O. 8-hydroxiflavonoid glucuronides from *Malva sylvestris*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 987-990, 1991.

BLASER, M. J.; BERG, D. E. Helicobacter pylorigenic diversity and risk of human disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 7, p.767-773, 2001.

BORRELLI, F.; IZZO, A. A. Review article: The plant Kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v.14, p. 581-591, 2000.

BRZOWSKI, T.; KWIECIEN, S.; KONTUREK, P. C. H.; KONTUREK, S. J.; MITIS-MUSIOL, M.; DUDA, A.; BIELAŃSKI, W.; HAHN, E. G. Comparison of nitric oxide-releasing NSAID and vitamin C with classic NSAID in healing of chronic gastric ulcers; involvement of reactive oxygen species. **Medical Science Monitor**, v.7, p.592-599, 2001.

CAFFERTY, S.; GREENHAM, J.; WILLIAMS, C. A. Isolation of Mangiferin and Iso-mangiferin From Leaf Material of *Hibiscus liliastrum* (Malvaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 2, p.173-174, 1996.

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

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

CARMODY, D. R.; DEJONG, W.; SMITH, T. R. Buttonweed Seed Oil: A Source of Linoleic Acid. **Oil & Soap**, october, p. 263-265, 1945.

CARVALHO, J. E. Fitoterápicos: Alimento ou Medicamento? In: MERCADANTE, A.Z.; BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A.; PEREIRA, J.L.; PASTORE, G.M. ed. **Ciência de Alimentos: avanços e perspectivas** vol II. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, Campinas, p.196-202, 2001.

CARVALHO, J.E. Atividade Antiulcerogênica e Anticâncer de Produtos Naturais e de Síntese. **Multiciência**. Divisão de Farmacologia e Toxicologia CPQBA/Unicamp, p.1-18, 2006.

CHAVES, M. H.; BARBOSA, A. S.; MOITA NETO, J.M.; AUED-PIMENTEL, S.; LAGO, J. H. G. Caracterização química do óleo da amêndoa de *Sterculia striata* St. Hil. Naud. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 404-408, 2004.

CHING J. C.; BEUTLER, E. Purification and characterization of human erythrocyte pyridoxine kinase. **Chimica Acta**, v. 61, n. 3, p. 353-365, 1975.

CHUANG, C.N. CHEN, M.C.Y.; SOLL, A.H. gastrin-Histamine interactions: direct and paracrine elements. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 26, p. 95-103, 1991.

CNUBBEN, N.H.P.; RIETJENS, I. M. C. M.; WORTELBOER, H.; VAN ZANDEN, J.; VAN BLADEREN, P.J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, p.141-152, 2001.

COELHO, R.G.; BATISTA, L. M.; SANTOS, L.C.; BRITO, A. R.M. S. B.; VILEGAS, W. Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus bisulcatus* (Eriocaulaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 42, n. 3, jul./set., p.413-417, 2006.

CORRÊA, P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, v. 5, p.413, 1984.

COSTA, M.; BROOKES, S. J. H. The enteric nervous system. **American Journal of Gastroenterology**, v. 89, p.129-137,1994.

COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, W.C. S.; SOUSA, C. M. M.; GOMES, M.L.S. 30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química , **Quimica Nova** , 2007.

CURTIS, G.H.; MANNAUGHTON, W.K.; GALL, D.G.; WALLACE, J.L. Intraluminal pH modulates gastric prostaglandin synthesis. **Canadian Journal of Physiology Pharmacology**, v.73, p.130-134, 1995.

DAJANI, E. Z.; KLAMUT, M. J. Novel therapeutic approaches to gastric and duodenal ulcers: an update. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.9, n.7, p.1537-1544, 2000.

DE FLORA, S.; IZZOTTI, A.; D'AGOSTIN, F.; CESARONE, C.F. Antioxidant activity and other mechanisms of thiols involved in chemoprevention of mutation and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p.122-130, 1991.

DELLA LOGGIA, R.; TUBARO, A.; SOSA, S.; BECKER, H.; SAAR, S.T.; ISAAC D. The role of triperpenoids in the topical antiinflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. **Planta medica**, v. 60, p.516-520, 1994.

DEMBINSKI, A.; WARZECHA, Z.; CERANOWICZ, P.; BRZOZOWSKI, T.; DEMBINSKI, M.; KONTUREK, S. J.; PAWLIK, W. W. Role of capsaicin-sensitive nerves and histamine H₁, H₂, and H₃ receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcers in rats. **European Journal of Pharmacology**. v.508, p. 211-221, 2005.

DING, M.; KINOSHITA, Y.; KISHI, K.; NAKATA, H.; HASSAN, S.; KAWANAMI, C.; SUGIMOTO, Y.; KATSUYAMA, M.; NEGISHI, M.; NARUMIYA, S.; ICHIKAWA, A.; CHIBA, T. Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract. **Prostaglandins**, v.53, p.199-216, 1997.

DZUBAK, P.; HAJDUCH, M.; VYDRA, D.; HUSTOVA, A.; KVASNICA, M.; BIEDERMANN, D.; MARKOVA, L.; URBANIC, M.; SAREK, J. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic Implications . **Previous review: Natural Product Reports**, v.23, p.394–411, 2006 .

EASTWOOD, G. L. Is Smoking Still Important in the Pathogenesis of Peptic Ulcer Disease?. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v.25, p.1-7, 1997.

ELLIGER, C. A. Sexangularetin 3-glucoside-7-rhamnoside from *Gossypium hirsutum*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 5, p.1199-1201, 1984.

EL-OMAR, E. M.; OIEN, K.; MURRAY, L. S.; EL-NUJUMI, A.; WIRZ, A.; GILLEN, D.; WILLIAMS, C.; FULLARTON, G.; MCCOLL, K. E. L. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: Critical role of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, v.118, p.22-30, 2000.

FIORUCCI, S.; DE LIMA, O. M. JR.; MENCARELLI, A.; PALAZZETTI, B.; DISTRUTTI, E.; MCKNIGHT, W.; DICAY, M.; MA, L.; ROMANO, M.; MORELLI, A.; WALLACE, J. L. Cyclooxygenase-2-derived lipoxin A4 increases gastric resistance to aspirin-induced damage. **Gastroenterology**, v.123, p.1598-1606, 2002.

FLOWER, R. J. Case history: the development of COX2 inhibitors. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.2, p.179-191, 2003.

GAIND, K.N.; CHOPRA, K. S. Phytochemical Investigation of *Abutilon indicum*. **Planta Medica**, v.30, p.174-185, 1976.

GLAVIN, G.B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **FASEB Journal**, v. 6, p. 825-830, 1992.

GOODMAN & GILMAN, A. Pharmacotherapy of gastric acidity, peptic ulcers, and gastroesophageal. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 11^{ed}. Mc Graw Hill, 2006.

GOMEZ, G.; ENGLANDER, E. W.; GREELEY, G. H. JR. Nutrient inhibition of ghrelin secretion in the fasted rat. **Regulatory Peptides**, v.117, p.33-36, 2004.

GUNATILAKA, A. A. L.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMANIAM, S.; CHANDRASEKARA, A. I.; SRYANI, H. T. B. Studies on Medicinal Plants of Sri Lanka III: Pharmacologically Important Alkaloids of some Sida Species. **Planta Medica**, v. 39, p. 66-72, 1980.

GUYTON, A.C. Princípios Gerais de Função Gastrointestinal-Motilidade, Controle Nervoso e Circulação in: **Tratado de Fisiologia Médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002 .

HASMEDA, M.; KWEIFIO, G.; MACRIDES, T.; POLYA, G. M.; Selective inhibition of eukaryote protein kinases by anti-inflammatory triterpenoids. **Planta Médica**, v. 64, p.14-18, 1999.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical Research Communications**, v.9, p.1-32, 1990.

HALTER, F.; TARNAWSKI, A.S.; SCHMASSMANN, A.; PESKAR, B.M. Cyclooxygenase 2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. **Gut**, v.49, p.443-53, 2001.

HAYES, J.D.; MCLELLAN, L.I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. **Free Radical Research**, v.4, p.273-300,1999.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants on the World**, Ed. B. T. Batsford Ltda., London, 1993.

HIRSCH,A.B.;MCCUEN, R. W.; ARIMURA, A.; SCHUBERT, M. L. Adrenomedullin stimulates somatostatin and thus inhibits histamine and acid secretion in the fundus of the stomach. **Regulatory Peptides**, v.110, p.189-195, 2003.

HOGABOAM,C.M.; BISSONNETTE, E. V.; CHIN, B. C.; BEFUS, A. D.;WALLACE, J. L. Prostaglandins inhibit inflammatory mediator release from rat mast cells. **Gastroenterology**, v.104, p.122-129, 1993.

HOGBEN, C.A.M.; KENT, T.H. WOODWARD, P.A.; SILL, A.J. Quantitative histology of gastric mucosa: Man, dog cat, guinea pig, and frog. **Gastroenterology**,v. 67, p. 1143-54, 1974.

ISHIHARA, S., TSUCHIYA, S., HORIE, S., MURAYAMA, T., WATANABE, K. Stimulatory effects of centrally injected n-opioid receptor agonists on gastric acid secretion in urethane-anesthetized rats. **European Journal Pharmacology**, v.418, p.187-194, 2001.

ISHII , M. ; SHIMIZU, S. ; NAWATA, S.; KIUCHI, Y.; YAMAMOTO, T. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide en gastric ischemia-reperusão injury in rats.Protective effect of tetrahydrobiopterin. **Digestive Diseases and Sciences**, Vol. 45, p.93–98 , 2000.

KAUNITZ, J. D.; AKIBA, Y. Gastroduodenal mucosal defense: role of endogenous mediators. **Current Opinion in Gastroenterology**, v.20, p.526–532, 2004.

KAWABATA, A. Gastrointestinal functions of proteinase-activated receptors. **Life Science**, v.74, p.247-254, 2003.

KAWASHIMA, K.; ISHIHARA, S.; RUMI, M. A. K.; MORIYAMA, N.; KAZUMORI,H.; SUETSUGU, H.; SATO, H.; FUKUDA, R.; ADACHI, K.; SHIBATA, M.; ONODERA, S.; CHIBA, T.; KINOSHITA, Y. Localization of calcitonin gene-related peptide receptors in rat gastric mucosa. **Peptides**, v.23, p.955–966, 2002.

KIMURA, M.; GOTO, S.; IHARA,Y.; WADA, A.; YAHIRO, K.; NIIDOME, T.; OVAGI, H.; HIRAYAMA, T.; KONDO,T. Impairment of glutathione metabolism in human gastric epithelial cells treated with vacuolating cytotoxin from *Helicobacter pylori*. **Microbial Pathogenesis**,v 31, p.29–36, 2001.

KLAASSEN, C. D.; BRACKEN, W. M.; DUDLEY, R. E.; GOERING, P. L.; HAZELTON, G. A.; HJELLE, J. J. Role of sulfhydryls in the hepatotoxicity of organic and metallic compounds. **Fundamental and Applied Toxicology**, v.5, p.806-815, 1985.

KONTUREK, P. C. H.; DUDA, A.; BRZOZOWSKI, T. KONTUREK, S. J.; KWIECIEN, S.; DROZDOWICZ, D.; PAJDO, R.; MEIXNER, H.; HAHN, E. G. Activation of genes for superoxide dismutase, interleukin-1 β , tumor necrosis factor and intercellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia – reperfusion gastric injury. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**. v.35, p.452-463, 2000.

KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, S. J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.53, p.39-50, 2002 a.

KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK S. J. The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors on stress-induced gastric mucosal lesions. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.53, p.761-73, 2002 b.

LANE, H. C.; SCHUSTER, M. F. Condensed Tannins of Cotton Leaves. **Phytochemistry**, v. 20, p. 425-427, 1981.

LEVENSTEIN, S. Stress and peptic ulcer: life beyond helicobacter. **British Medical Journal Clinical research**, v.316, p.538-541, 1998.

LEWIS, D. A. E; SHAW, G. P. A natural flavonoid and synthetic analogues protect the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. The **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p. 95-100, 2001.

LEWIS, D. A.; HANSON, P. J. Anti-Ulcer Drugs of Plant Origin In: G. P. Ellis; G. B. West. **Progress in Medicinal Chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, v. 28, p.201-231, 1991.

LIPOF, T.; SHAPIRO, D.; KOZOL, R. A. Surgical perspectives in peptic ulcer disease and gastritis. **World Journal of Gastroenterology**, v.20, p.3248-3252, 2006.

LUCEY, M.R.; YAMADA, T. Biochemistry and physiology of gastrointestinal somatostatin. **Digestive Diseases Sciences**, v.34, p. 5-13, 1989.

LUK'YANTSEVA, G.; SHEVCHUK, V.; KOPYLOVA, G.; SAMONINA, G.; HERNAN, S.; UMAROVA, B.; SMIRNOVA, H. Influence of amylin on secretory activity of mast cells as one of possible mechanisms of increasing the stability of gastric mucosa. **Annales Universitatis Marie Curie-Sklodovska**, v. 21, p.179-182, 2008.

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

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas**. Fortaleza: EUFC, v.13, p.219, 1998.

MIZUI, T.; DOUTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol gastric-lesions in rats. The **Japanese Journal of Pharmacology**, v.33, n.5, p.939-945, 1983.

MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Research and Technique**, v.53, p.360-371, 2001.

MILLER L. C.; TANTER, M. L. Estimation of the LD50 and its error by means of logarithmic probit graph paper. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 57, p. 261, 1944.

MINOWA, S.; TSUCHIYA, S.; SOMEYA, A.; HORIE, S.; MURAYAMA, T. Role of neuropeptide receptor systems in vanilloid VR1 receptor-mediated gastric acid secretion in rat brain. **European Journal of Pharmacology**, v.486, p.317-324, 2004.

MONDAL, M. S.; DATE, Y.; MURAKAMI, N.; TOSHINAI, K.; SHIMBARA, T.; KANGAWA, K.; NAKAZATO, M. Neuromedin acts in the central nervous system to inhibit gastric acid secretion via CRH system. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.284, p.963-969, 2003.

MONDRAGÓN, A. Tres nuevas especies de *Sterculia* L. (Sterculiaceae) de Venezuela. **Acta Botânica**. v.28, n.1 , 2005.

MUJUMDAR, A. M.; NAIK, D. G.; WAGHOLE, R. J.; KULKARNI, D. K.; KUMBHOJKAR, M. S. Pharmacological Studies On *Sterculia Foetida* Leaves **Pharmaceutical Biology** , v. 38, n. 1, p. 13-17, 2000.

NAGATA, N.; SEKIZUKA, E.; MORISHITA, T. TATEMACHI, M.; KUROKAWA, T.; MIZUKI, A.; ISHII, H. Adenosine A2-receptor mediates ethanol-induced arteriolar dilation in rat stomach. **Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 271, p.1028-1033, 1996 .

NAVARRETE, A.; TREJO-MIRANDA, J. L.; REYES-TREJO, L. Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 383-388, 2002.

OATES, P.J., HAKKINEN, J.P. Studies on the mechanism of ethanol- induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v.94, p. 10-21, 1988.

OLIVEIRA, F. A. Estudo das propriedades farmacológicas da resina de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. e de seus principais constituintes, mistura de α -e β -amirina. . **Dissertação (Doutorado em Farmacologia)** Fortaleza-CE, 2005.

PARSONNET, J.; HANSEN, S.; RODRIGUEZ, L. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. **The New England Journal of Medicine**, v.330, p. 1267-1271, 1994.

POMMIER, B.; MARIE-CLAIRE, C.; DA NASCIMENTO, S.; WANG, H. L.; ROQUES, B. P.; NOBLE, F. Further evidence that the CCK2 receptor is coupled to two transduction pathways using site-directed mutagenesis. **Journal of Neurochemistry**, v.85, p.454-461, 2003.

PRINZ, C.; ZANNER, R.; GRATZL, M. Physiology of gastric Enterochromaffin-like cells. **Annual Review of Physiology**, v.65, p.371-82, 2003.

RAJIC, A.; KWEIFIO-OKAI, G.; MACRIDES, T.; SANDEMAN, R. M.; CHANDLER, D.S.; POLYA, G. M. Inhibition of serine proteases by anti-inflammatory triterpenoids. **Planta Medica**, v. 66, n. 3, p. 206-210, 2000.

RANGEL, M.; MALPEZZI, E.L.A; SUSINI, S. M.M.; FREITAS, J.C.Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. **Toxicon**,v. 35, p.305-309, 1997.

RECIO, M.C.;GINER, R.M.; MANEZ, S; RIOS, J. L. Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. **Planta Med** , v.61, p.182-185, 1995.

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

REED, D. J.; FARRISS, M. W. Glutathione depletion and susceptibility. **Pharmacological Reviews** , v.36, p. 255-335, 1984.

REN, J.; YOUNG, R. L.; LASSITER, D. C.; HARTY, R. F. Calcitonin gene-related peptide mediates capsaicin-induced neuroendocrine responses in rat antrum. **Gastroenterology**, v.104, p. 485-491, 1993.

RIBEIRO, M. E.; YOSHIDAW. B. Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models. **Vascular Brazilian Newspaper**, v.4, p.183-194, 2005.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J. E.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A. J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433-443, 1979.

SAMONINA, G. E.; KOPYLOVA, G. N.; LUKJANZEVA, G. V.; ZHUYKOVA, S. E.; SMIRNOVA, E. A.; GERMAN, S. A.; GUSEVA, A. A. Antiulcer effects of amylin: a review. **Pathophysiology**, v. 11, p.1-6, 2004.

SARTORI, L. R.; FERREIRA, M. S.; PERAZZO, F. F.; MANDALHO, L. L.; CARVALHO, J. T. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**,v.13, p.17-19, 2003.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento** (Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G. Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. 3ed.) Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. Capítulo 15, p.301-332, 2001.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1-2, p. 61-66, 2005.

SACHS, G.; SHIN, J. M.; BRIVING, C.; WALLMARK, B.; HERSEY, S.; The pharmacology of the gastric acid pump the H⁺,K⁺ ATPase. **Annual Reviews-Pharmacology Toxicology**, v.35, p.277-305, 1995.

SCHUBERT, M.L.; SHAMBUREK, R.D. Control of acid secretion. **Gastroenterology Clinics of America**, v. 19, p. 1-25, 1990.

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

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation total, protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p.192-205, 1968.

SHAH, V.; KAMATH, P.; DE GROEN, P. Physiology of the splanchnic circulation. In: **Theory and practice of vascular diseases** (Topol E, Lanzer F, eds), p.1688-1694, 2002.

SHAH, V.; LYFORD, G.; GORES, G.; FARRUGIA, G. Nitric Oxide in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, v.126, p.903-913, 2004.

SHARMA, P. V.; AHMAD, Z. A. Two Sesquiterpene lactones from *Abutilon indicum*. **Phytochemistry**, v. 28, n.12, p. 3525, 1989.

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

SIEGMUND, S. Animal models in gastrointestinal alcohol research-a short appraisal of the different models and their results. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 519-542, 2003.

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

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SILVA, D. F.; SOUZA, M. F. V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p.23-29, 2005.

SIRCUS,W. Progress report Carbenoxolone sodium. **Gut**, v.13, p.816-824, 1972.

SORBYE H.; SVANES, K. The role of blood flow in gastric mucosal defence, damage and healing. **Digestive Diseases**, v.5, p.305-17, 1994.

STAMLER, J.; LAMAS, S.; FANG, F. Nitrosylation: the prototypic redoxbased signaling mechanism. **Cell** , v.106, p.675–683, 2001.

STEVENS, P. F. *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 4, May 2003. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/> Acesso em: 24 de novembro de 2008.

STICKNEY, J. C. & NORTHUP, D. W. Effect of gastric emptying upon propulsivemotility of small intestine in rat. **Experimental Biology and Medicine**, v. 101, p. 582,1959.

SUNDLER, F.; EKBLAD, E.; HAKANSON, R. The neuroendocrine system of the gut– an update. **Acta Oncologica**, v.30, p.419-27, 1991.

SUZUKI, K.; ARAKI,H.; KOMOIKE, Y.; TAKEUCHI, K. Permissive role of neutrophils in pathogenesis indomethacin-induced gastric lesions in rats. **Medical science monitor**, v. 6, p.908-914, 2000.

SZABO, S.; TRIER, J. S.; BROWN, A.; SCHNOOR, J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 228-236,1985.

TAKEUCHI, K.; KATO, S.; TANAKA, A. Gastrointestinal protective action of prostaglandin E2 and EP receptor subtypes. In: **Frontiers of Gastrointestinal Research** (Edited by Cho CH, Wang JY)., v.25, p.227-242, 2002.

TEBBE, J. J.; MRONGA, S.; SCHÄFER, M. K. H.; RUTER, J.; KOBELT, P.;MONNIKES, H. Stimulation of neurons in rat ARC inhibits gastric acid secretion via hypothalamic CRF1/2- and NPY-Y1 receptors. **American Journal of Physiology.Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.285, p.1075-1083, 2003.

TIWARI, K. P. & MINOCHA, P. K. Pavophylline, a New Saponin from the Stem of *Pavonia zeylanica*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 701-704, 1980.

TODA, N.; HERMAN,A.G.; Gastrointestinal Function Regulation by Nitrgergic Efferent Nerves. **Pharmacological Reviews**, v. 57, n. 3,p.315-338,2005.

TSUCHIYA, S., HORIE, S., YANO, S., WATANABE, K., Stimulatory effects of centrally injected kainate and N-methyl-D-aspartate on gastric acid secretion in anesthetized rats. **Brain Research**, v.914, p.115-122, 2001.

UEDA, S.; YOSHIKAWA, T.; TAKAHASHI, S.; ICHIKAWA, H.; YASUDA, M.; OYAMADA, H.; TANIGAWA, T.; SUGINO, S.; KONDO, M. Role of free radicals and lipid peroxidation in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 162, p.55-58, 1989 a.

UEDA,S.;YOSHIKAWA,T.;NAITO,,Y.;TAKAHASHI,S.;OYMADA,H.;MORITA,Y.;YONETA,T.;KONDO,M.,Role of Oxygen-Derived Free Radicals in Gastric Mucosal Injury Induced by Ischemia or Ischemia-Reoerfusion in Rats. **Free Radical Research**, v.7, p.285-291,1989 b.

VICKERY, J. R. The Fatty Acid Composition of Seed Oils From Ten Plant Families with Particular Reference to Cyclopreopene and Dihydrosterculic Acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, p. 87-91, 1980.

WALLACE J. L.; WHITTLE B. J. R. Role of mucus in the repair of gastric epithelial damage in the rat. Inhibition of epithelial recovery by mucolytic agents. **Gastroenterology**, v.91, p.603-611, 1986.

WALLACE, J. L. and GRANGER D.N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **The FASEB Journal**, v.10, p.731-740, 1996.

WALLACE, J. L. Mechanisms of Protection and Healing: Current Knowledge and Future Research. **The American Journal of Medicine**, v.110, p.19-23, 2001 a.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.15, p.691-703, 2001 b.

WANG, H.; TOMIKAWA, M.; JONES, M. K.; SARFEH, I. J.; TARNAWSKI, A. S.; Ethanol injury triggers activation of adrenomedullin and its receptor genes in gastric mucosa. **Digestive Diseases and Sciences**, v.44, p.1390- 400, 1999.

WHITTLE,B.J.; OREN-WPLMAN,N.; GUTH,P.H. Gastric vasoconstrictor actions of leukotriene C4, PGF2 alpha, and thromboxane mimetic U-46619 on rat submucosal microcirculation in vivo.**Journal Physiology Gastrointest Liver Physioliology**,v.248,p.580-586,1985.

WILLIAMS, H. J.; SATTLER, I.; MOYNA, G.; SCOTT, A. I.; BELL, A. A.; VINSON, S. B. Diversity in Cyclic Sesquiterpene Production by *Gossypium hirsutum*. **Phytochemistry**, v. 40, n.6, p. 1633-1636, 1995.

WOODS, K.L., SMITH, L., GRAHAM, D.Y. Intra gastric accumulation of Evan's as a method fos assessing aspirin – induced acute gastric mucosal injury in humans. **Digestive diseases and sciences**, n. 33, p. 733-769, 1988.

WRIGHT, N. A. Role of mucosal cell renewal in mucosal protection in the gastrointestinal tract. In **Mechanisms of Mucosal Protection in the Upper Gastrointestinal Tract** (Allen, A., Flemstrom, C., Gamer, A., Silen, W., and Turnberg, L A., eds) p.15-20,1984.

YARIWAKE, J. H.;LANÇAS, F. M. ; CAPPELARO,E. A.; VASCONCELOS,E.C. ; TIBERTI, L. A.;PEREIRA, A. M.S. ;FRANCA, S. C. Variabilidade sazonal de constituintes químicos(triterpenos,flavonóides e polifenóis) das folhas deMaytenus aquifolium Mart. (Celastraceae).**Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.15, p.162-168, 2005.

YOO, I. D.; Y, B. S.; LEE, I. K.; RYOO, I. J.; CHOUNG, D. H.; HAN, K. H. Three Naphtalenes from root bark of Hibiscus syriacus. **Phytochemistry**, v. 47, n.5, p. 799-802, 1998.

YUNES, R. A. Estratégia para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos apartir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p.99-105, 1998.

YUNES,R.A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos:a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p.147-152, 2001.

ZEVERING, Y.; JACOB, L.; MEYER, T. F. Naturally acquired human immune response against Helicobacter pylori and implications for vaccine development. **Gut**, v. 45, p. 465-474, 1999.

ZHANG, H. L.; NAGATSU,A.; OKUYAMA, H.; MIZUKAMI, H.; SAKAKIBARA, J. Sesquiterpene glycosides from cotton oil cake. **Phytochemistry**, v. 48, n.4, p. 665-668, 1998.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)