UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
NÚCLEO DE PLANTAS MEDICINAIS PROFESSOR PAULO HUMBERTO MOREIRA NUNES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

HÉLIO DE BARROS FERNANDES

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Parkia platycephala* Benth. E DA FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA EXTRAÍDAS DAS FOLHAS DE *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (LEGUMINOSAE) EM ROEDORES

TERESINA, 2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

HÉLIO DE BARROS FERNANDES

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Parkia platycephala* Benth. E DA FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA EXTRAÍDAS DAS FOLHAS DE *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (LEGUMINOSAE) EM ROEDORES

Dissertação de mestrado 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 - NPPM/CCS/UFPI

TERESINA, 2009

HÉLIO DE BARROS FERNANDES

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Parkia platycephala* Benth. E DA FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA EXTRAÍDA DAS FOLHAS DE *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (LEGUMINOSAE) EM ROEDORES

Esta Dissertação de Mestrado 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:____ de _____ de 2009

BANCA EXAMINADORA

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

_____
Prof. Dr. Julianeli Tolentino de Lima
(Membro)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

_____
Profº. Dr. Francisco de Assis Oliveira
(Membro)
Universidade Federal do Piauí

Aos queridos pais, Francisco e Teresinha, por me ensinarem que com amor, dedicação e caráter todas as batalhas podem ser vencidas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e coragem de enfrentar mais um desafio;

À minha família pelo conforto nas horas difíceis;

À minha namorada, Liviane, pelo apoio e compreensão;

Aos amigos, pela convivência e torcida;

À todos os colegas do NPPM, em especial, Katharinne, Flávia Danielli, Flávia Franceli, Francilene, Irys, Carlos e Janyerson, amigos sempre presentes no dia-a-dia do laboratório, fundamentais para a conclusão deste trabalho;

Aos professores do Programa de pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, pelo apoio, incentivo e por sua contribuição intelectual para a formação de todos os alunos do programa;

À minha querida orientadora, Dr ª Rita de Cássia Meneses Oliveira, pela dedicação e orientação durante nossa convivência.

RESUMO

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Parkia platycephala* Benth. E DA FRAÇÃO HIDROALCOÓLICA DE *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (LEGUMINOSAE) EM ROEDORES

Hélio de Barros Fernandes

A família Leguminosae é uma das maiores e das mais importantes no reino vegetal com grande distribuição geográfica. Nela, encontramos espécies de interesse em quase todos os campos de aplicação. *Parkia platycephala* Benth. (Mimosoideae) e *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Caesalpinoideae), conhecidas como fava de bolota e caneleiro, respectivamente, são espécies da familia Leguminosae encontradas no estado do Piauí. Com base no levantamento etnobotânico e no perfil fitoquímico das espécies, objetivou-se avaliar a toxicidade aguda em camundongos, citotoxicidade em eritrócitos de ratos e atividade protetora em modelos agudos de lesão gástrica do extrato etanólico obtido das folhas de *Parkia platycephala* Benth. (Pp-EtOH) e da fração hidroalcoólica obtida a partir do extrato etanólico das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA), e identificar as principais vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor destes extratos. Tanto Pp-EtOH (250 mg/kg, v.o.) como Cm-FHA (100 mg/kg v.o.), protegeram contra lesões induzidas por etanol absoluto (inibição de 66,0 e 39,5 %, respectivamente). Em lesões induzidas por etanol acidificado, Pp-EtOH (250 mg/kg) e Cm-FHA (100 mg/kg) também inibiram as lesões em 48,4 e 50,3%, respectivamente. Apenas Pp-EtOH apresentou atividade anti-secretória em modelo de ligadura de piloro em ratos, diminuindo volume (1,8 ± 0,6 mL vs 3,3 ± 0,4 mL do controle) e acidez total (0,27 ± 0,06 vs 0,80 ± 0,12 meq/ml/4h do controle). Metabólitos da ciclooxigenase endógenos não estão envolvidos diretamente na gastroproteção de ambos extratos. Após o pré-tratamento com L-NAME (20 mg/kg) e N-etilmaleimida (10 mg/kg), a gastroproteção de Pp-EtOH e Cm-FHA foi inibida, indicando participação da NO-sintase e de grupos sulfifrilas endógenos na

proteção gástrica destes extratos. A proteção de Pp-EtOH não foi afetada pelo pré-tratamento com glibenclamida (5 mg/kg), mas Cm-FHA teve sua gastroproteção inibida por esse agente. Pp-EtOH e Cm-FHA diminuiram a área de lesão nos modelos de isquemia-reperfusão em ratos (inibição de 54,5 e 37,5%, respectivamente), com aumento da atividade da catalase. Com base nos estudos fitoquímicos, a presença de compostos fenólicos em Pp-EtOH e triterpenóides em Cm-FHA, sugerem que os mesmos podem ser os metabólitos responsáveis pela gastroproteção evidenciada.

Palavras-Chave: *Parkia platycephala* Benth., *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire, gastroproteção, úlcera gástrica.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Parkia platycephala* Benth. AND OF HYDROALCOOLYC FRACTION OF *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (LEGUMINOSAE) IN RODENTS

Hélio de Barros Fernandes

Leguminosae family is one of biggest and most importants in Plantae Kingdom, with large geografic distribution. We found species that interest almost all of research fields. *Parkia platycephala* Benth. (Mimosoideae) and *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Caesalpinoideae), also known as “fava de bolota” and “caneleiro”, respectively, are species belonged to the Leguminosae family with distribution in Piaui state. *Based in ethnobotanical study and phytochemical screening, this study aimed evaluate the acute toxicity in mice, citotoxity in rats eritrocytes and gastroprotective activity of ethanolic extract of Parkia platycephala Benth leaves (Pp-EtOH) and hidroalcoholic fraction from ethanolic extract of Cenostigma macrophyllum Tul. var. acuminata Teles Freire leaves (Cm-FHA), and to identify the main signaling pathways involved* in the mechanism of action of the gastroprotective effect of these extracts. *Both Pp-EtOH (250 mg/kg v.o.) and Cm-FHA (100 mg/kg v.o.) protected against lesions induced by absolute ethanol (66,0 and 39,5% inhibition, respectively). Lesion induced by acidified ethanol, Pp-EtOH (250 mg/kg) and Cm-FHA (100 mg/kg) inhibited lesions at* 48,4 and 50,3%, respectively. *Only Pp-EtOH showed anti-secretory activity in pylorus-ligated model in rats, deacreasing the volume* (1,8 ± 0,6 ml vs 3,3 ± 0,4 ml in control) and total acidity (0,27 ± 0,06 vs 0,80 ± 0,12 meq/ml/4h in control). Cicloxygenase metabolites are not directly envolved in gastroprotection of these extracts. After pre-treatment with L-NAME (20 mg/kg) or N-ethylmaleimide (10mg/kg), the gastric protection of Pp-EtOH and Cm-FHA was inhibited, indicating role of NO-sintase and sulfhydryls groups, respectively, in protection to these extracts. *The protection of Pp-EtOH was not affected by pre-treatment with glibenclamide (5 mg/kg), but Cm-FHA had its gastroprotection inhibited by*

this agent. Pp-EtOH and Cm-FHA decreased the lesion area in ischemia-reperfusion model in rats (inhibition of 54,5 e 37,5%, respectively)*, with increase of catalase activity. Based in phytochemical studies, the presence of fenolics compounds in Pp-EtOH and triterpenoids in Cm-FHA, suggesting these metabolites might envolved in gastroprotection effect.*

Key-words: Parkia platycephala Benth, Cenostigma macrophyllum Tul. var. acuminata Teles Freire, gastroprotection, gastric ulcer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 *Parkia platycephala Benth.* Detalhes: A. Árvore; B. Frutos;C. Flores..... 19

Figura 2 *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire. A: Panta inteira. B**:** Detalhe dos ramos com inflorescência e flores..... 21

Figura 3 Constituintes isolados do gênero *Parkia*..... 23

.

Figura 4 Constituintes isolados da casca do caule de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire..... 24

Figura 5 Constituintes isolados das sementes e dos frutos de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire..... 25

Figura 6 Triterpenos e biflavonas isolados das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire..... 26

Figura 7 O estômago e suas estruturas..... 27

Figura 8 Reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase (A), catalase (B), glutationa peroxidase (C), NAD(P)H quinona oxidoredutase 1 (D) e glutationa *S*-transferase (E)..... 37

LISTA DE ESQUEMAS, QUADROS E TABELAS

Esquema 1 Fluxograma para obtenção do extrato etanólico a partir das folhas de *Parkia platycephala* Benth. (Pp-EtOH)..... 40
Esquema 2 Fluxograma do fracionamento do extrato etanólico a partir das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA)..... 41
Quadro 1 Escores atribuídos nas lesões induzidas por indometacina..... 45
Tabela 1 Toxicidade aguda de Pp-EtOH e Cm-FHA na dose de 2 g/kg, via oral, em camundongos..... 51
Tabela 2 Efeito de Pp-EtOH e FHA-Cm sobre volume gástrico, pH e Ácidez titulável pela ligadura de piloro em ratos..... 61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Efeito hemolítico em eritrócitos de rato incubados com extrato Pp-EtOH e Cm-FHA..... 52
Gráfico 2 Efeito do extrato etanólico de *Parkia platicephala* Benth. (Pp-EtOH) e da fração hidroalcóolica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos..... 53
Gráfico 3 Efeito de Pp-EtOH e Cm-FHA sobre lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos..... 54
Gráfico 4 Efeito de Pp-EtOH e Cm-FHA sobre lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos..... 55
Gráfico5 Participação de grupos sulfidrila endógenos na gastroproteção de Pp-EtOH e Cm-FHA em ratos..... 56
Gráfico 6 Participação da via óxido nítrico sintase na gastroproteção de Pp-EtOH e de Cm-FHA em camundongos..... 57
Gráfico 7 Participação dos canais de K^+_{ATP} na gastroproteção de Pp-EtOH e de FHA-Cm em camundongos..... 58
Gráfico 8 Efeito de Pp-EtOH e de Cm-FHA sobre lesões gástricas induzidas por isquemia-reperfusão em ratos.. 59
Gráfico 9 Participação da catalase na atividade antioxidante de EE-Pp e Cm-FHA, em camundongos..... 60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh - Acetilcolina

AINE(s) - Antiinflamatório(s) não esteroidal(ais)

ATP - Adenosina 5-trifosfato

CAT - Catalase

CCK- Colecistocinina

CCK_1 – Receptor de colecistocinina tipo 1

CCK_2 – Receptor de colecistocinina tipo 2

CCKB – Receptor de colecistocinina do tipo B

CGRP - Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina

Cm-FHA - Fração hidroalcóolica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire

COX - Enzima ciclooxigenase

COX-1 - Enzima ciclooxigenase do tipo 1

COX-2 - Enzima ciclooxigenase do tipo 2

DL_{50} - Dose letal 50

DNA - Ácido desoxiribonucleico

DPA – Difosfato de Adenosina

ECL - Célula do tipo enterocromafin

EGF - Fator de crescimento epidermal

EP - Receptor de prostaglandina E

EROS - Espécies reativas de oxigênio

FRB - Fração rica em biflavonas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire

GPx - Glutationa peroxidase

GSSG - Glutationa oxidada

GSH - Glutationa reduzida

GST - Glutationa *S*-transferase

H^+ - Próton

H_2 - Receptor de histamina do tipo 2]

H_2O_2 – Peróxido de hidrogênio

HCl - Ácido clorídrico

H^+/K^+-ATPase – Bomba de prótons

i.p. - Intraperitoneal

Canais K_{ATP} – Canais de Potássio sensíveis ao ATP

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

LTC_4 - Leucotrieno C_4

M_1 - Receptor muscarínico do tipo 1

M_3 - Receptor muscarínico do tipo 3

MDA – Malondialdeído

MGPc - Monofosfato de Guanila cíclico

MPA - Monofosfato de adenosina

NAC - N-Acetilcisteína

NK1 - Receptor de taquicinina do tipo 1

NADPH - β-nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NEM - N-Etilmaleimida

NO - Óxido nítrico

NO-Sintase – Sintase de óxido nítrico

PG(s) - Prostaglandina(s)

PGE_2 - Prostaglandina E_2

PGI_2 - Prostaciclina

pH - Potencial hidrogeniônico

Pp-EtOH - Extrato etanólico de *Parkia platicephala*

SH - Grupamento sulfidrílico

SOD - Superóxido Dismutase

TXA_2 - Tromboxano A_2

V.o. - Via oral

XD - Xantina desidrogenase

XO - Xantina oxidase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 16
1.1 Família Leguminosae..... 18
1.1.1 *Parkia platycephala* Benth..... 19
1.1.2 *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire..... 20
1.2 Fisiopatologia do Trato Gastrintestinal..... 27
2 OBJETIVOS..... 38
2.1. Geral 38
2.2. Específicos 38
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 39
3.1 Material Botânico..... 39
3.2 Animais..... 42
3.3 Metodologia..... 42
3.3.1 Diluição dos extratos..... 42
3.3.2 Toxicidade aguda..... 42
3.3.2.1Determinação da toxicidade aguda em camundongos e determinação da DL_{50}..... 42
3.3.2.2.Determinação da atividade hemolítica em eritrócitos de rato.... 43
3.3.3 Avaliação da atividade gastroprotetora..... 44
3.3.3.1 Lesões gástricas induzida por etanol..... 44
3.3.3.2 Lesões gástricas induzidas por etanol acidificado..... 44
3.3.3.3 Lesões gástrica induzidas por indometacina..... 45
3.3.3.4Participação de grupos sulfidrila endógenos na gastroproteção..... 46
3.3.3.5 Participação da via sintase de óxido nítrico na gastroproteção. 46
3.3.3.6 Participação dos canais K_{ATP} na gastroproteção..... 47
3.3.3.7 Lesões gástricas produzidas por isquemia-reperfusão 47
3.3.3.8 Participação da catalase na atividade antioxidante..... 48
3.3.4 Avaliação da atividade antisecretora gástrica..... 48
3.3.4.1 Ligadura de piloro..... 48
3.7. Análise Estatística..... 50
4 RESULTADOS..... 51
4.1Toxicidade Aguda em Camundongos e Determinação da DL_{50}..... 51
4.2 Determinação da Citotoxicidade em Eritrócitos de Ratos..... 52
4.3 Efeito do Extrato Etanólico de *Parkia platycephala* (Pp-EtOH) e da Fração Hidroalcóolica de *Cenostigma macrophyllum Tul.* var. acuminata Teles Freire (Cm-FHA) sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos..... 53
4.4 Efeito do Pp-EtOH e da Cm-FHA sobre lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos..... 54
4.5 Efeito do Pp-EtOH e da Cm-FHA sobre lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos..... 55
4.6 Participação de grupos sulfidrila endógenos na gastroproteção do Pp-

EtOH e da Cm-FHA em ratos..... 56

4.7 Participação da sintase de óxido nítrico na gastroproteção do Pp-EtOH e da Cm-FHA em Camundongos..... 57

4.8 Participação dos canais de K^+_{ATP} na gastroproteção do Pp-EtOH e da Cm-FHA em Camundongos..... 58

4.9 Efeito do Pp-EtOH e da Cm-FHA Sobre lesões Gástricas Induzidas por Isquemia-reperfusão em Ratos..... 59

4.10 Participação da catalase na atividade antioxidante do Pp-EtOH e da Cm-FHA em Camundongos..... 60

4.11 Efeito do Pp-EtOH e da Cm-FHA sobre Volume Gástrico, pH e Ácidez Titulável pela Ligadura de Piloro em ratos 61

5 DISCUSSÃO..... 62

6 CONCLUSÕES..... 74

7 PERSPECTIVAS..... 76

REFERÊNCIAS..... 77

1. INTRODUÇÃO

A humanidade utiliza os vegetais para proteção da saúde e alívio de seus males desde o princípio de sua existência na Terra. No início da civilização havia forte dependência do homem em relação à flora. Aos poucos as plantas foram selecionadas e classificadas, surgindo assim as técnicas de cultivo. As plantas com valores terapêuticos foram usadas empírica e tradicionalmente, passando o conhecimento de geração para geração (MESSEGUÉ, 1976).

O final do século XIX assistiu ao declínio da utilização direta de produtos naturais como fontes de medicamentos (SEILD, 2002). Este declínio deveu-se pelo menos em parte à paulatina substituição dos extratos totais pela utilização das substâncias ativas isoladas, os chamados princípios ativos (SIMÔES, 2004).

Com a revolução industrial, deu-se o desenvolvimento da química orgânica e de produtos sintéticos para tratamentos de enfermidades (RATES, 2001). A fácil aceitação e a preferência pelas drogas sintéticas se devem, em parte, a acessibilidade, eficácia e segurança desses produtos (KINGHORN, 2002). Estabelecendo-se o modelo de prática de saúde, baseado no complexo médico-industrial da medicina moderno-cientificista, no qual os medicamentos tornaram-se basicamente químicos, gerando um mercado altamente lucrativo e explorado por poucas e grandes empresas farmacêuticas que direcionaram a medicina atual (BARBOSA; BARROS; SOLER, 1996).

Com o alto custo na produção e a ocorrência de vários efeitos indesejados dos medicamentos sintéticos, a existência de estudos científicos para produtos de origem natural comprovando sua eficácia clínica e segurança, e a grande porcentagem da população mundial que não tem acesso aos medicamentos resultantes de síntese farmacológica estão dentre as razões do crescente interesse por terapias alternativas e o uso terapêutico de produtos naturais, especialmente os derivados de plantas.

A utilização das plantas medicinais como uma alternativa para o combate das mais variadas patologias vem ganhando grande impulso nas últimas décadas (LEAL,1998). Segundo dados da Organização Mundial da

Saúde – OMS, 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza-se de práticas tradicionais na atenção primária, e desse total, 85% usa plantas medicinais ou preparações destas (OMS, 2000).

Estes fatores somados ao limitado efeito dos medicamentos sintéticos em doenças crônicas, têm estimulado à pesquisa de plantas medicinais como alternativa terapêutica, com resultados bastante satisfatórios (HIRUMA-LIMA et al., 1998).

Plantas e seus derivados são as maiores fontes de drogas, movimentando cerca de 30% do mercado farmacêutico (KIRKPATRICK et al., 2002). De acordo com Newmam e colaboradores (2003) entre os anos de 1981 e 2002, de 877 novas moléculas introduzidas no mercado, em torno de 49% eram substâncias isoladas de produtos naturais, semi-sintéticos, derivados de produtos naturais ou então moléculas sintetizadas tomando como modelo estruturas de origem natural. Além disso, das drogas descobertas em estudos com produtos naturais, 25% pertencem ao grupo das plantas superiores (GURIB-FAKIM, 2006). Todavia, apenas 6% deste mercado é suprido com a utilização direta de produtos naturais (HOSTETTMAN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003)

Assim, alguns grupos farmacêuticos voltaram esforços para o aprimoramento de medicamentos fitoterápicos e sua produção em escala industrial. O novo avanço dos medicamentos fitoterápicos caracteriza-se pela busca de produção em escala industrial, diferentemente das formas artesanais que caracterizaram os estágios iniciais de sua utilização (ASCHWANDEN, 2001).

Na pesquisa com plantas medicinais existem critérios adequados na seleção das espécies vegetais para sucesso na investigação farmacológica. Segundo Holetz e colaboradores (2002), a abordagem com base no conhecimento popular (etnodirigida) é a mais utilizada e mais eficaz, devido ao acúmulo milenar das informações em curto periodo de tempo, o que aumenta a possibilidade de se descobrir novos compostos. Portanto, as plantas utilizadas na medicina popular são de grande importância na descoberta de novos fármacos, pela presença de uma gama de compostos das mais variadas estruturas e pela fácil acessibilidade e abundância, principalmente no Brasil, detentor da maior biodiversidade vegetal do mundo. Nesse contexto, no grupo

das leguminosas encontramos espécies com grande potencial e interesse em quase todos os campos de aplicação.

1.1 Família Leguminosae

Dentre as famílias botânicas, a Leguminosae é uma das maiores e das mais importantes. Nela encontramos espécies de interesse em quase todos os campos de aplicação. Esta, é de grande distribuição geográfica sendo a mais extensa, depois de Compositae e Orchitaceae, Compreende três sub-famílias: *Faboideae, Caesalpinoideae e Mimosoideae,* às quais estão subordinadas cerca de 650 gêneros e 18.000 espécies (ALVES, 2007).

A *Mimosidae* apresenta flores tubulares pequenas e regulares, agrupadas em inflorescências globosas ou em forma de bastão, e os estames são a parte mais atrativa da flor. A *Papilionoideae* tem flores zigomorfas com as do feijão, com pétalas muito atrativas. A *Caesalpinoideae* apresenta flores mais abertas dentre as Leguminosas, com cinco pétalas (ALVES, 2007).

As leguminosas têm várias vantagens ecológicas que lhes permitem competir com sucesso e colonizar quase todos os ambientes do planeta, como a alto teor de nitrogênio nas folhas que lhes permitem realizar maiores taxas de fotossíntese, produzindo mais nutrientes e proporcionando crescimento mais efetivo, principalmente em áreas com grande incidência de luz solar (ALVES, 2007).

Considerações botânicas e fitoquímicas da família Leguminosae foram revisadas e os dados demonstram que esta família é particularmente rica em flavonoides e compostos biogeneticamente relacionados como rotenóides e isoflavonóides. Alcalóides, terpenpoides e esteróides são exemplos de outras classes presentes em muitos representantes da família. Os taninos, todavia, têm freqüência muito baixa se comparada aos flavonóides (HEGNAUER; BARKMEIJER, 1993; ZARUCCHI, 1994).

Com base nessa premissa, é de grande interesse investigar o potencial de espécies pertencentes a essa família na proteção da mucosa gástrica, em especial as espécies *Parkia platycephala* Benth. e *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire, no sentido de contribuir para o estudo das propriedades farmacológicas das espécies e da família.

1.1.1 *Parkia platycephala* Benth.

As plantas da família Leguminosae, subfamília Mimosoideae e gênero *Parkia*, incluem-se entre os componentes da biodiversidade vegetal do Brasil com áreas de dispersão nas regiões Norte, Centro-Oeste e Nordeste (principalmente nos estados do Piauí, Ceará e Maranhão), com destaque para a faveira, faveira-preta, visgueira, ou fava-de-bolota (*Parkia platycephala* Benth.). Árvore de folhas bipinadas, folíolos pequenos, vernocosos; flores vermelho-escuro, dispostos em capítulos esféricos de 4-5cm com pedúnculos filiformes de 30 cm; fruto em forma de vagem oblonga, indeiscente, um pousci carnosa, contendo as sementes (CORRÊA, 1952). Suas vagens são muito utilizadas na suplementação alimentar para ruminantes, especialmente caprinos e bovinos, nas áreas de cerrado e "cerradão" devido principalmente a sua sazonalidade de produção ser concentrada nos meses de agosto a outubro, quando a fome, a sede e o calor maltratam os rebanhos (ALVES, 2004; NASCIMENTO; MACHADO, 2007) (Figura 1).

Figura 1: *Parkia platycephala* Benth. Detalhes: A. Árvore; B. Frutos; C. Flores. ALMEIDA, F. R. C., 2007.

Algumas espécies do gênero *Parkia* apresentam atividades farmacológicas de grande importância. Extratos obtidos das sementes

fermentadas de *Parkia biglobosa* têm possíveis atividades antidiabéticas e antihiperlipidêmicas (ODETOLA, 2006) e contra agregação plaquetária (RENDU; SALEUN; AUGER, 1993); das cascas de *Parkia biglobosa* foi reportada atividades analgésicas e anti-inflamatórias (KOUADIO et al., 2000) e antiofídicas (ASUZU; HARVEY, 2003); atividades moduladora de corticosteróides e anti-diarréicas também foram encontrados em *Parkia biglobosa* (AGUNU et al, 2005; KODJO et al, 2006) em sementes de Parkia pendula foi registrado atividade anti-viral (FAVACHO et al, 2007). Lectinas encontradas nas sementes de *Parkia platycephala* foram capazes de liberar histamina de mastócitos de ratos Wistar de maneira dependente de concentração (LOPES et al, 2005).

O estudo químico de espécies desse gênero resultou no isolamento de várias substâncias, como os triterpenos ß-amirina e lupeol da *Parkia pendula;* campesterol, estigmasterol, β-sitosterol da das sementes de *Parkia biglobosa* (AKINTAYO, 2004) além de ácido ferúlico, catequina e epi-catequina obtidos das cascas do caule de *Parkia biglobosa* (TRINGALI; SPATAFORA; LONGO, 2000).

A presença de constituintes químicos neste gênero que apresentam atividade antioxidante e gastroprotetora, nos levou a avaliar esta atividade do extrato etanólico obtido das folhas de *Parkia platycephala* Benth. em modelos animais

1.1.2 *Cenostigma macrophyllum* Tul. var*. acuminata* Teles Freire

A sub-família Caesalpinoideae é constituída pelas tribos Detarieae, Cassieae, Cercidieae e Ceaesalpinieae. A tribo Ceaesalpinieae é constituída por 47 gêneros, dentre eles está o *Cenostigma* Tul., que é formado por 4 espécies: *C. gardnerianum* Tul; *C. macrophyllum* Tul; *C. tocantinum* Ducke e *C. sclerophyllum*, das quais apenas a *C. tocantinum* tem ocorrência fora dos limites brasileiros, tendo como registro o “Chaco paraguaio”. Há taxonomistas que não consideram a subdivisão da Leguminosae nas sub-famílias Faboideae, Caesalpinoideae e Mimosoideae, considerando-as como

famílias independentes entre si (ZARUCCHI, 1994; FREIRE, 1994; WHITE, 2000).

Cenostigma macrophyllum Tul. var. *acuminata* Teles Freire é uma árvore que pode atingir até 20 metros de altura, apresentando galhos com folhas paripinadas, flores terminais e legume com 8-17 centímetros de comprimento, 2,5-4 centímetros de largura e ápice acuncinado. Sua frutificação ocorre no período de fevereiro a junho. Seu caule é bastante característico, sulcado e na época da floração, de agosto a fevereiro, sua copa se apresenta totalmente coberta por lindas flores amarelas, arranjadas arquitetonicamente em inflorescências ora piramidais, ora cilíndricas. Sua beleza a faz ser empregada como planta ornamental e através do Decreto Municipal N° 2407-13/08/93, esta árvore popurlamente conhecida como caneleiro, canela-de-velho, maraximbé ou fava-do-campo, tornou-se a árvore símbolo da Cidade de Teresina (FREIRE, 1994). (Figura 2).

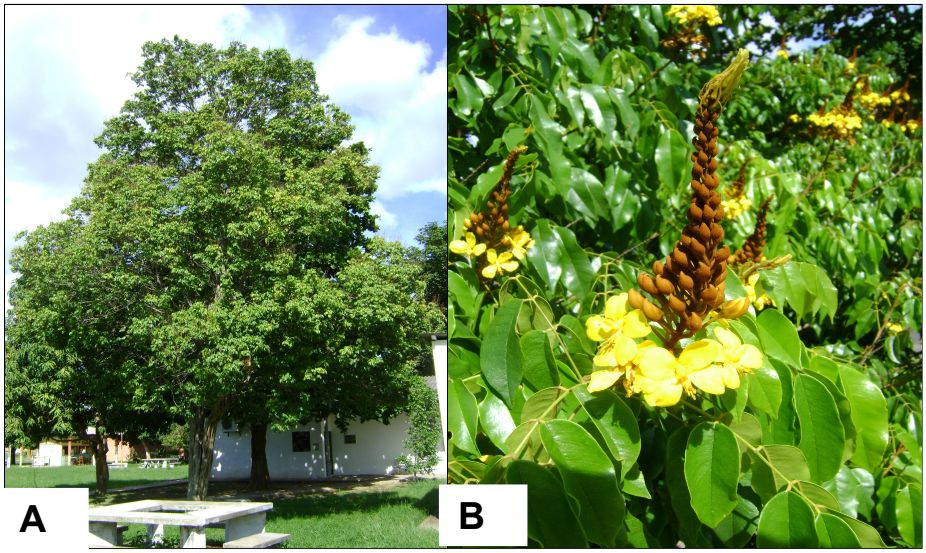


Figura 2: *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire. A: Panta inteira. B**:** Detalhe dos ramos com inflorescência e flores. CARVALHO, F. C. B , 2009. Fotografia digital.

Levantamento etnobotânico, realizado na região do semi-árido piauiense, consta que as cascas do caule, folhas e flores da *C. macrophyllum* Tul. var*. acuminata* Teles Freire, são usadas popularmente para o tratamento de doenças estomacais e intestinais (SOUSA et al., 2007). Estudos com extrato e frações das folhas desta espécie revelaram a presença de atividades

diversas, dentre as quais, antioxidante (SOUSA et al., 2007), inibidora de glicação protéica (PIAUILINO et al., 2008; REIS; MARANHÃO; BRITO, 2002), anti-inflamatória, antinociceptiva, antibacteriana e antiulcerogênica (PEREIRA et al., 2006; SANTOS et al., 2000; ALMEIDA et al., 2002).

A avaliação química da casca do caule levou ao isolamento e identificação da dilactona do ácido valoneico, ácido elágico, lupeol, ferulato de alquila, colesterol, campesterol, stigmasterol e sitosterol, mostrando uma predominância de esteróides e compostos relacionados a taninos. Outras espécies desta família são ricas em substâncias de outros grupos fitoquímicos, tais como, antraquinonas, polissacarídeos, lipídios, triterpenos, diterpenos, esteróides, taninos, além de flavonóides (SILVA et al., 2007) (Figura 3).

Das sementes, extraiu-se o óleo e constatou-se a presença de diversas substâncias antioxidantes como vitaminas A e E. Ainda constatou a presença de um importante ácido graxo envolvido na regeneração celular: ácino linoléico. Das cascas do fruto extraiu-se lupeol, sitosterol e estigmaterol (COSTA, 2005) (Figura 4).

O estudo fitoquímico das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire, caneleiro (Caesalpiniaceae, Leguminosae) possibilitou a identificação de biflavonas e triterpenóides (SANTOS, 2001) (Figura 5).

A escolha da fração hidroalcoólica (FHA) das folhas foi feita com base em dados anteriores obtidos em estudo químico que demonstrou o potencial desta fração para a obtenção de biflavonas (SANTOS, 2001). Dados preliminares obtidos com extrato etanólico das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. acuminata Teles Freire, apontaram para efeitos gastroprotetores contra lesões induzidas por etanol (COSTA, 2005).

Considerando os efeitos já demonstrados na literatura de flavonóides e terpenóides a favor da proteção gástrica, nos propomos a avaliar a atividade da fração hidroalcoólica obtida a partir do extrato etanólico das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA), em diversos modelos de indução de lesão gástrica.

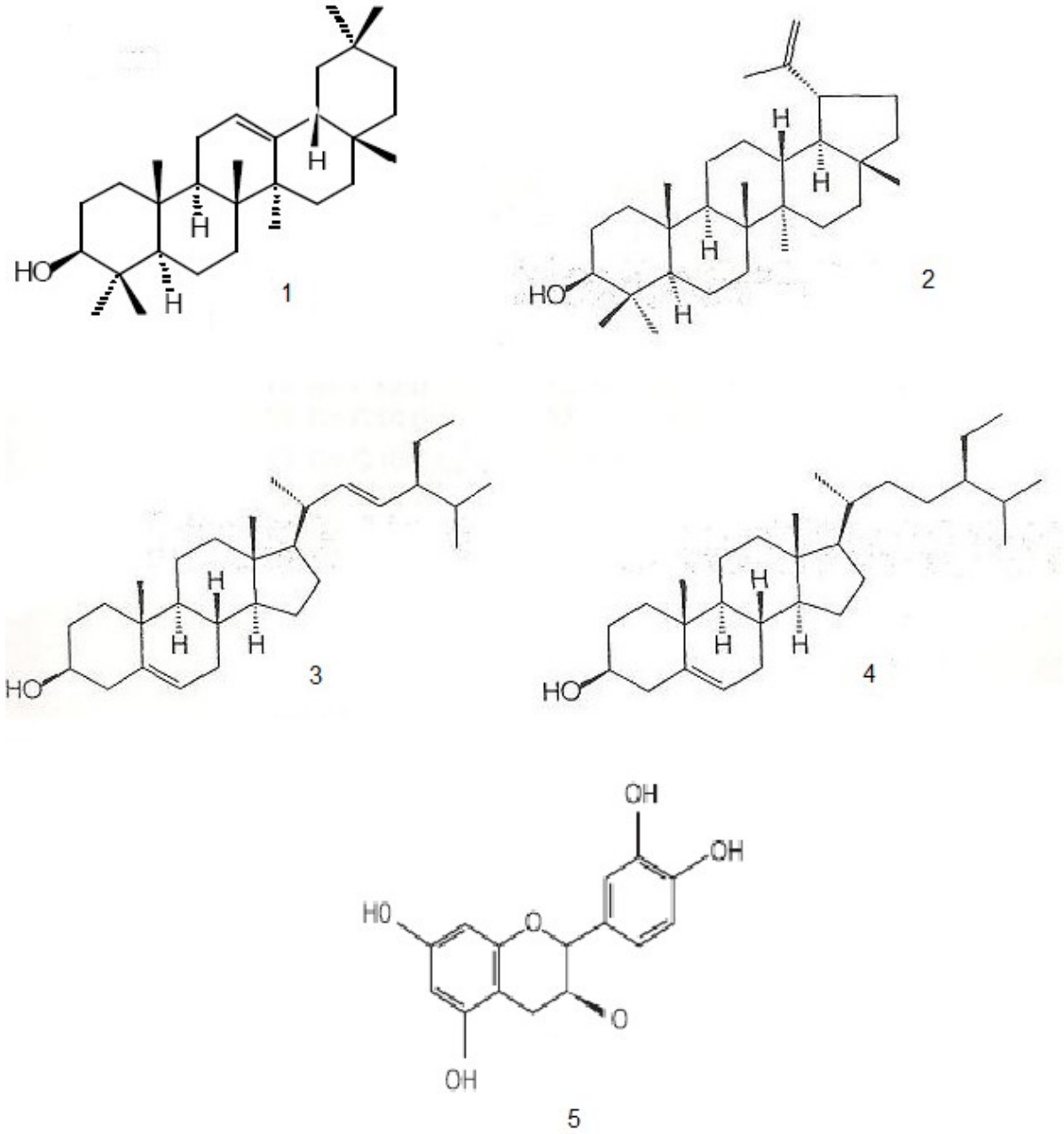


Figura 3: Constituintes isolados do gênero *Parkia*: 1. ß-amirina; 2. Lupeol; 3. Stigmasterol; 4. Sitosterol; 5. Epicatequina (AKINTAYO, 2004; TRINGALI; SPATAFORA; LONGO, 2000)

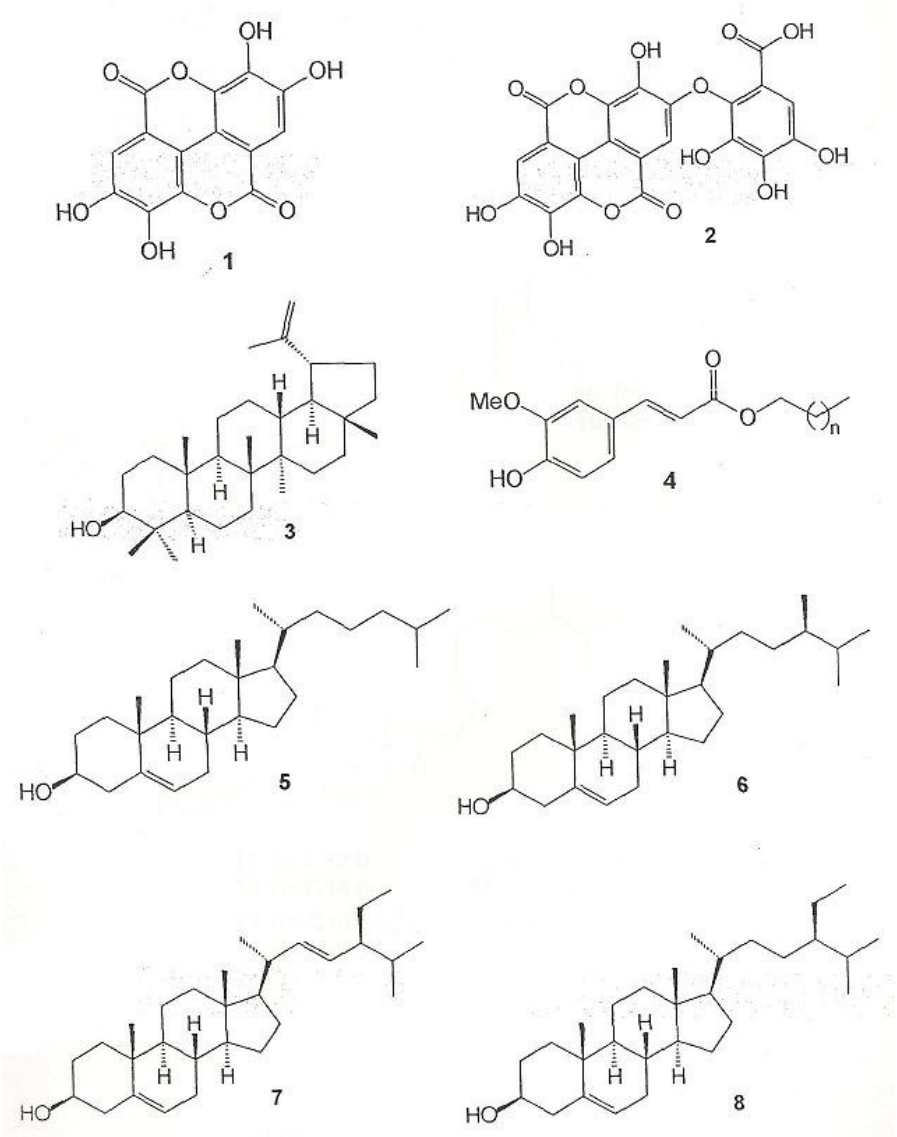


Figura 4: Constituintes isolados da casca do caule de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. acuminata Teles Freire: 1. Ácido elágico; 2. dilactona do ácido valoneico; 3. Lupeol; 4. Ferulato de alquila; 5. Colesterol; 6. Campesterol; 7. Stigmasterol; 8. Sitosterol (SILVA et al., 2007).

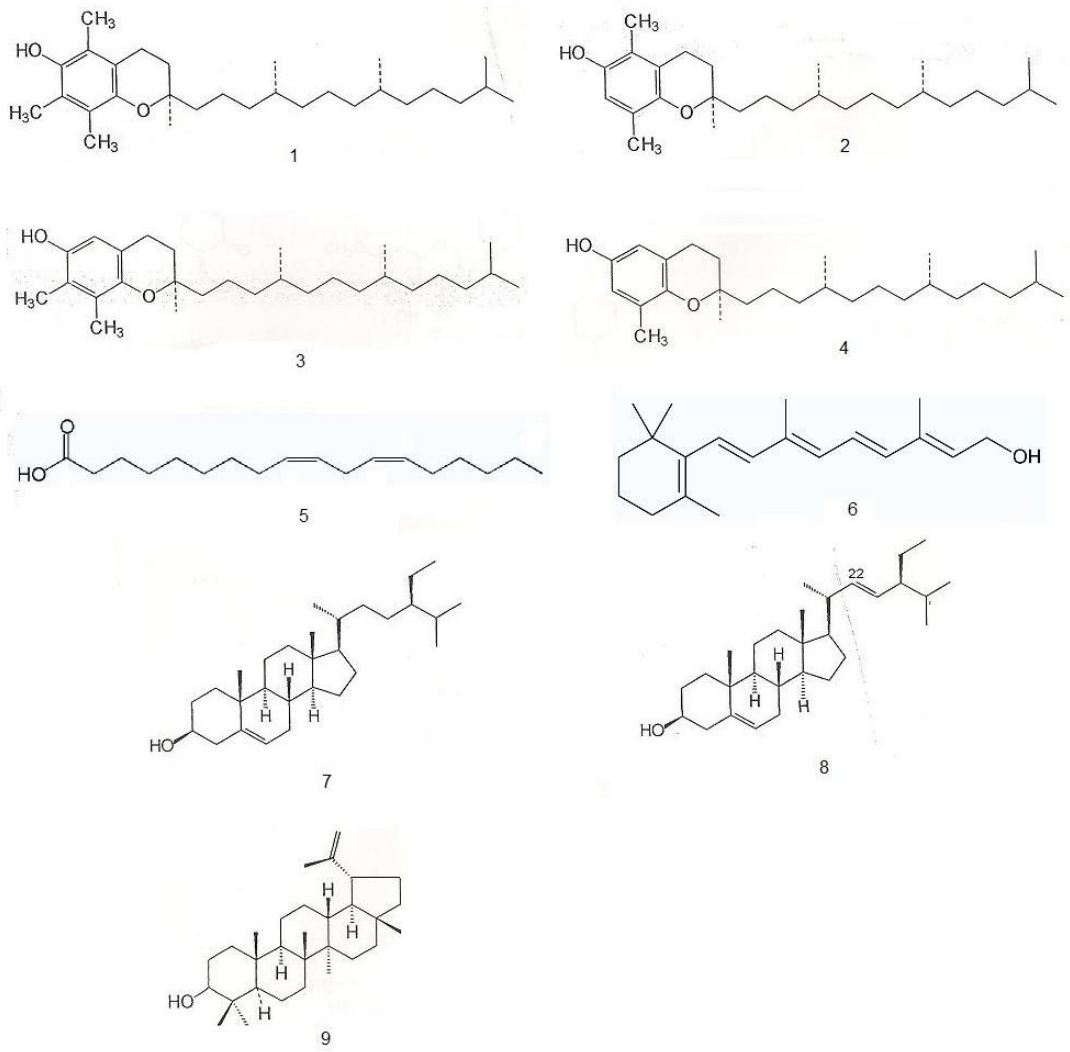


Figura 5: Constituintes isolados das sementes e dos frutos de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. acuminata Teles Freire: 1. α-tocoferol; 2. β-tocoferol; 3. γ-tocoferol; 4. δ-tocoferol; 5. Ácido linoléico; 6. Vitamina A (retinol); 7. Sitosterol; 8. Stigmasterol; 9. Lupeol (COSTA, 2005).

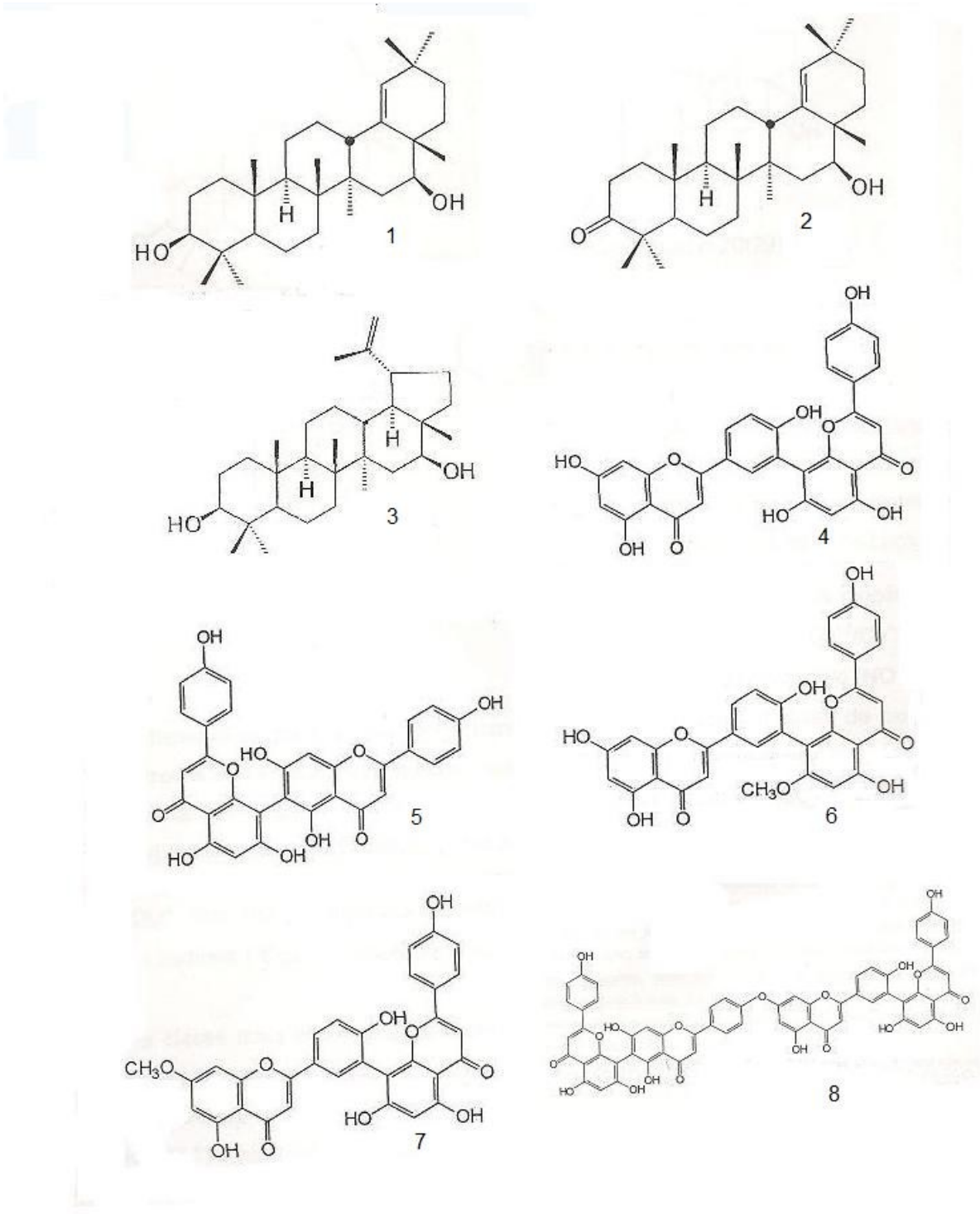


Figura 6: Triterpenos e biflavonas isolados das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire: 1. 16β -hidroxiolean-18-en-3-ona; 2. 3β,16β-dihidroxiolean-18-eno; 3. 3β,16β-diidroxilup-20(29)-eno; 4. amentoflavona; 5. agatisflavona; 6. 7''-metoxi- amentoflavona; 7. 7-metoxi- amentoflavona; 8. Tetraflavona (COSTA, 2005).

1.2 Fisiopatologia do Trato Gastrintestinal

Anatomicamente, o estômago divide-se em 3 porções: fundo, corpo e antro pilórico; sendo limitado por 2 sistemas esfincterianos: o esfíncter esofagiano 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) (FIGURA 7).

A mucosa é constituída de epitélio colunar disposto em dobras, formando as criptas gástricas; cada cripta se abre para um ducto que contém várias glândulas. A mucosa gástrica é dividida em três regiões baseada na estrutura dessas glândulas: cárdia, parietal e antro-pilórica (MARIEB; HOEHN, 2006) (FIGURA 7).

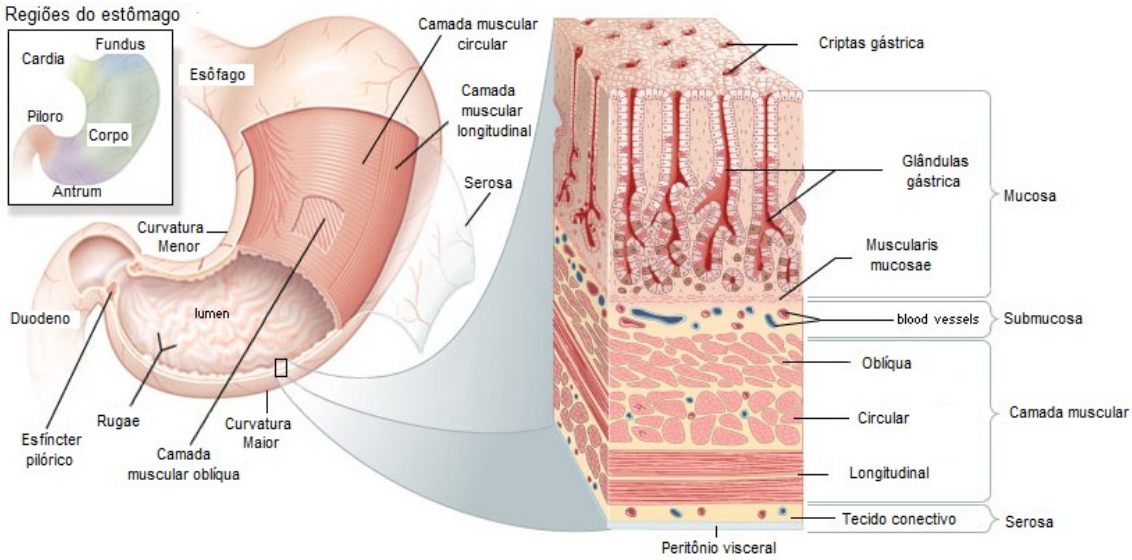


Figura 7: O estômago e suas estruturas. Enciclopédia Britânica, 2003.

A região glandular da cárdia, localizada abaixo do esfincter esofagiano inferior, contém primeiramente células secretoras de muco. A região glandular parietal, correspondente as regiões do corpo e do fundo, tem como característica a produção e secreção de ácido clorídrico. A região antro-pilórica, com células secretoras de muco e células-G, secretoras de gastrina.(HERSEY; SACHS; 1995)

As diversas funções desenvolvidas pelas células das quatro camadas do

estômago são fortemente influenciadas pelos nervos presentes neste órgão (SUNDLER; EKBLAD; MEI, 2000). A grande maioria das fibras nervosas extrínsecas que chegam ao estômago originam-se do nervo vago. As fibras vagais eferentes são parassimpáticas pré-ganglionares que se originam nos núcleos motor, ambíguo e trato solitário. Seus alvos serão os gânglios do plexo mioentérico (inervação gástrica intrínseca) exercendo controle via sistema nervoso central do relaxamento receptivo, motilidade, esvaziamento e secreção gástrica (GERSHON; KIRCHGESSNER; WADE, 1994).

Fibras aferentes vagais originam-se no gânglio jugular, apresentado-se em dois tipos: mecano e quimio-receptores (ROMAN; GONELLA, 1987). Ainda, há inervação sensitiva no estômago através dos nervos esplânico e mesentérico (RANIERI; MEI; CROUSILLAT, 1973).

A inervação simpática do trato gastrointestinal é realizada principalmente por fibras pós-ganglionares que inervam diretamente os vasos sangüíneos e o músculo liso, inibindo a motilidade e a atividade secretora do sistema gastrointestinal, porém estimula a contração da *muscularis mucosae* e de alguns esfíncteres (LONGHURST; STTEBINS; ORDWAY, 1984a; LONGHURST et al., 1984b).

Além da inervação extrínseca, o estômago abriga uma extensa rede neuronal intrínseca, formada pelos gânglios do plexo submucoso, mioentérico e seroso. O primeiro é de distribuição escassa, enquanto o mioentérico é extenso e numeroso ao longo de todo o estômago, constituído por diversas populações de neurônios (colinérgicos, peptidérgicos, GABAérgicos, nitrérgicos, serotoninérgicos, dopaminérgicos, purinérgicos), sendo importante fonte de inervação da mucosa gástrica, submucosa e musculo liso (SUNDLER; EKBLAD; MEI, 2000). Essas fibras são extensamente distribuídas pelos vasos sanguineos e mucosa gástrica, desempenhando importante papel na gastroproteção (HOLZER, 1998). Todas estas estruturas trabalham juntas na manutenção da mucosa gástrica, na proteção contra agentes agressores e regulação da secreção gástrica.

Uma das mais importantes funções do estômago é a produção de ácido. O ácido gástrico facilita a digestão de proteínas, a absorção de ferro, cálcio, vitamina B12, e previne o crescimento bacteriano e a infecção entérica. A regulação envolve vias aferentes e eferentes do sistema nervoso central e

entérico, assim como a atuação de células neuroendócrinas e imunes pelas vias autócrina, parácrina, e hormonal (SCHUBERT, 2004)

As vias regulatórias convergem em 4 células cruciais para a secreção ácida: (1) as células parietais da mucosa oxíntica (corpo e fundo gástrico), que produzem ácido clorídrico; (2) as células do tipo enterocromafins (ECL) da mucosa oxíntica, que produzem a histamina (principal estimulante parácrino da secreção ácida); (3) as células G da mucosa antral, que produzem a gastrina (principal estimulante hormonal da secreção ácida); e (4) as células D da mucosa oxíntica e antral, que produzem a somatostatina (principal inibidor parácrino da secreção ácida) (SCHUBERT, 2004).

Em resposta a um contato com o alimento, seja visual ou oufatório, o sistema nervoso central estimulam a liberação de gastrina. A gastrina é o principal mediador da secreção ácida estimulada por alimento. Sua estimulação ocorre diretamente via receptores CCK-2 na célula parietal e, principalmente, indiretamente pelos receptores CCK-2 nas células ECL. As células ECL liberam histamina que estimulam a secreção ácida ativando os receptores H-2 presentes nas células parietais (SCHUBERT, 2004).

Após contato com o alimento o cérebro também envia sinai através do nervo vago, com liberação de acetilcolina. A acetilcolina (ACh), liberada dos neurônios pósganglionares do sistema nervoso entérico, estimula diretamente a secreção de ácido através da ativação dos receptores M-3 nas células parietais. Nas células enterocromafins também existem receptores M1, que também estimulam a secreção de gastrina quando ativados pela acetilcolina(HIRSCHOWITZ; MOLINA, 1983).

Este ácido secretado pelas células parietais não lesionam as células estomacais graças aos eficientes mecanismos gastroprotetores da mucosa gástrica.

A mucosa gástrica possui uma barreira dinâmica, permitindo a passagem de certos íons e moléculas para o corpo e restringindo a entrada de outros. Esta proteção não é realizada apenas por uma barreira anatômica, mas por uma série de mecanismos de defesa consecutivos que mantém a integridade da mucosa (FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001).

A defesa da mucosa gástrica pode ser dividida em fatores pré-epitelial, epitelial e sub-epitelial. Esta divisão é arbitrária, pois as funções

epiteliais como um todo funcionam em conjunto para prevenir as lesões (FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001).

A primeira linha de defesa é composta primordialmente pela camada muco-alcalina-fosfolipídica. O muco gel, secretado por expulsão da superfície apical das células epiteliais gástricas, consiste de um gel viscoso, elástico, aderente e transparente formado por 95 % de água e 5 % de glicoproteínas (REPETTO; LLESUY, 2002). É secretado por células secretoras de muco encontradas entre as células superficiais por toda a mucosa gástrica (KUTCHAI, 1996). É nesta camada mucosa que fica retido o bicarbonato e os fosfolipídios.

O bicarbonato retido no muco mantém o pH deste micro-ambiente neutro, impedindo a ação digestória proteolítica da pepsina. A regulação fisiológica desta secreção envolve diversos fatores, como as prostaglandinas, peptídeos e fatores neuronais (FLEMSTROM; GARNER, 1982). No estômago, o aumento da secreção de muco e HCO_3 é regulada pelas prostaglandinas PGE_2 através da interação com receptores EP1 (TAKEUCHI et al, 2006).

Os fosfolipídios contidos na camada de muco tem propriedades surfactantes, com forte propriedade hidrofóbica, reduzindo ainda mais penetração de várias substâncias (LAINE, 2008). Um dos mecanismos para tal barreira fosfolipídica se dá através da PGE_2, que aumenta o volume de organelas das células epiteliais da mucosa gástrica, servindo como estoque de surfactante (KAO; LICHTENBERGER, 1993).

A camada muco-alcalina-fosfolipídica é secretada pelas células epiteliais da mucosa gástrica, pela extrusão da região apical destas células.

As células epiteliais gástricas têm propriedades intrínsecas de proteção tanto por sua disposição anatômica quanto por sua constituição bioquímica (SZABO, 1991). Além de secretar muco e bicarbonato, as células epiteliais produzem prostaglandinas, proteína do choque térmico, que agem contra a desnaturação proteica e lesão celular (TANAKA et al, 2007), e catelicidinas, que impede a proliferação microbiana (TAUPIN; PODOLSKY, 2003). Devido à presença de junções fechadas (Gap) e outras barreiras intercelulares, as células epiteliais controlam a passagem de agentes lesivos do lúmem para a mucosa gástrica, espaços intersticiais e submucosos (SZABO, 1991; FLEMSTRÖM: ISENBERG, 2001).

Quando as barreiras gástricas são destruídas e ocorre morte celular, as células necróticas podem ser repostas pela migração das células epiteliais sobreviventes nas bordas da lesão ou pela divisão das células do colo glandular que migram até o lúmem e diferenciam-se em células epiteliais superficiais (SZABO, 1991; WALLACE; GRANGER, 1996).

O fator de crescimento da epiderme acelera a cicatrização das úlceras tanto por estimular a proliferação e a migração celular; modular o fluxo sanguíneo, assim como por inibir a secreção de ácido e pepsinas (ORSINI et al, 1993; KONTUREK et al., 1984).

Outro componente da proteção epitelial são os fatores de crescimento que estimulam importantes elementos celulares de cicatrização da úlcera como a angiogênese, formação de tecido e re-epitelização (SZABO; VINCZE, 2000). O fator de crescimento epidermal (EGF) está intimamente envolvido na manutenção da integridade da mucosa por estimular da síntese de DNA e regulação da proliferação e diferenciação de uma variedade de tipos celulares no trato gastrintestinal (ELLIOTT et al., 2000).

A integridade das células da mucosa gástricas também é mantida pelo aumento da produção de fatores protetores como muco e bicarbonato; como exemplo de tais compostos com essa atividade destacamos as prostaglandinas.

As prostaglandinas (PGs) são derivados de ácidos graxos compostos por 20 carbonos. São encontradas em todos os tecidos e órgãos e estão envolvidas em uma variedade de funções fisiológicas e patológicas. São sintetizadas a partir de diferentes ácidos graxos essenciais, entre eles, o ácido araquidônico (AA). As PGs derivadas do ácido araquidônico são denominadas de série-2, e consistem a prostaglandina E_2 (PGE_2), prostaglandina D_2 (PGD_2), prostaglandina I_2 (PGI_2), prostaglandina F_2 e tromboxano A_2 (TXA_2). As PGs são liberadas da célula imediatamente após a síntese e vão exercer suas funções biológicas através da interação com receptores prostanóides presentes nas superfícies das células de maneira autócrina e parácrina (DEY ; LEJEUNE; CHADEE, 2006).

PGs inibem secreção ácida; estimula secreção de muco, bicarbonato e fosfolipídeos, aumenta fluxo sanguíneo; acelera a restituição epitelial. Também inibem ativação de mastócitos, e aderência de leucotrienos

no endotélio (SZABO, 1991).

As PGs têm efeito na motilidade, secreção e citoproteção do trato gastrintestinal. A PGE_2 pode 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).

Com relação às defesas primárias da mucosa gastrintestinal, as PGE_2 têm um efeito estimulatório na secreção de bicarbonato, que parece estar relacionado com receptores EP_1 no estômago e EP_3/EP_4 no duodeno (HIROKAWA et al, 2004).

Um dos mais importantes componentes de defesa da mucosa é a resposta da circulação sanguínea a agentes irritantes. Os leitos arteriais se ramificam em pequenos capilares, entram em contato íntimo com as células epiteliais gástricas. Na superfície baso-lateral dessas células os capilares convergem-sem em vênulas. As células endoteliais desses leitos produzem potentes vasodilatadores como o óxido nítrico (NO) e prostaciclina (PGI_2) que protegem a mucosa gástrica contra lesões provocadas por leucotrieno C_4, tromboxano A_2, mobilização e aderência de leucócitos no endotélio, prevenindo comprometimento da microcirculação (GUTH, 1992).

Quando ácidos ou outros irritantes entram na camada subepitelial, neurônios sensoriais, localizados logo abaixo da lâmina própria da mucosa gástrica, detectam-nos e medeiam um rápido aumento no fluxo sanguíneo da mucosa, permitindo a rápida remoção das substancias tóxicas, limitando a penetração em camadas mais profundas da mucosa (WALLACE; GRANGER, 1996). Essa estimulação leva a liberação de neurotransmissores, tais como o peptídio relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), nas terminações nervosas próximas aos leitos venosos da submucosa. CGRP medeia vasodilatação desses leitos principalmente pela produção de óxido nítrico endotelial, um dos principais reguladores do fluxo sanguíneo aumentando o fluxo sanguíneo. A resposta hiperêmica é também fundamental para processos de restituição da mucosa (HOLZER; SAMETZ, 1986).

A modulação farmacológica do esvaziamento gástrico, da

motilidade duodenal e da mistura ácido-base representa mecanismos de defesa gástrica. Os vasos sanguíneos gástricos atravessam a *muscularis mucosae* tanto perpendicularmente quanto obliquamente. Assim, a contração do músculo liso da parede gástrica comprime os pequenos vasos, favorecendo a lesão endotelial e o desenvolvimento de congestão e estase local por drogas como o etanol (SZABO; BYNUM, 1988; HOLZER; LIVINGSTONE; GUTH, 1994).

Quando os níveis superficiais de defesa da mucosa falham, ou são transpostos por fatores agressores, o próximo nível de defesa da mucosa ativado é a resposta inflamatória aguda. Os neutrófilos são recrutados da circulação para o local de ação para facilitar a cicatrização e reduzir a entrada de microorganismos na circulação sistêmica (WALLACE, 2001). Entretanto estes imunócitos podem poduzir grandes quantidades de radicais livre na mucosa gástrica iniciando importante danos oxidativos na mucosa.

As espécies reativas de oxigênio (EROS) coexistem em equilíbrio com moléculas antioxidantes nas células. O aumento dos níveis intracelulares de ROS, a diminuição das defesas antioxidantes, ou ambos é denominado estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode ser impedido por defesas antioxidantes enzimáticas e químicas. As enzimas que promovem a primeira linha de defesa contra superóxido e peróxido de hidrogênio são a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (Gpx) (FIGURA 8). Moléculas químicas pequenas também têm papel antioxidante como vitaminas, flavonóides, carotenóides, ácido úrico e glutationa (GSH), promovendo uma segunda linha de defesa (CNUBBEN et al. 2001).

O GSH é um tripeptídeo (- L- Glu- L- Cys- Gly) com alta capacidade doadora de elétrons (alto potencial redox negativo) devido ao grupamento tiol (- SH) na porção cisteína, combinada com uma alta concentração intracelular, resultando em um alto poder redutor. Estas características justificam sua potente atividade antioxidante e sua propriedade de cofator enzimático, importantes para regulação da atividade celular. Sob condições de estresse oxidativo, as ROS são reduzidas por GSH com concomitante formação do dissulfito oxidado, a GSSG (ou glutationa oxidada) (GRIFFITH; MULCAHY, 1999).

Para manter o equilíbrio redox celular, o GSSG é exportado das células por

proteínas de transporte dependentes de ATP, implicando que condições severas de estresses diminuem níveis celulares de GSH (CNUBBEN et al, 2001). Esta depleção de GSH está relacionada com a patofisiologia de muitas doenças. (CANTIN; HUBBARD; CRYSTAL, 1989; BUNNELL; PACHT, 1993; ROUM et al., 1994), sugerindo um importante papel do GSH na manutenção da integridade dos sistemas fisiológicos. A conjugação não-enzimática do GSH com compostos eletrofílicos ocorre apenas quando o eletrófilo é muito reativo. Desta forma, a conjugação é favorecida pela ação da enzima glutationa S-transferase (GST) (DICKINSON; FORMAN, 2002).

GST (Glutationa S-Transferase) é uma super família de isoenzimas que catalisam a conjugação de compostos eletrofílicos a GSH, produzindo compostos menos reativos (CNUBBEN et al, 2001). A GST participa da defesa contra o estresse oxidativo devido a capacidade desta enzima em detoxificar compostos endógenos lesivos, como xenobióticos eletrofílicos e/ou intermediários reativos formados durante sua biotransformação (CNUBBEN et al., 2001). A GST possui a habilidade de conjugar diversos substratos com o GSH devido a sua natureza relativamente não específica do sítio de ligação para o substrato hidrofóbico e pela existência de inúmeras isoformas dessa enzima (SCHULTZ; DUTTA; TEW, 1997), auxiliando na eliminação de EROS.

As espécies reativas de oxigênio são liberadas dos neutrófilos ativados, podendo resultar em danos teciduais. Em condições de estresse oxidativo, a superóxido dismutase (SOD) atua como um sistema de defesa intracelular que degrada o ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (YASUI, BABA, 2006)

Estudos demonstraram que a SOD apresenta um alto poder inibitório da inflamação mediada por neutrófilos através da modulação da apoptose dos mesmos (YASUI, BABA, 2006). Os neutrófilos estão entre as primeiras células a serem recrutadas para os sítios de inflamação. Estas células, quando ativados, aderem ao endotélio vascular e migram para o espaço extravascular até o sítio alvo da inflamação, onde produzem proteases, quimiocinas e EROS, como o superóxido. Estes, danificam o tecido normal, e proteínas da matriz extracelular e citocinas liberadas posteriormente mantêm o influxo de células inflamatórias.

Outro sistema enzimatico conhecido por degradar de radicais

superóxido é a A enzima NADPH quinona oxidorredutase 1(NQO1) (SIEGEL et al., 2004).

NQO1 também protege as células contra o estresse oxidativo (MATES, 2001). A NQO1 é uma enzima antioxidante que catalisa a redução de dois elétrons de quinonas (endógenas e exógenas) formando hidroquinonas, sem que aja a produção de espécies reativas do oxigênio, auxiliando na proteção da membrana celular contra os danos oxidativos (ROSS et al., 2000).

Tanto a SOD como NQO1 tem propriedade de degradar o íon superóxido, produzindo o peróxido de hidrogênio. Este por sua vez é degrado pela catalase.

A catalase (CAT) é uma enzima tetramérica encontrada em todos os organismos aeróbios. Ela metaboliza o peróxido de hidrogênio de maneira extremamente rápida e pode atuar de duas maneiras, dependendo da concentração do substrato. Em altas concentrações de substrato, a CAT decompõe rapidamente o peróxido de hidrogênio tóxico rapidamente utilizando a reação catalítica, na qual o H_2O_2 atua como aceptor e doador de hidrogênio: $2H_2O_2$ $2H_2O + O_2$, promovendo à célula um mecanismo altamente eficiente de remoção do peróxido de hidrogênio (OSHINO et al, 1973). A catalase tem um papel protetor importante contra os efeitos tóxicos dos peróxidos gerados nos peroxissomos e os remove com grande eficácia (SIRAKI et al, 2002), diminuindo dano pelos radicais livres.

Enquanto os mecanismos de protetores e agressores permanecerem em equilíbrio, mucosa gástrica continuará saudável. Quando os fatores agressores sobrepujam nesse equilíbrio, o aparecimento de lesões gástricas e a formação de úlceras tendem a aparecer comprometendo a funcionalidade da mucosa gástrica.

A úlcera é uma lesão profunda da mucosa, onde tanto os componentes dos tecidos epitelial e conjuntivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso,vasos e nervos, podem ser destruídos (MILANI; CALABRÒ, 2001). As úlceras do trato digestório podem se apresentar de três formas: úlcera péptica, que é a úlcera que se apresenta tanto no estômago como no duodeno, úlcera duodenal, que se apresenta apenas no duodeno e a úlcera gástrica que se apresenta apenas no estômago.

Segundo Szabo (1991), a lesão celular ou tecidual da mucosa

gástrica pode ocorrer por causas adquiridas ou inatas. As cinco causas mais comuns de lesão celular ou tecidual ocorrem por: (1) hipóxia e isquemia (resultante da diminuição do fluxo sangüíneo ou do decréscimo da hemoglobina ou ainda da diminuição das enzimas antioxidantes dos tecidos); (2) por agentes químicos (como monoaminas, eicosanóides, endotelinas, drogas sintéticas, e principalmente substâncias químicas ingeridas propositadamente como o etanol); (3) por agentes biológicos (como vírus, bactérias, fungos, parasitas, levando a reações imunológicas que geralmente são desenvolvidas para a defesa do organismo, entretanto produzem radicais livres tóxicos que contribuem para a injúria tecidual); (4) por fatores físicos (estresse, temperaturas extremas, força mecânica) e (5) por defeitos genéticos.

As úlceras provavelmente resultam de diferentes mecanismos patogênicos e, independente de sua etiologia, esta é formada quando ocorre um desequilíbrio entre fatores agressores da mucosa, sejam eles endógenos (ácido clorídrico e pepsina) ou exógenos (antiinflamatórios não esteroidais, fumo), e os fatores protetores da mucosa gástrica (muco, bicarbonato, prostaglandinas, fluxo sanguíneo, óxido nítrico) (GLAVIN; SZABO, 1992; WALLACE; GRANGER, 1996).

As plantas podem fornecer compostos capazes tanto de reduzir fatores agressivos como aumentar a resistência da mucosa gástrica simultaneamente (em sinergismo), possibilitando o tratamento das ulcerações gástricas com maior eficácia (BORRELI; IZZO, 2000). Além disso, os produtos naturais também podem contribuir para a terapêutica dos distúrbios gástricos, através de tratamentos mais acessíveis, atendendo uma grande parcela da população brasileira (70 – 80 %) que não tem poder aquisitivo suficiente para participar do mercado consumidor (FERREIRA et al., 2008).

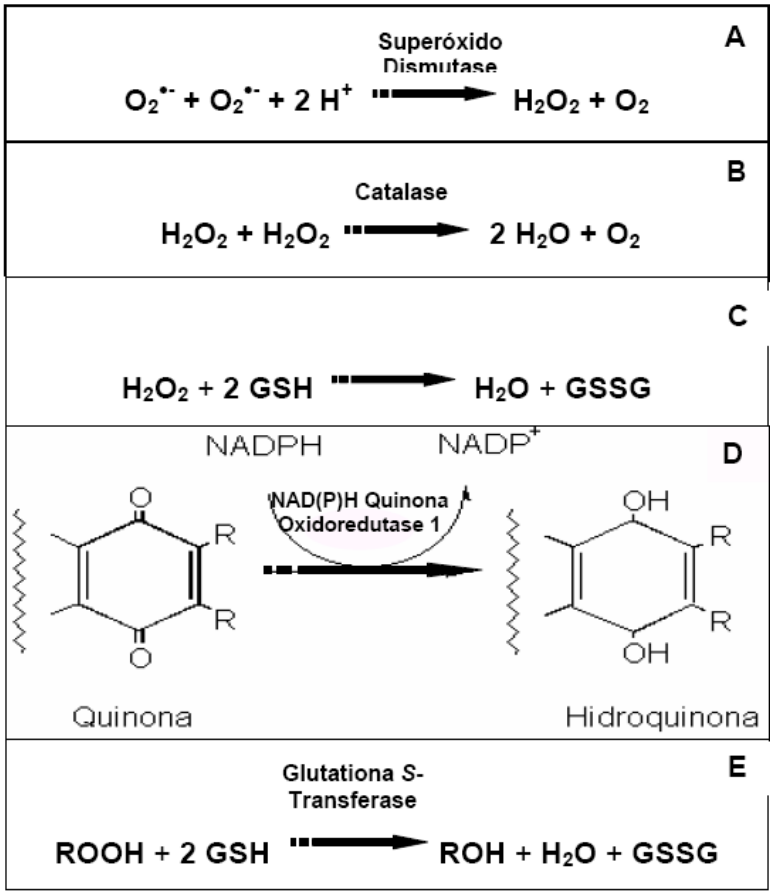


Figura 8: Reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase (A), catalase (B), glutationa peroxidase (C), NAD(P)H quinona oxidoredutase 1 (D) e glutationa *S*-transferase (E) (adaptado de CNUBBEN *et al*. (2001) por BAGGIO, 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral:

Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato etanólico obtido das folhas de *Parkia platycephala* Benth. (Pp-EtOH) e da fração hidroalcoólica obtida a partir do extrato etanólico das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA) em modelos agudos de lesões gastricas induzidas por etanol, etanol acidificado em camundongos e isquemia-reperfusão e ligadura de piloro em ratos.

2.2 Específicos:

Avaliar o potencial toxicológico do extrato Pp-EtOH e da fração Cm-FHA através da citoxicidade em eritrócitos de ratos e do teste da toxicidade aguda em camundongos*;*

Investigar os possíveis mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor evidenciados pelo extrato Pp-EtOH e pela fração Cm-FHA, pela avaliação da participação da via NO-sintase, canais de potássio sensíveis ao ATP, atividade da catalase em camundongos e participação de grupos sulfidrilas em ratos.

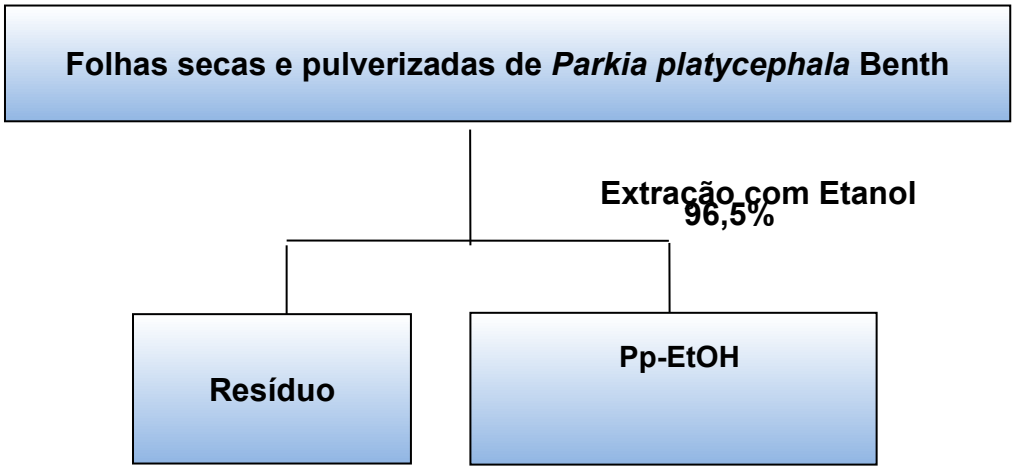
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Botânico

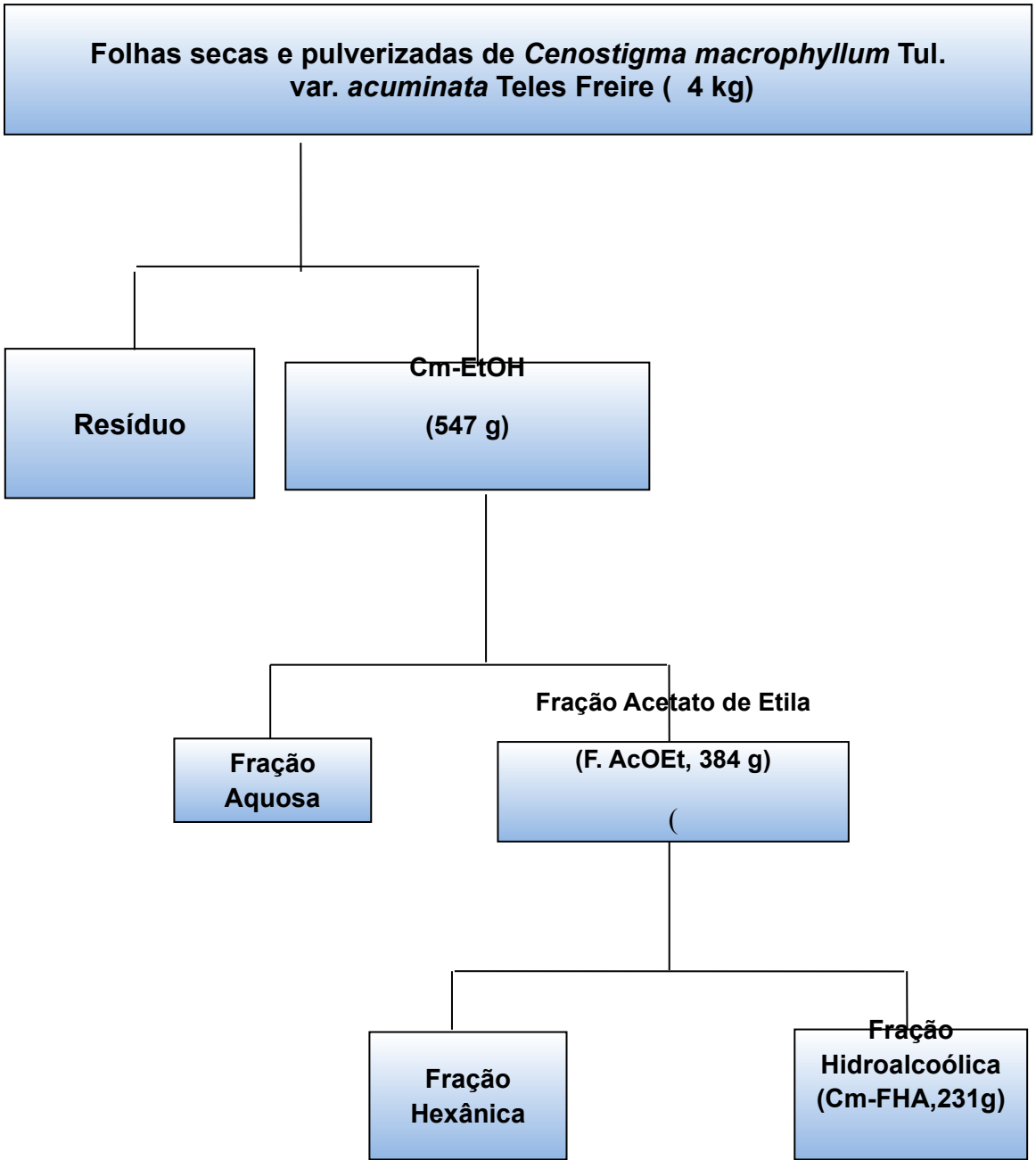
As folhas da *Parkia platycephala* Benth. foram coletadas no município de Timon – MA, e identificado com a colaboração do departamento de Biologia-UFPI, por comparação com um exemplar da espécie que se encontra depositada no Herbário Graziela Barroso com o n° 15.553 As folhas foram secas à temperatura ambiente e moídas em moinho de facas. O material vegetal foi exaustivamente extraído com etanol absoluto à temperatura ambiente obtendo-se uma massa de 392 g de extrato etanólico (Pp-EtOH).

As folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire, foram coletadas na sede do Sindicato dos Trabalhadores da Universidade Federal do Piauí (SINTUFPI), Teresina-PI, e identificada com a colaboração do departamento de Biologia-UFPI, por comparação com a excicata n° 10.374 que se encontra depositada no Herbário Graziela Barroso – UFPI. As folhas, uma vez secas e moídas (4 kg), foram extraídas com etanol 95% em 5 etapas consecutivas a temperatura ambiente. O extrato etanólico concentrado (Cm-EtOH, 547 g), foi suspenso em metanol/água (1 : 2) e extraído sucessivamente com acetato de etila rendendo as fases aquosa (F. H_2O) e acetato de etila (F. AceOEt, 384 g). Esta foi concentrada, suspensa em metanol/água (9:1) e extraída sucessivamente com hexano, produzindo uma fase hexânica e uma hidroalcoólica (Cm-FHA, 231 g).

A obtenção do extrato etanólico Pp-EtOH e da fração hidroalcoólica Cm-FHA foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais, do departamento de Química, sob orientação da Profa. Dra. Mariana Helena Chaves (Esquemas 1 e 2).



Esquema 1: Fluxograma para obtenção do extrato etanólico a partir das folhas de



Extração com Etanol
96,5%

Concentração
Suspensão em MeOH/H_2O
(2:1)
Extração com Hexano

Concentração
Suspensão em MeOH/H_2O
(9:1)
Extração com Hexano

Esquema 2: Fluxograma do fracionamento do extrato etanólico a partir das folhas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA).

3.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss albinos (*Mus musculus*) adultos, machos e fêmeas, com peso variando de 20 a 30g e ratos Wistar (*Ratus norvegicus*) adultos, machos e fêmeas, com peso variando de 180 a 300g, provenientes do biotério setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais NPPM/CCS/UFPI com condições controladas de temperatura (24 ± 1 °C) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas), com acesso livre à água e ração. Os protocolos experimentais utilizando animais estão de acordo com as normas internacionais e foram aprovados pelo Comitê de Ética da UFPI, com o número de protocolo 03/08.

3.3 Metodologia

3.3.1 Diluição dos extratos

O extrato etanólico das folhas de *Parkia platicephala* (Pp-EtOH) e a fração hidroalcoolica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA) foram diluídos em água destilada, com adição de tween 80 a 4 %.

3.3.2 Toxicidade aguda

3.3.2.1 Determinação da Toxicidade aguda em camundongos e determinação da DL_{50}

Para a determinação da toxicidade aguda Pp-EtOH e Cm-FHA, 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 (4% de Tween 80 em salina 0,9%, 10 mL/kg), Pp-EtOH e Cm-FHA (2000 mg/kg, via oral). A toxicidade aguda em camundongos foi avaliada por 4 horas e nas 72 horas após a administração do extrato, onde foi registrado alguns parâmetros, que caracterizam efeito estimulante ou depressor, ou efeitos em nível de sistema nervoso autônomo, além do número de animais mortos em cada grupo, para calcular a DL_{50} 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 e TAINTER, 1944).

3.3.2.2. 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 $CaCl_2$ (Merck. Alemanha) a 10 mM sob agitação. As hemáceas foram lavadas duas vezes por centrifugação a 3000 rpm/3 min. O sedimento da última centrifugação foi ressuspenso a 0,5 % em salina e borbulhada com mistura carbogênica por 30 min. Foram adiconados em de ensaio concentrações de Pp-EtOH e Cm-FHA, 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 100 µL 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 do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro no comprimento de onda 540 nm.

3.3.3 Avaliação da Atividade Gastroprotetora

3.3.3.1 Lesões gástricas induzida por etanol.

Após jejum de sólidos de 18 horas, camundongos foram divididos em grupos e tratados por via oral com veículo; Pp-EtOH (62,5, 125 e 250 mg/kg); Cm-FHA (50, 100 e 200 mg/kg) ou carbenoxolona (100 mg/kg). Após 1 h do tratamento as lesões gástricas serão induzidas pela administração oral de etanol absoluto (0,2 ml/animal). Decorridos 30 min após a administração do etanol, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Seus estômagos foram retirados e abertos pela curvatura maior e então lavados com solução salina (NaCl 0,9 %). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria e os dados expressos em área lesionada (ROBERT et al., 1979).

3.3.3.2 Lesões gástricas induzidas por etanol acidificado

Após jejum de sólidos de 18 horas, camundongos serão divididos em grupos e tratados por via oral com veículo; Pp-EtOH (62,5, 125 e 250 mg/kg); ou Cm-FHA (50, 100 e 200 mg/kg) ou carbenoxolona (100 mg/kg) por via oral. Uma hora após os tratamentos os animais receberam 0,2 ml de uma solução de 0,3 M de HCl em etanol 60 % e após 1h serão sacrificados, os estômagos retirados e abertos pela curvatura maior e então lavados com solução salina (NaCl 0,9 %). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria e os dados expressos em área lesionada (ROBERT et al., 1979; MIZUI; DOUTEUCHI, 1983).

3.3.3.3 Úlcera gástrica induzidas por indometacina

Após jejum de sólidos de 24 horas, ratos foram divididos em 4 grupos: tratados por via oral com veículo; Pp-EtOH (62,5, 125 e 250 mg/kg); ou Cm-FHA (50, 100 e 200 mg/kg) ou cimetidina (100 mg/kg) por via oral. Uma hora após o tratamento cada animal recebeu indometacina na dose de 30 mg/kg, por via subcutânea. Seis horas após a injeção da substância ulcerogênica, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Seus estômagos foram retirados, imersos em solução de formalina 5% por 15 minutos, então abertos pela sua curvatura maior, lavados e fixados com alfinetes em pequenas plataformas de isopor, para observação com lupa entomológica (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973; SZABO et.al., 1985). A extensões das lesões foram registradas atribuindo-se escores de acordo com a escala de Szabo et al., (1985) evidenciada abaixo:

Quadro 1: Escores atribuídos nas lesões induzidas por indometacina

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

n = número de úlceras encontradas

3.3.3.4 Participação de grupos sulfidrilas endógenos na gastroproteção

Ratos foram colocados em jejum de 24 horas com livre acesso a água; primeiramente os animais foram tratados com N-etilmaleimida (NEM; 10 mg/kg, i.p.). 30 minutos após o tratamento, os animais receberam por via oral, Pp-EtOH (250 mg/kg); Cm-FHA (100 mg/kg) ou carbenoxolona (100 mg/kg) por via oral. Após 1 hora, foi administrado 1 ml de etanol absoluto (v.o.) em cada animal; 30 minutos após o etanol os animais foram sacrificados, os estômagos foram abertos pela curvatura maior, lavados com solução salina (NaCl 0,9 %). (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria e os dados expressos em área lesionada.

3.3.3.5 Participação da sintase de óxido nítrico na gastroproteção

Camundongos foram colocados em jejum por 18 h com livre acesso à água; os animais foram divididos em grupos: o primeiro foi tratado com veículo ou Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg) por via oral; e por via intraperitoneal, L-arginina na dose de 600 mg/kg. O outro grupo foi pré-tratado por via intraperitoneal com N^G-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME, 20 mg/kg), um inibidor da NO-sintase. Decorridos 30 min deste tratamento, todos os animais foram tratados com veículo ou Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg) por via oral; por via intraperitoneal, foi administrado L-arginina na dose de 600 mg/kg, 30 minutos antes do L-NAME. Após uma hora, para os extrato e fração, e 30 minutos, para L-Arginina; foi administrado etanol absoluto (0,2 ml por animal) a todos os grupos. Decorridos 30 min após a administração do etanol, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Seus estômagos foram retirados e abertos pela curvatura maior e então lavados com solução (NaCl 0,9 %). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria e os dados expressos em área lesionada (OLINDA et al., 2008).

3.3.3.6 Participação dos canais de K_{ATP} na gastroproteção

Camundongos foram colocados em jejum por 18 h com livre acesso à água; os animais foram divididos em grupos: no primeiro foram tratados com veículo ou Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg) ou diazóxido (3 mg/kg). O outro grupo foi pré-tratado por via intraperitoneal com glibenclamida (5 mg/kg). Decorridos 30 min deste tratamento, todos os animais foram tratados com veículo ou Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg) ou diazóxido (3 mg/kg). Após uma hora, para os extrato e fração, e 30 minutos, para diazóxido; foi administrado etanol absoluto (0,2 ml por animal) a todos os grupos. Decorridos 30 min após a administração do etanol, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Seus estômagos foram retirados e abertos pela curvatura maior e então lavados com solução salina (NaCl 0,9 %). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria computadorizada e os dados expressos em termos de percentagem (OLINDA et al., 2008).

3.3.3.7 Lesões gástricas produzidas por isquemia e reperfusão

Ratos foram colocados em jejum de 18 horas com livre acesso a água; foram tratados com veículo; Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg); e N-Acetilcisteína (750 mg/kg). 30 minutos depois, sob anestesia de tiopental sódico (25 mg/kg, i.p.), o fluxo sanguineo da artéria celíaca foi interrompido por meio de um “clamp” microvascular. 30 minutos após este procedimento, o “clamp” foi retirado, restabelendo a reperfusão. 60 minutos depois da reperfusão os animais foram sacrificados, os estômagos retirados e abertos pela curvatura maior e então lavados com solução salina (NaCl 0,9 %). A área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria e os dados expressos em área lesionada.(YOSHIKAWA et al., 1989).

3.3.3.8 Participação da catalase na atividade antioxidante

Camundongos foram tratados com veículo; Pp-EtOH (250 mg/kg) ou Cm-FHA (100 mg/kg) e carbenoxolona (100 mg/kg) e receberam, uma hora após o tratamento, 0,2 mL de etanol absoluto, como no item 3.3.3.1. Os animais foram sacrificados e os estômagos foram retirados e homogenizados em solução tampão de fosfato de potássio (0,05 M; pH 7,4), e então centrifugados a 3000 rpm por 15 minutos. Uma solução de peróxido de hidrogênio (0,05 M) foi preparada com tampão fosfato de potássio, sendo a solução de substrato para o ensaio. 0,1 mL do sobrenadante foi misturado com 1,9 mL de solução tampão fosfato e adicionados em uma cubeta de quartzo e o decaimento da absorbância foi medido a 240 nm durante 6 minutos. Uma curva de decaimento foi construída e a atividade foi medida em mM/min/100 mg de tecido (BEER; SIZER, 1952).

3.3.3.4 Avaliação da Atividade antisecretora gástrica

3.3.3.4.1 Atividade anti-secretória gástrica

Os animais foram mantidos em jejum de 18 horas com acesso livre a água. Ratas foram anestesiadas com éter e colocadas em decúbito dorsal em uma placa de isopor. Através de uma incisão de cerca de 2 cm no abdômen, foi localizado o estômago e procedido a ligadura do piloro com linha. Durante a cirurgia, por via intraduodenal, os animais receberam o veículo ou extrato etanólico Pp-EtOH na dose 250 mg/kg ou Fração Hidroalcoólica Cm-FHA na dose 100 mg/kg, ou cimetidina 100 mg/kg. A seguir, a parede abdominal foi suturada. Quatro horas após a cirurgia, os animais foram mortos com anestesia etérea profunda e seus estômagos removidos. O esôfago foi fechado através do pinçamento do esôfago para evitar perda do material secretado. O órgão foi lavado com água, seco em gaze e aberto ao longo da curvatura menor (SHAY et al., 1945). A mucosa foi lavada com 3,0 mL de água destilada, recolhendo-se o suco gástrico e o lavado em tubos de ensaios para a

centrifugação (1500 rpm durante 30 minutos). Após a centrifugação, o volume gástrico foi quantificado em proveta e a acidez total (mEq[H^+]/mL/4 h) foi quantificada por titulação simples com NaOH 0,1 N (DOMER, 1971). Para determinar o ponto de viragem utilizou-se um pH-metro digital.

3.5 Análise Estatística

Os valores experimentais obtidos foram expressos como média ± 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 Tocixidade aguda em camundongos e determinação da DL_{50} do extrato etanólico de *Parkia platicephala* (Pp-EtOH) e da fração hidroalcoólica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA).

Pp-EtOH e Cm-FHA, na dose de 2 g/kg, via oral não demonstraram nenhum sinal de toxicidade evidente e não provocaram morte dos animais, dentro de 72 horas. Dentro das primeiras 72 horas não houve alterações no comportamento de dos animais frente ao extrato e ou fração utilizados.

Tabela1: Toxicidade aguda de Pp-EtOH e Cm-FHA na dose de 2 g/kg, via oral, em camundongos.

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	TEMPO (min.)				
	30	60	120	180	240
ESTIMULANTE					
Hiperatividade	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Agressividade	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Tremores	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Convulsão	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Piloereção	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
DEPRESSOR					
Ptose palpebral	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Sedação	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Anestesia	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Ataxia	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Reflexo de endireitamento	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Catatonia	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Analgesia	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Perda do reflexo palpebral	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Perda do reflexo auricular	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO					
Diarréia	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Constipação	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Lacrimejamento	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Salivação	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Cianose	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
OUTROS COMPORTAMENTOS					
Ambulação	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Autolimpeza	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Levantar	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Escalar	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Vocalização	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Contorções abdominais	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
MORTE	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Legenda: (0) Sem efeito; (-) efeito diminuído; (+) efeito aumentado. (a/b) a- Valores para Pp-EtOH, b- Valores para Cm-FHA.

4.2 Citotoxicidade de Pp-EtOH e Cm-FHA em eritrócitos de ratos.

Na avaliação da citotoxicidade em eritrócitos de ratos, não foi evidenciada atividade lítica até a concentração de 100 µg/mL de Pp-EtOH ou de Cm-FHA. Na maior concentração utilizada evidenciou-se hemólise nos eritrócitos com ambos os extratos, no entanto, esta não ultrapassou 5%, quando comparados aos grupos salina (0 % de hemólise) e Triton-X-100 (100%) (Gráfico 1).

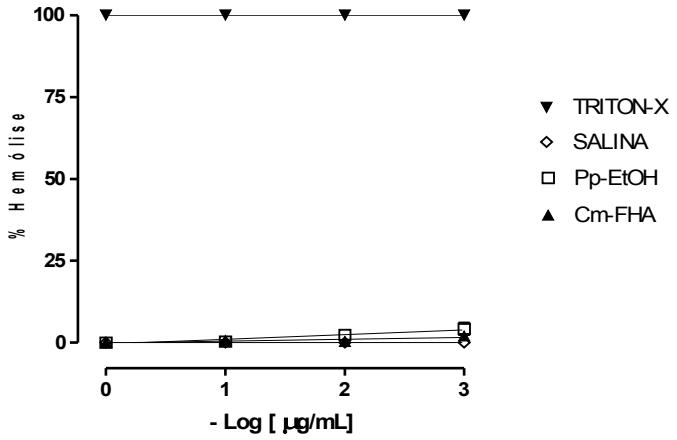


Gráfico 1: Hemólise em eritrócitos de rato incubados com extrato Pp-EtOH e Cm-FHA (1 - 1000 µg/mL), por um período de 60 minutos em temperatura ambiente sob agitação constante. Os experimentos foram feitos em triplicata. ANOVA "one-way" seguido do teste de Tukey.

4.3 Efeito do extrato etanólico de *Parkia platicephala* (Pp-EtOH) e da

fração hidroalcóolica de *Cenostigma macrophyllum Tul.* var. acuminata Teles Freire (Cm-FHA) sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Pp-EtOH (62,5; 125; 250 mg/kg) reduziu a área de lesão na mucosa gástrica de forma dose dependente (62,2 ± 4,6; 35,1 ± 7,0; 22,3 ± 8,7 mm^2, respectivamente). Pp-EtOH na dose de 250 mg/kg teve a maior proteção, comparado com o controle (65,5 ± 3,8 para 22,3 ± 8,7 mm^2), correspondendo a 66% de inibição das lesões. A dose 62,5 não reduziu significativamente a área de lesão (Gráfico 2A).

Cm-FHA (50, 100, 200 mg/kg) também reduziu as lesões, mas de forma dose independente (50,0 ± 2,3; 32,8 ± 4,0; 33,2 ± 6,3 mm^2, respectivamente). As doses de 100 e 200 mg/kg teve proteção gástrica significativa, comparado com o controle (54,2 ± 5,8 mm^2), com inibição de 39,5% e 38,7% . A dose de 50 não foi efetiva em proteger a mucosa em relação ao grupo controle (Gráfico 2B).

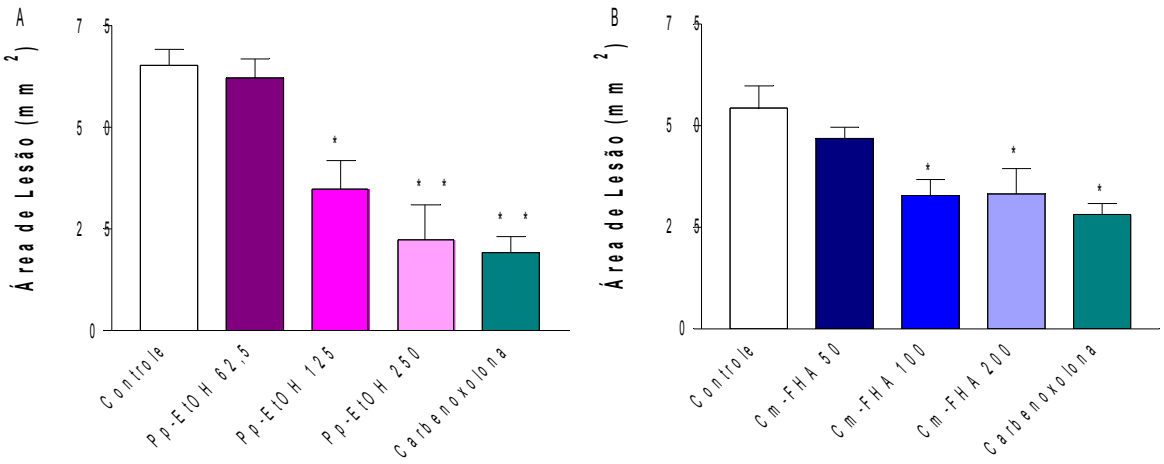


Gráfico 2: Efeito de A: Pp-EtOH (62,5, 125, 250 mg/kg, vo) e B: Cm-FHA (50, 100, 200 mg/kg, vo) sobre lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias de (n=8 -12) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. A: *p <0,01 vs Controle, **p <0,001 vs Controle; B: *p < 0,001 vs Controle.

4.4 Efeito de Pp-EtOH e Cm-FHA sobre as lesões gástricas induzidas por

etanol acidificado em camundongos.

Pp-EtOH exibiu atividade gastroprotetora significativa neste modelo apenas na dose de 250 mg/kg (50,3 ± 3,5 mm^2) em comparação com o grupo controle (97,5 ± 12,8 mm^2) com inibição de 48,4% .(Gráfico 3A).

As doses de 100 e 200 mg/kg, Cm-FHA também foram efetivas em proteger a mucosa gástricas contra o etanol acidificado (25,7 ± 1,5 e 26,6 ± 5,8 mm^2, respectivcamente) em relação ao grupo controle (51,7 ± 2,7 mm^2) com inibição de 50,3 e 48,5 % na área lesionada, respectivamente. (Gráfico 3B)

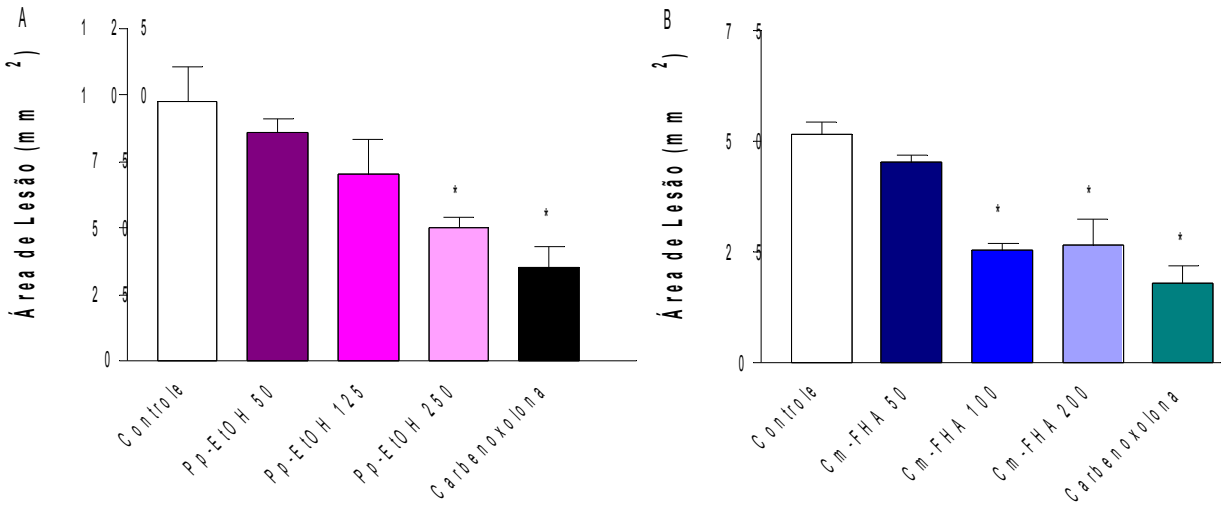


Gráfico 3: Efeito de A: Pp-EtOH (125, 250 mg/kg) e B: Cm-FHA (50, 100 mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias de (n=8) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. A: *p <0,001 vs Controle; B: *p < 0,001 vs Controle.

4.5 Efeito de Pp-EtOH e Cm-FHA sobre úlceras gástricas induzidas por

indometacina em camundongos.

As úlceras provocadas por indometacina no grupo controle alcançaram escores no valor de 5,2 ± 0,6. A cimetidina reduziu os escores das lesões (0,7 ± 0,1) . Pp-EtOH 250 mg/kg e Cm-FHA 100 mg/kg não foram capazes de proteger o estômago das lúlceras (5,4 ± 0,6; 6,3 ± 0,7, respectivamente). (Gráfico 4)

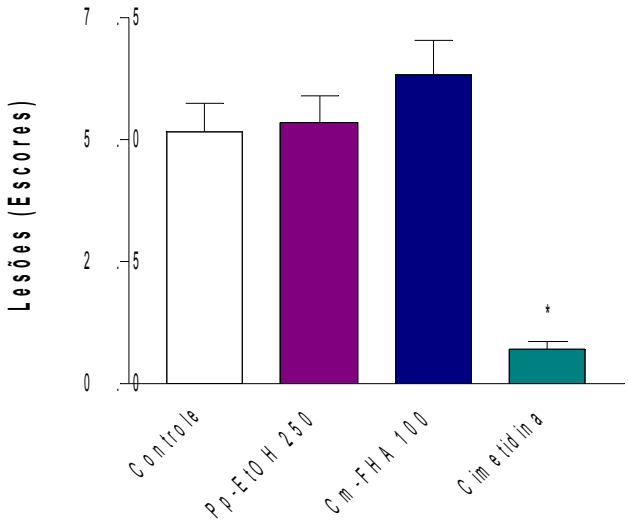


Gráfico 4: Efeito de Pp-EtOH (125, 250 mg/kg) e Cm-FHA (50, 100 mg/kg) sobre úlceras gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias (n=6) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Turkey. *p <0,001 vs Controle.

4.6 Participação de grupos sulfidrila endógenos na gastroproteção de Pp-EtOH e de Cm-FHA sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.

O grupo pré-tratado com N-Etilmaleimida (NEM 10mg/kg) apresentou lesões do tipo necrosantes que atingiam toda a região glandular, além da presença de lesões hemorrágicas, características do etanol absoluto. O NEM inibiu a proteção de Pp-EtOH (de 31,8 ± 6,6 para 270,8 ± 52,6 mm^2) e Cm-FHA (34,8 ± 6,6 para 255,3 ± 27,0 mm^2) (Gráfico 5). O NEM também aumentou a área de lesão no grupo carbenoxolona (14,6 ± 4,4 para 124,2 ± 17,8 mm^2) (Gráfico 5). Entretanto, comparando a área de lesão entre o grupo grupo controle e carbenoxolona pré-tratados com NEM, o segundo exibe uma redução significativa na lesões em comparação com o primeiro, 302,7 ± 14,2 contra 124,2 ± 17,8 mm^2 da carbenoxolona contra 302,7 ± 14,2 mm^2.

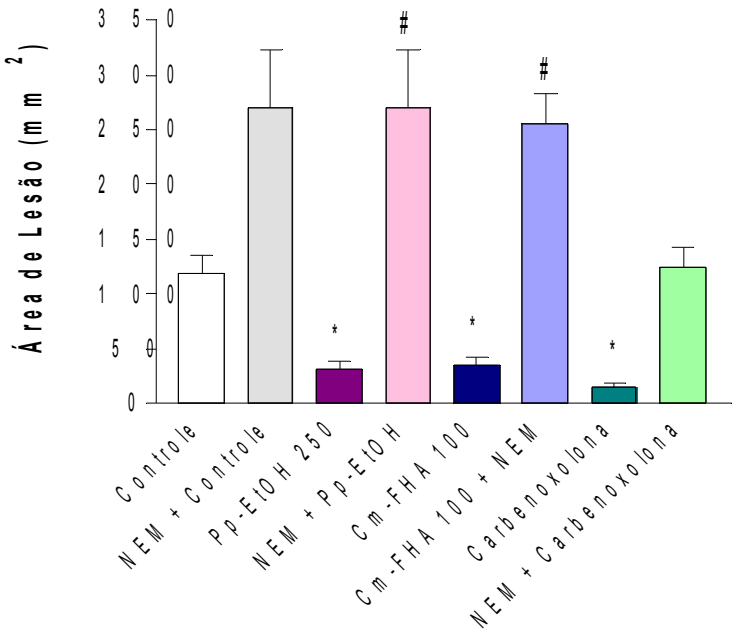


Gráfico 5: Participação de grupos sulfidrila endógenos na gastroproteção de Pp-EtOH (250 mg/kg) e de Cm-FHA (100 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto com pré-tratamento com NEM em ratos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias (n=5-6) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,01 vs Controle; #p <0,001 vs Cm-FHA, Pp-EtOH + NEM.

4.7 Participação da sintase de óxido ítrico na gastroproteção de Pp-EtOH e de Cm-FHA em camundongos.

O pré-tratamento com L-NAME (20 mg/kg i.p.) inibiu a proteção da mucosa oferecida por Pp-EtOH (250 mg/kg), elevando de forma significativa a área das lesões (22,4 ± 8,7 mm^2 para 70,4 ± 11,7 mm^2), assim como em Cm-FHA (100 mg/kg) (37,5 ± 5,6 mm^2 para 76,4 ± 7,6 mm^2), sem diferença significativa do grupo Controle (67,2 ± 6,1 mm^2) (Gráfico 6).

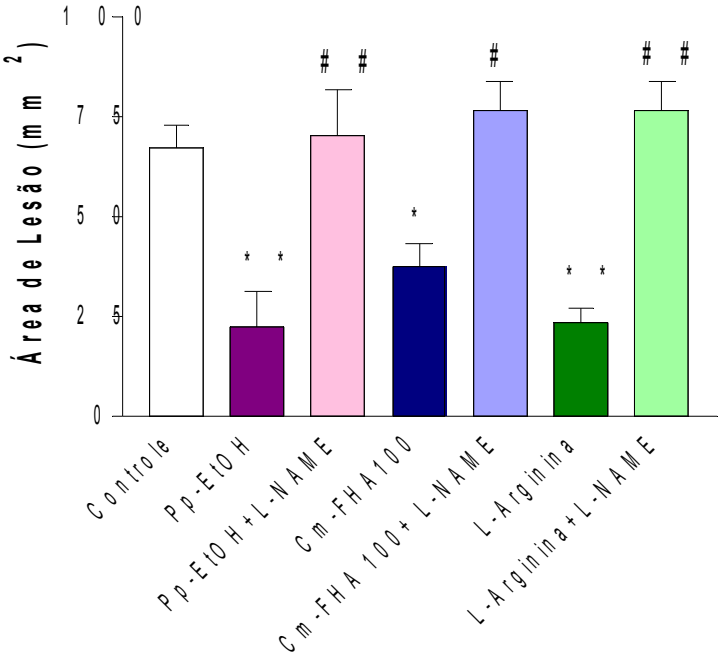


Gráfico 6: Participação do Óxido Nítrico na gastroproteção de Pp-EtOH (250 mg/kg, A) e de Cm-FHA (100 mg/kg, B) em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão da média (n=8) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,05 vs Controle, **p<0,001 vs Controle; #p <0,01 vs Cm-FHA 100; ## p<0,001 vs L-Arginina e Pp-EtOH 250.

4.8 Participação dos canais de K^+_{ATP} na gastroproteção de Pp-EtOH e de Cm-FHA em camundongos.

Mesmo após o pré-tratamento com o bloqueador dos canais de K^+_{ATP} Glibenclamida (5 mg/kg i.p.), Pp-EtOH (250 mg/kg) manteve reduzida as lesões provocadas pelo etanol, sem diferença significativa entre o grupo não tratado com o bloqueador (27,9 ± 5,7 mm^2 vs 22,4 ± 8,7 mm^2, respectivamente) (Gráfico 7).Após o pré-tratamento com glibenclamida, a redução das lesões de Cm-FHA foi inibida (de 32,6 ± 5,8 mm^2 para 50,5 ± 3,3 mm^2). Os valores da reversibilidade provocada pela glibenclamida não tiveram diferença significativa do controle (52,7 ± 4,2 mm^2) (Gráfico 7).

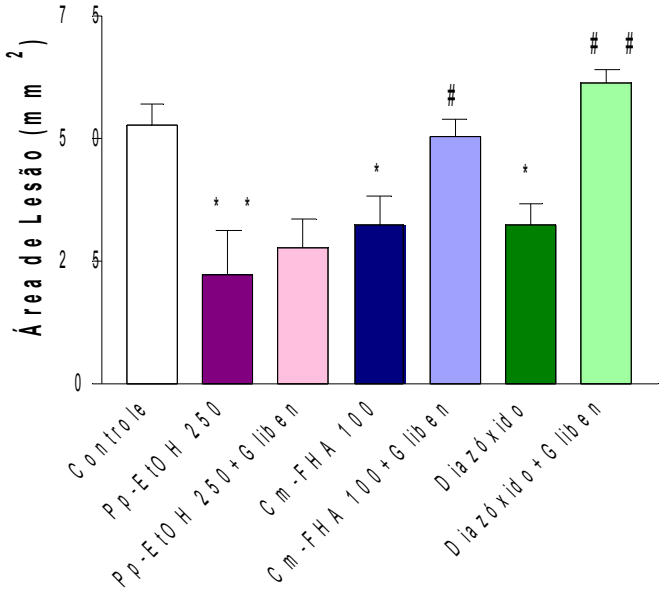


Gráfico 7: Participação dos canais de K^+_{ATP} na gastroproteção de Pp-EtOH (250 mg/kg, A) e de Cm-FHA (100 mg/kg, B) em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão da média (n=8) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,05 vs Controle, **p<0,001; #p <0,05 vs Cm-FHA 100mg/kg; ## p<0,001 vs Diazóxido.

4.9 Efeito de Pp-EtOH e de Cm-FHA sobre as lesões gástricas induzidas por isquemia-reperfusão em ratos.

O Pp-EtOH (250 mg/kg) e Cm-FHA (100 mg/kg) reduziram as lesões provocadas pela isquemia-reperfusão (40,9 ± 9,7 mm^2 e 56,0 ± 9,7 mm^2, respectivamente) comparados com o grupo controle (89,6 ± 8,2 mm^2), com . O controle positivo NAC também reduziu as lesões na dose de 750 mg/kg (42,8 ± 7,6 mm^2) (Gráfico 8).

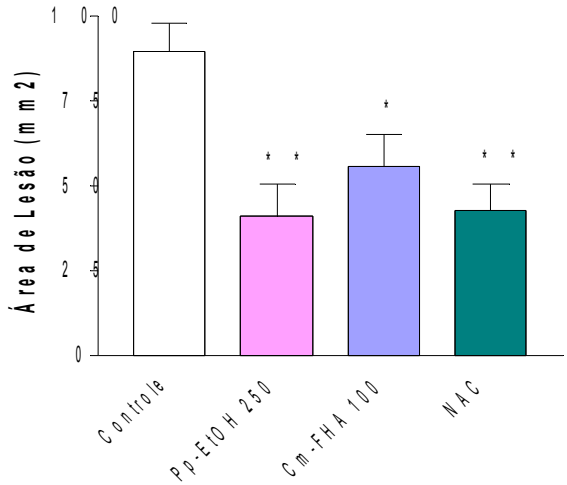


Gráfico 8: Efeito de Pp-EtOH (250 mg/kg) e de Cm-FHA (100 mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas isquemia-reperfusão em ratos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão da média (n=8) e representam a área das lesões. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,05 vs Controle ; **p <0,01 vs Controle.

4.10 Participação da catalase na atividade antioxidante de Pp-EtOH e de Cm-FHA em camundongos.

A atividade da catalase no grupo ontrole ficou menor do que o grupo SHAM (67,9 ± 6,5 vs 162,7 ± 13). NAC aumentou significativamente a atividade desta enzima, em comparação ao grupo Controle (189,1 ± 17,8 vs 67,9 ± 6,5, respectivamente). Pp-EtOH e Cm-FHA também aumentaram de forma significativa a atividade da catalase a valores médios melhores que do grupo SHAM (205,2 ± 17,3; 180,4 ± 17,7, respectivamente), porém sem diferença significativa entre eles (Gráfico 9).

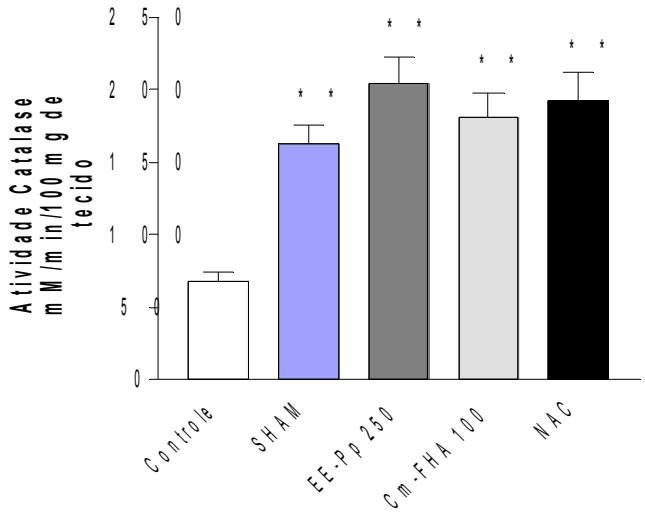


Gráfico 9: Participação da catalase na atividade antioxidante de Pp-EtOH e Cm-FHA, em camundongos. Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias (n=8) e representam a atividade da catalase. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,05 vs Controle ; **p <0,001 vs Controle.

4.11 Efeito doe Pp-EtOH e de Cm-FHA sobre volume gástrico, pH e Ácidez titulável pela ligadura de piloro em ratos.

Houve diminuição dos valores médios do volume gástrico de Pp-EtOH nas doses de 125 e 250 mg/kg (1,8 ± 0,5; 1,8 ± 0,6 mL), com diferença significativa do grupo controle negativo (3,3 ± 0,4 ml). As doses 62,5, 125 e 250 (mg/Kg) de Pp-EtOH não modificaram o pH da secreção gástrica (2,4 ± 0,5; 2,4 ± 0,4; 2,4 ± 0,3 respectivamente) em comparação com o controle (2,2 ± 0,3). Apenas a dose de 250 mg/kg reduziu significativamente o ácido titulável da secreção gástrica (0,435 ± 0,145 vs 0,795 ± 0,123 meq/mL/4h do grupo controle). Não houve diferença significativa nos valores médios do volume, pH e ácido titulável de Cm-FHA em nenhuma das doses utilzadas em relação ao grupo controle. O controle positivo Cimetidina (100 mg/kg), reduziu significativamente o volume (1,0 ± 0,2), elevou o pH (7,0 ± 0,3) e diminuiu o ácido titulável da secreção gástrica (0,001 ± 0,004) (TABELA 1).

Tabela 2: Efeito de Pp-EtOH e Cm-FHA sobre volume gástrico, pH e Ácidez titulável pela ligadura de piloro em ratos.

		Volume (ml)	pH	H^+ (meq/ml/4h)
Controle		3,3 ± 0,4	2,2 ± 0,3	0,795 ± 0,123
Cimetidina 100 mg/kg		1,0 ± 0,2*	7,0 ± 0,3*	0,001 ± 0,004**
Pp-EtOH (mg/kg)	62,5	3,2 ± 0,6	2,4 ± 0,5	0,450 ± 0,119
	125	1,8 ± 0,5*	2,4 ± 0,4	0,435 ± 0,145
	250	1,8 ± 0,6*	2,4 ± 0,3	0,269 ± 0,06*
Cm-FHA (mg/kg)	50	3,3 ± 0,2	1,6 ± 0,1	0,780 ± 0,177
	100	3,5 ± 0,4	2,7 ± 0,7	0,477 ± 0,139
	200	4,1 ± 0,3	2,6 ± 0,5	0,390 ± 0,072

Os resultados estão expressos como médias ± erro padrão das médias de 6 animais. A diferença entre os grupos foi verificada através da análise de variância (ANOVA) seguida do Teste Tukey. *p <0,01 vs Controle; **p <0,001 vs Controle.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, os principais achados revelam que Pp-EtOH e Cm-FHA apresentam atividade gastroprotetora em modelos agudos de lesões

e úlcera em camundongos e ratos.

Na avaliação do potencial toxicológico do extrato Pp-EtOH e da fração Cm-FHA, em camundongos através da DL_{50}, verificou-se que os mesmos não apresentaram toxicidade ou alterações no comportamento dentro das 4 e após as 72 horas do tratamento. Na avaliação da atividade hemolítica dos extratos, observou-se a ausência de significância na hemólise em eritrócitos de ratos. Estas informações nos permitiu uma escolha segura das doses utilizadas nos modelos experimentais de úlcera gástrica em animais, com o objetivo de investigar o efeito gastroprotetor do extrato e da fração obtidos dessas duas espécies de leguminosas da nossa flora regional.

Os modelos experimentais utilizados para a investigação dos efeitos gastroprotetores do extrato Pp-EtOH e da fração Cm-FHA 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, envolvem a explicação clássica de que elas são provocadas por um desequilíbrio entre os fatores protetores e lesivos da mucosa gástrica (MAITY et al., 2003).

Primeiramente, avaliou-se a atividade gastroprotetora de Pp-EtOH e Cm-FHA, induzida por etanol absoluto, um agente lesivo multifatorial (BATISTA et al., 2004). O etanol concentrado causa rapidamente a necrose nas células superficiais da mucosa pela precipitação dos constituintes citoplasmáticos e interrompendo as funções das membranas das células da mucosa. Em poucos segundos, o etanol também perturba as funções de outras células da mucosa, os mastócitos, que liberam mediadores vasoativos, tais como leucotrienos C_4 (LTC_4) e histamina, dentro da mucosa gástrica. O LTC_4 desencadeia uma série de intensas vasoconstricções que progridem das pequenas vênulas da mucosa para as veias de maior calibre. Essa estase venosa é agravada ainda pela contração da musculatura gástrica adjacente aos locais de penetração do etanol nos leitos venosos (OATES; HAKKINEN, 1988).

A dilatação das arteríolas começa logo após os eventos supracitados, mediados talvez pela histamina, sendo provável que outros autacóides e metabólitos do etanol também contribuam para esse evento. A potente dilatação arterial junto com a severa constricção venosa causa intensa

distensão dos capilares da mucosa gástrica, provocando hiperemia, elevando de forma exacerbada a pressão no interior desses capilares, que, em conjunto com o aumento da permeabilidade provocado pela histamina, LTC_4 e etanol, causam edema na mucosa gástrica. Esses eventos levam ao aumento da pressão intersticial a ponto de elevar a camada celular epitelial com formação de bolhas (OATES; HAKKINEN, 1988).

Em sequência, as concentrações do etanol continuam a aumentar no interior da mucosa do tecido já hiperêmico, provocando hemólise de hemácias estagnadas no tecido, com precipitação de componentes teciduais e sanguíneos ao redor dos capilares distendidos. O etanol também provoca espasmos rigorosos na musculatura lisa vascular provocando hemorragia, intensificando a estase vascular (OATES; HAKKINEN, 1988).

Tanto o extrato Pp-EtOH nas doses de 125 e 250 mg/kg como a fração Cm-FHA nas doses de 100 e 200 mg/kg, reduziram as lesões induzidas por etanol absoluto, observando, em média, que Pp-EtOH ofereceu maior proteção do que Cm-FHA (Gráfico 2). Extrato da fruta de *Piper nigrum* protegeu contra lesões agudas induzidas por etanol absoluto (SINGH; MADAN; RAO, 2008). Abay (2008), demosntra que extrato hidroalcoólico das folhas de *Ruta Chalepensis* também exibe proteção contra injúrias provocadas pelo mesmo agente. Dentro da família Leguminosae, extratos aquosos de sementes de *Trigonella feonum-gracum e Linum ussitatimum* apresentaram atividade protetora gástrica neste modelo (MEQUANENTE; MAKONNEN; DEBELLA, 2006), demonstrando a presença de atividade gastroprotetora em extratos obtidos em produtos naturais pertencentes ou não na família Leguminosae. Essa proteção pode significar aumento na liberação de substâncias protetoras da mucosa. Essa última ação parece ser mais provável já que as úlceras induzidas por etanol são inibidas por agentes que estimulam a produção dos fatores defensivos da mucosa, fatores esses semelhantes às prostaglandinas (MORIMOTO et al., 1991).

Para avaliar os possíveis mecanismos citoprotetores de Pp-EtOH e Cm-FHA, observou-se seus efeitos protetores frente a lesões provocadas por etanol acidificado. Lesões provocadas por esse agente acomete predominantemente a porção glandular, acompanhadas de edema e necrose, mais intensos do que lesões provocadas por etanol absoluto, uma vez que o

etanol induz a solubilização dos constituintes do muco no estômago, aumenta o fluxo de sódio e potássio no lúmen, aumenta a pepsina liberada, e diminui os níveis teciduais de DNA, RNA e proteínas, deixando a mucosa desprotegida contra o ácido clorídrico, levando a uma injúria no tecido (ROBERT et al.,1979). Mizui e Douteuchi (1983) em seus experimentos observou que a PGE_2, um agente citoprotetor (ROBERT et al., 1979), impedia o aparecimento de lesões provocadas por este agente; sendo que o mesmo não ocorria com o uso de cimetidina, um agente anti-secretor gástrico, mostrando que pode-se obter uma melhor avaliação da presença de atividade gastroprotetora do que antisecretora nesse modelo.

Ainda sob as observações de Mizui e Douteuchi (1983), animais pré-tratados com indometacina, um inibidor da síntese de prostaglandinas ou com N-etilmaleimida, um bloqueador dos grupos sulfidrilas, tinham suas lesões provocadas por etanol acidificado aumentadas, em comparação com animais não tratados com tais drogas, mostrando que fatores gastroprotetores podem evitar aparecimento de lesões gástricas neste modelo.

A droga utilizada como grupo controle positivo nas lesões induzidas por etanol absoluto e por etanol acidificado foi a carbenoxolona na dose de 100 mg/kg. A carbenoxolona é um hemisuccinato do triterpenoide ácido 18 beta-glicirretinico que é derivado do ácido glicirrizico, um componente da seiva bruta. A Carbenoxolona protege a mucosa gástrica contra uma variedade de agentes lesivos em experimentos animais (DERELANKO; LONG, 1981; MARTIN et al., 1984) e acelera a cicatrização de úlceras no homen (DOLL et al., 1962) sem inibir a secreção ácida (BARON, 1977). Seu efeito gastroprotetor ocorre através de vários mecanismos como: inibição de enzimas inativadoras de prostaglandinas, 15-hidroxi-prostaglandina-desidrogenase e a' 3-prostaglandina-redutase (PESKAR; HOLLAND; PESKAR, 1976), prolongando o efeito citoprotetor de prostaglandinas; aumento da secreção de prostaglandina E2, na luz gástrica (RASK-MADSEN et al., 1983); inibição de fosfodiesterases sistêmicas, prolongando efeito vasodilatador do óxido nítrico via GMPc; e ainda se liga a componentes do muco (JOHNSTON et al., 1985). A carbenoxolona (100mg/kg) reduziu significativamente as lesões provocadas pelos agentes supracitados.

Pp-EtOH (250 mg/kg) e Cm-FHA (100 mg/kg) reduziram o

aparecimento de lesões pelo etanol acidificado (Gráfico 3). Extrato metanólico das folhas de *Cissus sicyoides* e fração hidroalcoólica de *Pradosia huberi* demosntraram atividade protetora da mucosa neste modelo, com participação de grupos sulfidrila endógenos (FERREIRA et al., 2008; KUSHIMA et al., 2005). Isto evidencia uma possível atividade citoprotetora na mucosa gástrica, com de agentes anti-oxidantes (como GSH) na proteção gástrica.

As prostaglandinas participam de uma grande variedade de processos fisiológicos no estômago, como produção de muco, secreção de bicarbonato, incremento do fluxo sanguíneo, inibição da secreção ácida (TAKEEDA et al., 2004) e inibição da motilidade gástrica, a exemplo as prostaglandinas E_2 e I_2. A cicloxigenase (COX) é a enzima encarregada da síntese de prostaglandinas.

As drogas antiinflamatórias não-esteroidais-DAINES (como por exemplo a indometacina) podem lesar a mucosa gástrica de várias maneiras. Geralmente são compostos ácidos fracos que, ao entrarem em contato com o ambiente ácido do estômago em jejum (pH=2), apresentam-se predominantemente em sua forma não ionizada, lipofílica, penetrando no interior das células. O pH intracelular é neutro, reconfigurando os AINES para sua forma ionizada, alterando o equilíbrio eletrolítico do potencial de membrana, causando lesão celular (LAINE, 1996).

A indometacina lesa a mucosa gástrica através da inibição das ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2, de maneira a promover redução da produção de prostaglandinas (WALLACE et al., 2000).

As prostaglandinas E_2 e I_2 atuam na síntese de muco e bicarbonato, na regulação da secreção ácida e do fluxo sangüíneo da mucosa gástrica (CURTIS et al.,1995; HALTER et al., 2001). Sua inibição compromete criticamente a citoproteção gástrica (WHITTLE; OREN-WPLMAN; GUTH, 1985).

Uma vez inibida, a COX-1 não sintetiza prostaglandinas que atuam sobre a motilidade gástrica, diminuindo a amplitude das contrações. Com isso, ocorrerá hiperatividade da musculatura gástrica, que por sua vez provocará diminuição do fluxo sanguíneo e lesão vascular (TANAKA; ARAKI; HASE, 2002; TAKEUCHI; UESHIMA; HIRONAKA, 1991). Quando se bloqueia a atividade da COX-2, prostaglandinas que preveniam a interação neutrófilo-

endotélio não será produzida (FILARETOVA; KOMOIKE; TANAKA, 2002; KATO; OGAWA; KANATSU, 2002). O ácido araquidônico que seria consumido pelas COX gástricas será deslocado para a síntese de leucotrienos, atuando como mediadores inflamatórios. A soma desses efeitos aumentará a migração de neutrófilos para a mucosa, com peroxidação lipídica e formação de espécies reativas de oxigênio (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

O extrato Pp-EtOH e a fração Cm-FHA nas melhores doses (250 e 100 mg/kg, respectivamente) não apresentaram atividade protetora frente a lesões provocadas por indometacina, sendo pouco provável que os metabólitos da COX participem de forma direta da citoproteção gástrica (Gráfico 4).

Como foi demosntrado, grupos sulfidrilas endógenos participam na gastroproteção (MIZUI; DOUTEUCHI, 1983), assim como existem extratos vegetais que preservam a atividade destes compostos (KUSHIMA et al., 2005; FERREIRA et al., 2008). Deste modo, continuou-se no estudo da atividade gastroprotetora avaliando a participação do GSH, pertencente da classe dos compostos endógenos com grupos sulfidrilas.

A mucosa gástrica contém alta concentração de GSH, comparado com o fígado (BOYD S., SASAME, BOYD M., 1981). GSH celular é associado a prevenção de lesão tecidual por peróxidos e radicais livres (GILLETTE; MITCHELL; BRODIE, 1974). Para manter o equilíbrio redox celular, o GSSG (glutationa oxidada) é exportado das células por proteínas de transporte dependentes de ATP, implicando que condições severas de estresses diminuem níveis celulares de GSH (CNUBBEN et al., 2001), sugerindo um importante papel do GSH na manutenção da integridade dos sistemas fisiológicos.

O extrato Pp-EtOH (250 mg/kg) e a fração Cm-FHA (100 mg/kg) não reverteram as lesões provocadas pelo etanol após o pré-tratamento com NEM (10 mg/kg), um bloqueador dos grupos sulfidrilas (Gráfico 5), indicando que grupos sulfidrilas provavelmente não participam na gastroproteção de Pp-FHA e Cm-FHA.

Sugita et al. (2003), relata efeitos citoprotetores do óxido nítrico (NO) sobre lesões intestinais provocadas por etanol. Para avaliar a citoproteção do óxido nítrico em lesões gástricas, utilizou-se um inibidor da NO-Sintase, a L-NAME.

O óxido nítrico (NO) tem sido reconhecido como um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica, por estimular a produção de muco, inibir a aderência de neutrófilos às células endoteliais e principalmente por aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica (CORUZZI et al., 2000). O NO endógeno parece estar envolvido na regulação da secreção ácida gástrica pós-prandial. Este efeito pode estar mediado pela mudança na liberação de gastrina e somatostatina. O NO endógeno também retarda o esvaziamento gástrico e a atividade motora antral (KONTUREK et al., 1999). Uma vez inibida a enzima NO-sintase, os mecanismos de proteção do NO são seriamente comprometidos.

O extrato Pp-EtOH (250mg/kg) e a fração Cm-FHA (100 mg/kg) tiveram suas atividades protetoras inibidas pelo pré-tratamento com L-NAME em lesões induzidas por etanol (Gráfico 6). É reportado na literatura que a NO-sintase participa na gastroproteção do extrato metanólico das folhas de *Cissus sicyoides* (FERREIRA et al., 2008). O extrato metanólico das folhas de *Vochysia tucanorum* também têm suas atividades protetoras gástricas inibidas pelo pré-tratamento com L-NAME (GOMES et al., 2009), sendo provável que a via NO-sintase participe na gastroproteção de Pp-EtOH e Cm-FHA.

O NO pode aumentar o fluxo sanguíneo gástrico através da ativação de canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) (MURPHY; BRAYDEN, 1995). Para avaliar a participação dos K_{ATP} na gastroproteção evidenciada pelo extrato Pp-EtOH e pela fração Cm-FHA, foi realizado o modelo experimental com um bloqueador destes canais, a glibenclamida (5mg/kg) frente a lesões induzidas por etanol..

A glibenclamida é um hipoglicemiante oral que estimula a secreção de insulina pelo bloqueio de K_{ATP} (DA SILVA-SANTOS et al., 2002). Neurônios aferentes são encontrados em abundância na mucosa gástrica (STERNINI; REEVE; BRECHA, 1987) e sua ativação por pequenas doses de capsaicina exerce proteção contra uma variedade de agentes nocivos (HOLZER, 1998). Essa ativação promove a liberação do peptídio relacionada ao gene da calcitonina (CGRP). Experimentos realizados por Doi e colabores (1998), demonstraram que CGRP provoca aumento do fluxo sanguíneo gástrico concomitantemente que há redução da área de lesão gástrica; e que esta é abolida com uso de glibenclamida. Segundo Whittle, Lopez-Belmonte e

Moncada (1992), o NO é responsável, em parte, pela abertura de K_{ATP} provocada pelo CGRP.

Pp-EtOH (250mg/kg) manteve a proteção da mucosa gástrica independente do pré-tratamento com o bloqueador glibenclamida. Cm-FHA (100mg/kg) teve sua proteção inibida com o pré-tratamento de glibenclamida após a administração do etanol, assim como o controle positivo, diazóxido (3 mg/kg), ativador de K_{ATP}. O Quebracitol, componente bioativo do extrato etanólico das cascas do fruto de *Magonia glabrata*, também teve sua gastroproteção inibida com o pré-tratamento com glibenclamida (OLINDA et al.,2008), sugerindo a participação de K_{ATP} na proteção de Cm-FHA frente a lesões gástricas por etanol (Gráfico 7).

Dando continuidade ao estudo, investigou-se a participação de mecanismos anti-oxidantes na gastroproteção de Pp-EtOH e Cm-FHA.

Recentemente, Gazzieri (2007), demonstraram que o etanol ativa receptores TRPV1 em neurônios sensoriais da mucosa gástrica, estimulando a liberação de substância P no estômago. A substância P ativa receptores NK1 das células epiteliais gástricas promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio, causando lesões hemorrágicas na parede do estômago (TAKEEDA et al., 2004).

Ueda, Yoshikawa e Takahashi (1989), reporta que lesões provocadas por espécies reativas de oxigênio podem ser provocadas por isquemia e reperfusão. Para avaliar a participação de agentes anti-oxidantes na proteção gástrica evidenciadas por Pp-EtOH e Cm-FHA, fez-se indução de lesões por isquemia e reperfusão (I/R), utilizando-se *Rattus norvegicus.*

No experimento de isquemia e reperfusão em estômago de ratos, a isquemia, por si só, lesiona e provoca morte celular. Entretanto é na reperfusão do tecido isquêmico que ocorre uma série de modificações teciduais, que tem como conseqüência o aparecimento de lesões (RIBEIRO; YOSHIDAW, 2005). Dentre todas essas alterações, aponta-se o aumento de permeabilidade capilar e produção de radicais livres do oxigênio (UEDA; YOSHIKAWA; TAKAHASHI, 1989), que atacam e lesam as membranas celulares, atraem neutrófilos e iniciam resposta inflamatória (RIBEIRO; YOSHIDAW, 2005).

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 trifosfato de adenosina (TPA). No entanto, o estoque de TPA continuaria sendo consumido e seria degradado à difosfato de adenosina (DPA) e adenosina monofosfato de adenosina (MPA) e, posteriormente, em adenosina, inosina e hipoxantina. A falta de energia celular causaria a falência da bomba de sódio-potássio (Na^+/K^+-ATPase) 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 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 de hipoxantina e xantina oxidase. 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 (O_2^-). 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; YOSHIDAW, 2005).

O radical hidroxila inicia a peroxidação das membranas celulares, liberando ácido aracdônico e radicais livres, lipídios peroxil (UEDA; YOSHIKAWA; TAKAHASHI, 1989). O ácido aracdônico é metabolizado pela ciclooxigenase em tromboxano, prostaglandinas do tipo PGE_1 e PGI_2; ou pela lipoxigenase, em leucotrienos do tipo LTB_4, C_4, D_4 e E_4. 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 por sua vez, secretam enzimas proteolíticas (mieloperoxidases, elastases e proteases), prostaglandinas, ocluem a microcirculação na fase de reperfusão, dificultando o fluxo sangüíneo, além de produzirem mais radicais O_2^- reiniciando o ciclo, com formação de mais radical hidroxila (RIBEIRO; YOSHIDAW, 2005).

Pp-EtOH (250 mg/kg) e Cm-FHA (100mg/kg), reduziram as lesões provocadas pela I/R; Pp-EtOH mostra-se um protetor maior do que Cm-FHA neste modelo de lesão gástrica (Gráfico 8). Frações aquosa e acetato de etila de *Indigofera truxillensis* protegeram o estômago de lesões pela aumento da atividade de várias enzimas antioxidantes como SOD e Glutationa redutase (FARIAS-SILVA et al., 2005). Segundo Ribeiro e YOSHIDAW (2005), uma série de fatores podem estar envolvidos na gastroproteção provocada pela I/R, sendo eles enzimáticos hidrosolúveis (SOD, catalase, glutationa peroxidase), lipossolúveis (tocoferóis, carotenóides e quinonas), bloqueadores de leucotrienos, podendo os constituintes de Pp-EtOH e Cm-FHA estarem envolvidos nas vias antioxidantes, modulando e presenvando as enzimas antioxidantes ou ainda funcionando como sequestradores diretos de radicais livres produzidos. Esses dados sugerem a presença de compostos que possivelmente participam da atividade antioxidante de Pp-EtOH e Cm-FHA, com envolvimento de de enzimas antioxidantes.

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 glutationa (DE FLORA et al,1991), possuindo, portanto, um papel-chave na homeostase celular, visto que a depleção de glutationa pode causar morte celular devido à peroxidação lipídica e declínio nos níveis de tiol-proteínas (REED; FARRISS, 1984). NAC também pode atuar diretamente reduzindo os níveis deos ROS *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).

Em continuação na investigação da atividade antioxidante de Pp-EtOH e Cm-FHA, avaliou-se a atividade da enzima catalase, que participa na atividade antioxidante celular.

O dano provocado pelo O_2^- é contido pela ação da enzima superoxido dismutase (SOD) (FRIDOVICH, 1986). SOD converte o O_2^- em

H_2O_2, que, se não convertido pela catalase em H_2O e O_2, causará aumento da peroxidação lipídica com formação de radicais hidroxil. Uma vez decaídos os níveis de catalase, ocorrerá, então aumento do dano tecidual (BOYD S., SASAME, BOYD M., 1981).

Houve redução na atividade da catalase após a lesão com etanol absoluto no grupo controle, entretanto, em animais tratados com Pp-EtOH (250 mg/kg) e Cm-FHA (100 mg/kg) houve um aumento da atividade dessa enzima, restabelecendo à níveis semelhantes ao grupo SHAM (Gráfico 10). Extrato aquoso das sementes de *Trigonella foenum graecum* aumentaram a atividade da catalase após a administração do etanol (PANDIAN; ANURADHA; VISWANATHAN, 2002). Assim a atividade da catalase provavelmente está envolvida na atividade antioxidante de Pp-EtOH e Cm-FHA.

Pp-EtOH e Cm-FHA protegeram contra lesões induzidas por etanol. Essa proteção pode significar inibição da secreção ácida gástrica, o que em parte já seria suficiente para reduzir o número de lesões induzidas pelo etanol (MIZUI; DOUTEUCHI, 1983). Assim, avaliou-se a atividade anti-secretória através da análise do conteúdo gástrico pela ligadura de piloro. Este modelo permite estudar o efeito do extrato na secreção gástrica e em alguns eventos envolvidos na gastroproteção.

Sabe-se que a ligadura de piloro causa uma hipersecreção gástrica, mas as razões ainda não estão completamente esclarecidas (ANDREO et al., 2006). De acordo com Brodie (1966), esta cirurgia causa expansão do estômago, aumentando a pressão nos receptores sensitivos da mucosa antral que ativam o reflexo vagal, aumentando a secreção gástrica. Além disso, após a ligadura de piloro ocorre uma migração de neutrófilos na mucosa, sugerindo que estas células podem estar envolvidas nas lesões da mucosa gástrica, possivelmente pela liberação de radicais livres que causam a peroxidação lipídica e danos à membrana celular (RASTOGI PATNAIK; DIKSHIT, 1998). Segundo Sairam et al. (2002), este tipo de indução de úlcera ocorre devido à autodigestão da mucosa gástrica e pelo rompimento da barreira de proteção da mucosa gástrica.

Foi evidenciado redução do volume gástrico mas sem aumento do pH da secreção em animais tratados com o extrato Pp-EtOH, em comparação com o grupo controle. Entretanto, houve redução dos ácidos totais com

aumento da dose em animais tratados com o extrato Pp-EtOH. Extrato etanólico das folhas de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. inibe a acidez total acompanhada com diminuição do volume da secreção (ALVAREZ et al., 1999), o que nos leva a sugerir que esse evento pode estar envolvido na gastroproteção apresentada por Pp-EtOH em ulceras induzidas por etanol (Tabela 2). Os valores da acidez total, expressos em mEq $[H^+]$ /mL/ 4h, não correspondem sempre ao pH, pois as proteínas presentes na secreção podem tamponar parte da acidez (SOUCCAR; LAPA, 1998).

Em estudos fitoquímicos realizados com a fração Cm-FHA por Santos (2001) e Costa (2005), foram identificados compostos biflavônicos. Compostos flavonóides possuem importante atividade antioxidante, sendo esta estritamente relacionada com sua estrutura química: presença do anel catecol (orto-dihidroxil); ligação dupla 2,3 em conjugação com o grupo 4-oxo; presença de OH- na posição 3 e 5. Juntas, estas alterações conferem potente atividade antioxidante aos compostos derivados de flavonóides (APAK et al., 2007). Foi reportada atividade antioxidante pela amentoflavona (flavonoide contido em Cm-FHA) por eliminar radicais superóxidos (UDDIN et al., 2004). Embora este dado indique que este composto biflavônico encontrado em Cm-FHA sugira atividade gastroprotetora, estudos preliminares desenvolvidos por Costa (2005) com a fração rica em biflavonas (FRB), não demonstraram atividade protetora da mucosa gástrica em lesões induzidas por etanol, podendo ser esta atividade protetora antioxidante advinda de efeitos sinérgicos com outros compostos.

Foram identificados triterpenóides pentacíclicos (16β -hidroxiolean-18-en-3-ona, 3β, 16β-diidroxiolean-18-eno e 3β,16β-diidroxilup-20(29)-eno) na fração hidroalcoólica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire. Na literatura são descritos efeitos antiulcerogênicos de compostos triterpênicos β- Amirina e α- Amirina, isolados da resina de *Protium heptaphyllum* (espécie rica nestes compostos), em modelos experimentais de lesões gástricas (OLIVEIRA, 2005). Triterpenos pentacíclicos com esqueleto lupânico, como lupeol, também exibem atividade gastroprotetora e antioxidante (BARBASTEFANO, 2007). 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; TREJO-MIRANDA; REYES-TREJO, 2002). Gomes et al. (2009) identifica em fração butanólica do extrato metanólico de *Vochysia tucanorum* Mart. o triterpenóide ácido betulínico, também conhecido por sua atividade antiúlcera (ADENSAWO, 2003), e que esta fração apresenta atividade gastroprotera pela via da NO-sintase. Não foram encontrados na literatura relatos de atividade gastroprotetora dos tritepenóides de Cm-FHA, mas observando de modo geral a presença de gastroproteção de triterpenpoides de várias espécies que conservam os requisitos estruturais citados por Narravette, Trejo-Miranda e Reyes-Trejo (2002), os triterpenos podem estar envolvidos na gastroproteção de Cm-FHA.

Estudos fitoquímicos recentes com Pp-EtOH, mostraram que este extrato exibe atividade anti-oxidante no sequestro do radicais livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila. Ainda neste estudo, foi relatado alto perdentual de compostos fenólicos neste extrato (BEZERRA; CARVALHO; CHAVES, 2009). Os compostos fenólicos são metabólitos especiais produzidos pelas plantas tanto durante seu desenvolvimento normal quanto em situações de estresse produzido por infecções, ferimentos, radiação ultravioleta (NACZK; SHAHIDI, 2004). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redox e estrutura química; estas características desempenham um importante papel na neutralização de radicais livres, quelação de metais de transição e eliminação de radicais de oxigênio, através da decomposição de peróxidos (CHUN et al., 2005). Foi atribuído aos compostos fenólicos contidos na fração acetato de etila das folhas de *Anacardium humile* ST. HIL. a atividade gastroprotetora (ALMEIDA et al., 2006), com isto, estes compostos também podem estar envolvidos na atividade gastroprotetora de Pp-EtOH.

Desta forma, as plantas medicinais podem fornecer extratos que contenham compostos que agem nos diversos mecanismos de proteção na mucosa gástrica, sendo importante fonte de pesquisa para novos compostos com atividade anti-úlcera.

6. CONCLUSÕES

Na avaliação da atividade gastroprotetora do extrato etanólico obtido a partir das folhas de *Parkia platicephala* Benth. (Pp-EtOH) e da fração

hidroalcóolica obtida a partir do extrato etanólico das folhas de *Cenostigma macrophyllum Tul.* var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA), pode-se concluir que:

- Pp-EtOH e Cm-FHA não apresentaram toxicidade aguda e não foram letais na dose utilisada na DL_{50} em camundongos e não exibiram atividade citotóxica em eritrócitos de ratos;

- Pp-EtOH (125 e 250 mg/kg) e Cm-FHA (100 e 200 mg/kg) exibiram atividade gastroprotetora contra lesões induzidas por etanol absoluto e etanol acidificado;

- A via NO-sintase pode estar envolvida na gastroproteção evidenciada por Pp-EtOH e por Cm-FHA;

- A ativação de canais potássio, do tipo K_{ATP}, parece não estar envolvida na gastroproteção de Pp-EtOH, mas provavelmente participa na proteção de Cm-FHA;

- Para a fração Cm-FHA, a ativação das via NO-Sintase e K_{ATP} podem ainda estar integradas entre si, uma vez que estudos anteriores já demonstraram que o NO pode ativar estes canais;

- Pp-EtOH e Cm-FHA exibiram proteção gástrica no modelo de isquemia e reperfusão (I/R), sugerindo a participação de mecanismos antioxidantes, pelo aumento da atividade da catalase;

- O extrato Pp-EtOH apresentou redução na acidez titulável da secreção gástrica, podendo a atividade anti-secretora estar envolvida na gastroproteção evidenciada

em úlceras por etanol;

- O extrato Pp-EtOH apresentou boa atividade gastroprotetora assim como anti-secretora. Sendo que os compostos fenólicos detectados, podem ter pepel importante nestes efeitos;

- Os constituintes triterpênicos podem estar envolvidos nos mecanismos gastroprotetores de Cm-FHA.

7. PERSPECTIVAS

Continuar a investigação dos possíveis mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor do extrato etanólico de *Parkia platicephala* Benth. (Pp-

EtOH) e da fração hidroalcóolica de *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire (Cm-FHA) em modelos experimentais, avaliando-se:

- O tecido gástrico através de cortes histológicos, verificando se Pp-EtOH e Cm-FHA também são capazes de reduzir as lesões nas microestruturas deste órgão;
- O papel de neurônios sensitivos na gastroproteção, pela participação de receptores vanilóides, 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);
- A participação das enzima mieloperoxidase e superóxido dismutase, assim como o marcador de peroxidação dialdeído malônico (MDA) em modelos de isquemia/reperfusão, uma vez que estes têm importante papel para a elucidação de mecanismos antioxidantes;
- A atividade anti-secretora do extrato Pp-EtOH estimulados por histamina, betanecol e gastrina, bem como realizar o estudo da atividade da H^+/K^+/ATPase, peças chave no mecanismo de secreção gástrica**.**

REFERÊNCIAS

ABAY, S. M.; ABDULWAHIB, M. **Gastroprotective effect of hydroalcoholic extract of Ruta chalepensis leaves.** Pharmacognosy magazine, v. 4, p. 231-233, 2008.

ADESANWO, J. K.; EKUNDAYO, O.; OLUWOLE, F. S.; OLAJIDE, O. A.; VAN DEN BERGEZA, J. J. J.; NIDLAY. J. A. **The effect of T*etracera potatoria* and its constituent betulinic acid on gastric secretion and experimentally induced gastric ulceration.** Nigerian Journal of Physiological Sciences. v.18, p. 21-26, 2003.

AGUNU, A. YUSUF, S. ANDREW, G. O. A.; ZEZI, A. U. ABDURAHMAN, E. M. **Evaluation of five medicinal plants used in diarrhoea treatment in Nigeria**. Journal of Ethnopharmacology, v. 101, 3. 27-30, 2005.

AJAIYEOBA, EDITH O. **Phytochemical and antibacterial properties of *Parkia biglobosa* and leaf extracts.** Afr. J. Biomed. Res. v. 5, 125-29. 2002

AKINTAYO, E. T. **Characteristics and composition of Parkia biglobbossa and Jatropha curcas oils and cakes.** Bioresource Technology. v. 92, 307-310. 2004.

ALMEIDA, A. C. A. ; PIMENTEL, F. O. ; BARBASTEFANO, V. ; FARIAS-SILVA, E. ; SOUZA-BRITO, A. R. M. . **Atividade antiulcerogênica de Anacardium humile St. Hil. (cajuzinho-do-cerrado) no modelo de indução por isquemia e reperfusão.** In: XIV Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, Campinas - SP. Caderno de resumos do XIV Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 27 a 28 de setembro de 2006. Campinas - SP : UNICAMP, Pró-Reitoria de Pesquisa.

ALMEIDA, F. R. C., FONTAO, D. F. S., OLIVEIRA, R. C. M., CRUZ, F. J. S. M., NUNES, P. H. M. **Atividade anti-ulcerogênica em extrato aquoso e etanólico das cascas de *Cenostigma macrophyllum* tul. Var. Acuminata Teles Freire**. In: reunião anual da fesbe, 2002, Salvador/Ba. Livro de resumos da xvii reunião anual da fesbe, 2002.

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

ALVES, A. A. **Valor nutritivo da vagem de faveira (*Parkia platycephala Benth.*) para ruminantes.** Teresina: SAPIÊNCIA FAPEPI, 2004. Disponível em: <http://www.fapepi.pi.gov.br/sapiencia/resumo1.php> Acesso em: 21 Mar. 2007.

ALVES, C. Q. **Flavonóides antioxidantes e derivados do ácido gálico isolados de Cenostigma gardnerianum.** 2007, 108f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica)-Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2007.

ANDREO, M. A.; BALLESTEROS, K.V.R.; HIRUMA-LIMA, C. A.; DA ROCHA, L. R. M.; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W. **Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection**. J. Ethnopharmacol. v. 54, p. 131-138, 2006.

APAK, R.; GUCLU, K.; DEMIRATA, B.; OZYUREK, M.; CELIK, S. E.; BEKTASOGLU, B. BERKER, I.; OZYURT, D. **Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay**. Molecules, v. 12, 1496-1547, 2007.

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, 593-597, 1989.

ASCHWANDEN, C. **Herbs for health, but how safe are they?** Bull. W. H. O., Geneva, v.79, n.7, p.691-692, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/bulletin>Acesso em: 11 mar. 2008.

ASUZU, I. U.; HARVEY, A. L. **The antisnake venom activities of *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) stem bark extract.** Toxicon. v. 42, 763-768, 2003.

BAGGIO, C. H. **MECANISMOS ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE *Achillea millefolium* L.** 2004. 150f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)-Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

BARBASTEFANO, V. **Atividade antiulcerogenica de extratos brutos, frações semi-purificadas e substancia ativa de duas especies do genero Vernonia : Vernonia polyanthes e Vernonia ferruginea**. 2007. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular)-Programa de Pós-Graduação em Biologia Funcional e Molecular, Campinas, 2007.

BARBOSA, W. L. R.; BARROS, W.; SOLER, O. **Etnofarmacêutica: uma abordagem de plantas medicinais pela perspectiva da ciências farmacêuticas.** Rev. Bras. Farm., Rio de Janeiro, v. 77, n. 3, p. 82-84, 1996.

BARON, J.H. **Effect of carbenoxolone sodium on human gastric acid secretion.** Gut, v. 18, p. 721-722, 1977.

BATISTA, L. M.; DE ALMEIDA, A. B.; DE PIETRO MAGRI, L.; TOMA, W.; CALVO, T. R.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A. R. **Gastric antiulcer activity of Syngonanthus arthrotrichus.** Biol. Pharm. Bull., v.27, p.328-332, 2004.

BEER, R. J.; SIZER, I. W. **Spectrophotometric Method for Measuring the Breakdown of Hydrogen Peroxide by Catalase.** J. Biol. Chem., v. 195: 133-140, 1952.

BEZERRA, R. D. S. ; CARVALHO, A. A. ; CHAVES, M. H. . **FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Parkia Platycephala Benth***. In: 32a Reunião Anual da SBQ, 2009, Fortaleza - CE. 32ª Reunião Anual da SBQ, 2009.

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.

BORRELLI, F.; IZZO, A.A. **The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies.** Phytotherapy Research, v. 14, p. 581-91, 2000.

BOYD, S. C., SASAME, H. A., BOYD, M. R. **Gastric glutathione depletion and acute ulcerogenesis by diethylmalate given subcutaneously to rats**. Life Sciences, v. 28, 2987-2992, 1981.

BRODIE, D.A. **The mechanism of gastric hyperacidity produced by pylorus ligation in the rat**. Am. J. Dig. Dis. v. 11, p. 231-241, 1966.

BUNNELL, E., PACHT, E.R. **Oxidized glutathione is increased in the alveolar fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome**. **Am.** Rev. Respir. Dis. v. 148, p. 174-1178, 1993.

CANTIN, A.M., HUBBARD, R.C., CRYSTAL, R.G., **Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis**. Am. Rev. Respir. Dis. v. 139, pg. 370–372, 1989.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. **Phenolic antioxidants from cloral oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*** . Process Biochem. v. 40, n.2 809-816, 2005.

CNUBBEN, N. H. P.; RIETJENS, I. M. C. M.; NORTELBOER, H.; ZANDER, J.; BLADERSEN, P. J. T**he interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense.** Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 10, p. 141-52, 2001.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasile das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, v. 3, p.28, 1952.

CORUZZI G.; ADAMI M.; MORINI G.; POZZOLI C.; CENA C.; BERTINARIA M. **Antisecretory and gastroprotective activities of compounds endowed with H_2 antagonistic and nitric oxide (NO) donor properties.** J Physiol Paris, v. 94 p.5-10, 2000.

COSTA, C. L. S. **Constituintes Químicos e Atividades Antibacteriana, antiulcerogênica e hepatoprotetora da Cenostigma macrophyllum Tull var. acuminata Teles Freire (Leguminosae-Caesalpinioideae),** 2005. 137f. Dissertação (Mestrado em Química)- Coordenação do Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2005.

CURTIS, G. H.; MANNAUGHTONan, W. K.; GALL ,D. G.; WALLACEa, J. L. **Intraluminal pH modulates gastric protaglandin synthesis.** Can. J. Physiol. Pharmacol., v. 73, p. 130-134,1995.

DA SILVA-SANTOS, J. E.; SANTOS-SILVA, M. C.; CUNHA, F. Q.; ASSREUY, J.

The role of ATP-sensitive potassium channels in neutrophil migration and plasma exudation. J Pharmacol Exp Ther. V. 300, p946-.951, 2002.

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.

DERELANKO, M. J.; LONG, J. F. **Carbenoxolone sodium protects rat gastric mucosa against ethanol-induced necrosis.** Proc. Soc. Exp. Biol. Med. v. 166, p. 394-397, 1981.

DEY, I.; LEJEUNE, M.; CHADEE, K. **Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract.** British Journal of Pharmacology. v. 149, p. 611-623, 2006.

DICKINSON, D.A.; FORMAN, H.J. Cellular glutathione and thiols metabolism. **Biochemical Pharmacology**, v. 64, p. 1019-1026, 2002.

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

DOI, K.; NAGAO, T.; KAWAKUBO, K.; IBAYASHI, S.; AOYAGI, K.; YANO, Y.; YAMAMOTO, C.; KANAMOTO, K.; IIDA, M.; SADOSHIMA, S.; FUJISHIMA, M. **Calcitonin gene-related peptide affords gastric mucosal protection by activating potassium channel in Wistar rat.** Gastroenterology, v. 114, p. 71-76, 1998.

DOLL, R.; HILL, I.D.; HUTTON, C.; UNDERWOOD, D. J. **Clinical trial of a triterpenoid liquorice compound in gastric and duodenal ulcer**. Lancet, v.2, 793-796, 1962.

DOMER, F.R. **Animail experiments in pharmacological analysis.** Charles C. Thomas Publisher, 669p, 1971.

ELLIOTT, S. N.; WALLACE, J. L.; McKNIGHT, W.; GALL, D. G.; HARDIN, J. A.; OLSON, M. & BURET, A. **Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor.** American Journal of Physiology (Gastrointestinal and Liver Physiology), v. 278, p. 105-112, 2000.

FARIAS-SILVA, E. ; COLA-MIRANDA, M. ; CALVO, T. R. ; PIMENTEL, F. O. ; FERREIRA, A. L. ; BARBASTEFANO, V. ; HIRUMA-LIMA, C. A. ; VILEGAS, W. ; SOUZA BRITO, A. R. M. . **Antioxidant enzymes activity of aqueous and ethyl acetate fractions obtained from Indigofera truxillensis against ischemia-reperfusion-induced gastric lesions.** In: Congress Phytotherapy, 2005, Funchal-Portugal. Congress Phytotherapy, 2005.

FAVACHO, A. R. M.; CINTRA, E. A.; COELHO, L. C. B. B.; LINHARES, M. I. S. **In vitro activity evaluation of Parkia pendula seed lectin against human**

cytomegalovirus and herpes virus 6. Biologicals, v. 35, p 189-94, 2007.

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

FILARETOVA, L.; KOMOIKE, Y.; TANAKA, A. **COX-2 inhibitor induces gastric mucosal damage in adrenalectomized rats.** Inflammopharmacology, v.10, p. 413-422, 2002.

FLEMSTROM, G.; ISENBERG, J. I. **Gastroduodenal Mucosal Alkaline Secretion and Mucosal Protection.** News Physiol. Sci., v. 16, p. 23-28, 2001.

FLEMSTROM G; GARNER, A. **Gastroduodenal HCO3- transport: Characteristics and proposed role in acidity regulation and mucosal protection.** Am J Physiol, v. 242, p. 183-193, 1982.

FREIRE, F. M. T. **Revisão taxonômica do gênero *Cenostigma* Tul. (leguminosae-caesalpinioideae) para o Brasil.** 1994, 113f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)-Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1994.

FRIDOVICH, I. **Biological effects of superoxide radical.** Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 247, p 1-11, 1986.

GAZZIERI, D. **Substance P released by TRPV1-expressing neurons produces reactive oxygen species that mediate ethanol-induced gastric injury.** Free Radic. Biol. Med. v. 43, p. 581-589 ,2007.

GERSHON, M. D.; KIRCHGESSNER, A. L.; WADE, P.R. **Functional anatomy of the enteric nervous system.** In: Johnson LR, editor. Physiology of the gastrointestinal tract. New York: Raven Press, p. 381-422, 1994.

GILLETTE, J. R.; MITCHELL J. R.; BRODIE B. B. **Biochemical basis for drug toxicity.** Ann. Rev. Pharmacol. v. 14, p. 271-288, 1974.

GLAVIN, G. B.; SZABO, S. **Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies**. Faseb. Journal, v. 6, p. 825-831, 1992.

GOMES,R. C.; BONAMINA, F.; DARIN, D. D.; SEITO, **L. N. Antioxidative action of methanolic extract and buthanolic fraction of *Vochysia tucanorum* Mart. in the gastroprotection.** Journal of Ethnopharmacology, v. 121, p 466-471, 2009

GRIFFITH, O. W.; MULCAHY R. T. **The enzymes of glutathione syntesis:gammaglutamylcysteine synthetase.** Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. v. 73, p. 209-267, 1999.

GURIB-FAKIM, A. **Medicinal plants: traditions of yesterday**. Molecular Aspect of Medicine, v. 27, p 1-93, 2006.

GUTH, P. H. **Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology.** Yale J Biol Med. v. 65, p. 677-688,1992.

HAGNER, S.; STAHL, U.; KNOBLAUCH, B. **Calcitonin receptor-like receptor: identification and distribution in human peripheral tissues.** Cell. Tissue Res. v. 310, p. 41-50, 2004.

HALTER, F.; TARNAWSKI, A. S.; SCHMASSMANN, A.; PESKAR, B. M. **Cyclooxygenase 2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues andperspectives**. Gut, v. 49 (3), p. 443-53, 2001.

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

HEGNAUER, R.; BARKMEIJER, R. J. G. **Relevance of seed polysaccharides and flavonoids for the classification of leguminosae: a chemotaxonômic approach.** Phytochemistry, Great Britain, v. 34, p. 3-16, 1993.

HIROKAWA M.; FURUKAWA O.; GUTH P. H.; ENGEL E.; KAUNITZ J. D. **Low Dose Prostaglandin E2 Mimics the Duodenal Secretory Response to Luminal Acid in Mice.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, v. 286, p. 1-31, 2004.

HIRSCH, A.B.; MCCUEN, R.W.; ARIMURA, A. **Adrenomedullin stimulates somatostatina and thus inhibits histamine and acid secretion in the fundus of the stomach.** Regul. Pept. v. 110, p. 189-95, 2003.

HIRSCHOWITZ, B.I.; MOLINA, E.. **Effects of four H2 histamine antagonists on bethanechol-stimulated acid and pepsin secretion in the dog.** J. Pharmacol. Exp. Ther. v. 2, p. 341-345, 1983.

HIRUMA-LIMA, C. A. NUNES, D. S.; BIGHETTI, E. J. B.; RODRIGUEZ, J. C.; HAUN, M. **Croton cajucara Benth., uma planta da família Euphorbiaceae**.Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Unicamp, Campinas, 1998.

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. 1143-1154, 1974.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B .P. **Screening of some plants used in the brazilian medicine for treatment of infectious disease.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 97, p. 1027-1031, 2002.

HOLST, B.; SCHWARTZ, T.W. **Constitutive ghrelin receptor activity as a signaling set-point in appetite regulation.** Trends Pharmacol. Sci. v. 25, p. 113-17, 2004.

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

HOLZER, P.; LIVINGSTONE, E. H.; GUTH, P. H. **Neural, metabolic, physical, and endothelial factors in the regulation of the gastric circulation.** In: JOHNSON, L.R. Physiology of the gastrointestinal tract. 3 ed. New York: Raven Press, v. 2, p. 1311-29, 1994.

HOLZER P.; SAMETZ, W. **Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons.** Gastroenterology, v. 91, p. 975-981, 1986.

HOSTETTMAN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios Ativos das plantas superiores.** São Carlos. EdUFSCAR, p. 152, 2003.

JOHNSTON, B.; LINDUP, W. E.; SHILLINGFORD, J. S.; SMITH, M.; PARKE, D. V. **The pharmacological-biochemistry of carbenoxolone. Its effects on gastric mucus.** In Fourth Symoposium on Carbenoxlone, ed. Jones, F.A. & Parke, D. V., p. 3-21. London & BOSTON: BUTTERWORTHS, 1975.

KANG, D. G.; YIN, M. H.; OH, H.; LEE, D.H.; LEE, H. S.**Vasorelaxation by amentoflavone isolated from Selaginella tamariscina.** Planta Med. v. 70, p 718-722, 2004.

KAO, Y. C.; LICHTENBERGER, L. M. **Effect of 16,16-dimethyl prostaglandin E2 on lipidic organeles of rat gastric surface mucous cells**. Gastroenterology, v. 104, p. 103-113, 1993.

KATO S, OGAWA Y, KANATSU K. **Ulcerogenic influence of selective cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors in the rat stomach with adjuvant-induced arthritis.** J Pharmacol Exp Ther v. 303, p. 503-509, 2002.

KAWASHIMA, K.; ISHIHARA, S.; RUMI, M.A.K. **Localization of calcitonin generelated peptide receptors in rat gastric mucosa.** Peptides, v. 23, p. 955–66, 2002.

KINGHORN, A.D. **The role of pharmacognosy in modern medicine**. Expert. Opin. Pharmacother., v. 3, p. 77-9, 2002.

KIRKPATRICK, P. **Stitching together naturally.** Nature, v. 1, p. 748, 2002.

KODJO, K. M.; CONTESSE, V.; Do REGO, J. L.; AKLIKOKOU, K.; TITRIKOU, S.; GBEASSOR, M.; VAUDRY, H. **In vitro effects of crude extracts of Parkia biglobosa (Mimosaceae), Stereospermum kunthianum (Bignoniaceae) and Biophytum petersianum (Oxalidaceae) on corticosteroid secretion in rat.** J. Steroid Biochem. Mol. Biol. v. 100, p. 202-208, 2006.

KONTUREK, J. W.; FISCHER, H.; GROMOTKA, P. M.; KONTUREK, S. J.; DOMSCHKE, W. **Endogenous nitric oxide in the regulation of gastric secretory and motor activity in humans**. Alimentary Pharmacology &Therapeutics, v. 13, p. 1683-1691, 1999.

KONTUREK, S. J.; CIESZKOWSKI, M.; JAWOREK, J.; KONTUREK, J.; BRZOZOWSKI, T.; GREGORY, H. **Effects of epidermal growth factor on gastrointestinal secretions**. Am. J. Physiol., v. 246, p. 580-586, 1984.

KOUADIO, ; KANKO, C.; JUGE, M.; GRIMAUD, N.; JEAN, A.; N'GUESSAN, Y. T.; PETIT, J. Y. **Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from Parkia biglobosa used in traditional medicine in the Ivory Coast**. Phytotherapy Research, v. 14, p. 635-637, 2000.

KUTCHAI, H. C. **Secreções gastrintestinais**. In: BERNE, R. M. & LEWI, M. N. Fisiologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1996.

KUSHIMA, H.; HIMURA-LIMA, C. A.; SANTOS, M. A.; VIANA, E.; COELHO-FERREIRA, M.; BRITO, R. M. S.**Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulphydryls and nitric oxide.** J. Ethnopharmacology, v. 101, p. 61-67, 2005.

LAINE L. **Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy.** Gastrointest Endosc Clin N Am., v. 6, p. 489-504, 1996.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. **Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside.** Gastroenterology, v. 135, p. 41-60, 2008.

LEAL, T. C. B. **Produção do óleo essesncial de capim cidreira (Cybopogon citratus (DC) Stapf) em função de fatores endogenos e exogenos.** Tese de Doutorado, universidade estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro,1998.

LONGHURST, J. C.; STTEBINS, C. L.; ORDWAY, G. A. **Chemically induced cardiovascular reflexes arising from the stomach of the cat.** American Journal Physiology - Heart Circulatory Physiology, v. 247, p. 459-466, 1984 (a).

LONGHURST, J. C.; KAUFMANN, M. P.; ORDWAY, G. A.; MUSCH, T. L. **Effects of bradykinin and capsaicin on endings of aferent fibers from abdominal visceral organs.** American Journal Physiology **-** Regulatory Integrative Comparativa Physiology, v. 247, p. 552-559, 1984 (b).

LOPES, F. C.; CAVADA, B. S.; PINTO, V. P. T.; SAMPAIO A. H.; GOMES, J. C. **Differential effect of plant lectins on mast cells of different origins**. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 38, p. 935, 2005.

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

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. N. Human Anatomy & Physiology. 7th Ed. Benjamin Cummings. 1159p, 2006.

MARTIN, A.; ZARAMELLA, N.; STURNIOLO, G. C.; GURRIERI, G.; NACCARATO, R. **Oral carbenoxolone protects the gastric mucosa against indomethacin.** Gut, v. 25, p. 564, 1984.

MATES, J.M. **Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology**. Toxicology, v. 153, p. 83-104, 2000. Erratum in: Toxicology , v. 163, p. 219, 2001.

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

MEQUANENTE, S.; MAKONNEN, E.; DEBELLA, A. G**ASTROPROTECTIVE EFFECT OF AQUEOUS T*RIGONELLA FEONUM-GRACUM* AND *LINUM USSITATISSIMUM* SEED EXTRACTS IN MICE.** Pharmacology online, vol.2, p. 224-234, 2006.

MESSEGUÉ, M. In: PROS, J. S. (ed.) **Cúrate con las plantas medicinales: prontuario de medicina vegetal.** Barcelona: Editorial Sintes, p. 9-14, 1976.

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

MILLER, L. C.; TAINTER, M. L. **Estimation of the LD50 and its error by means of logarithmic probit graph paper**. Proc Soc Exp Biol Med.*57*: 261-264, 1944.

MIZUI, T.; DOUTEUCHI, M. **Effect of polyamines on acidified ethanol gastric-lesions in rats. J. Pharmacol**., v.33, p.939-945, 1983.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, T. **Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of terprenone and cimetidine**. Jpn J. Pharmacol. v. 57, p. 495-505, 1991.

MURPHY, E. M.; BRAYDEN, J. E.; **Nitric oxide hyperpolarized rabbit mesenteric arteries via ATP-sensitive potassium channels.** J Physiol Lond. v. 486, p. 47-58, 1995.

MURRAY, K.; BLOOM, E. **Ghrelin for the gastroenterologist: history and potential.** Gastroenterology, v. 125, p. 1492-1502, 2003.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Extraction and analysis of phenolics in food.** J. Chromatogr., Amsterdam, v. 1054, p.95-111, 2004.

NASCIMENTO, M. S. B.; MACHADO, F. A. **Árvores nativas - uma riqueza**

gratuita. Embrapa, 2005. Disponível em: <http://www.embrapa .br/noticias/artigos/folder.2005-02-02.1550581232/artigo.2005-12-05.7898292197/mos tra_artigo> Acesso em: 21 Mar. 2007.

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.

NEWMA, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. **Natural products as source of new drugs over period 1981-2002.** Journal of Natural Product, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NWOKOLO, C.U.; FRESHWATER, D.A.; O'HARE, P. **Plasma ghrelin following cure of *Helicobacter pylori.*** Gut, v. 52, p. 637–40, 2003.

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

ODETOLA, A. A. et. al, **Possible antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of fermented Parkia biglobosa extract in alloxan-induced diabetic rats**. Clin Exp Pharmacol Physiol., v. 33, p. 808-12, 2006.

OHNSTON, B., LINDUP, W.E., SHILLINGFORD, J.S., SMITH, M. & PARKE, D.V. **The pharmacological-biochemistry of carbenoxolone. Its effects on gastric mucus.** In Fourth Symposium on Carbenoxolone, ed. Jones, F.A. & Parke, D.V., p. 3-21. London & Boston: Butterworths, 1975.

OLINDA, T. M.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. **Quebrachitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K+ATP channels.** Phytomedicine, v. 15, p. 327-333, 2008.

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

OMS Organización Mundial de La Salud. **Situación regulamentaria de los medicamentos: uma resena mundial**. Traducción del inglés: Organización Panamericana de la Salud. Washington: OPAS, 62p, 2000.

ORSINI, B.; CALABRO, A.; MILANI, S.; GRAPPONE, C.; HERBST, H.; SURRENTI,
C. **Localization of epidermal growth factor/transforming growth factor-alpha receptor in the human gastric mucosa. An immunohistochemical and in situ hybridization study**. Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol., v. 423, n. 1, p.57-63, 1993.

OSHINO N.; CHANCE B.; SIES H.; BUCHER T. **The role of H_2O_2 generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors.** Arch. Biochem. Biophys, v. 154, p.117-131, 1973.

PANDIAN, R. S.; ANURADHA, C.V. ; VISWANATHAN, P. **Gastroprotective effect of fenugreek seeds (Trigonella foenum graecum) on experimental gastric ulcer in rats.** J. Ethnopharmacology, vol. 81, p. 393-397, 2002.

PEREIRA, S. S.; ALMEIDA, F. R. C.; CHAVES, M.H.; SILVA, L. L.; SILVA, A. M. O.; ALENCAR, N. L. **Estudo dos Efeitos antiinflamatório e analgésico da casca de Cenostigma macrophyllum TUL. var. acuminata Teles Freire.** In: XIV Seminário de Iniciação Científica da UFPI, 2006, Teresina. Anais da XIV Seminário de Iniciação Científica da UFPI. Teresina : EDUFPI, 2006.

PESKAR, B. M.; HOLLAND, A.; PESKAR, B. A. **Effect of carbenoxolone on prostaglandin synthesis and degradation.** J. Pharm. Pharmacol. v. 28, p. 146-148, 1976.

PIAUILINO, C. A.; CARVALHO, F. C. B., PASSOS, F. F. B., SILVA, L. L., SILVA, H. R., COSTA, C. L. S. CHAVES, M. H. ALMEIDA, F.R. C., BRITO, S. R. C. **Inibição da glicação *in vitro* da hemoglobina.** III Regional da FESBE, Fortaleza-CE, 2008.

RANGEL M.; MALPEZZI E. L. A.; SUSINI S. M. M.; FREITAS, J. C. **HEMOLYTIC ACTIVITY IN EXTRACTS OF THE DIATOM NITZSNHIA.** TOXICON. V.35, P. 305-309, 1997.

RANIERI F, MEI N, CROUSILLAT J. **Les afferences splanchniquesprovenant des mecanorecepteurs gastrointestinaux et peritoneaux.** Exp Brain Res. v. 16, p. 276-290, 1973.

RASK-MADSEN, J.; BUKHAVE, K.; MADSEN, P. E. R.; BEKKER, C. **Effect of carbenoxolone on gastric prostaglandin E2 levels in patients with peptic ulcer disease following vagal and pentagastrin stimulation**. Eur. J. Clin. Invest. v. 13, p. 351-356, 1983.

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

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

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

REIS, J. C.; MARANHÃO, S. K. S.; BRITO, S. R. C. **Avaliação da atividade de Cenostigma macrophyllum Tul. na glicemia e na glicosilação de hemoglobina em ratos diabéticos.** In: XI Seminário de Iniciação Científica da UFPI, 2002, Teresina, 2002.

RENDU, F.; SALEUN, S.; AUGER, J. Parkia biglobosa seeds posses anti platelet activity. Thromb- Res., v. 71, p 505-508, 1993.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. **Antioxidant properties of natural**

compounds used in popular medicine for gastric ulcers. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 35, p. 523-534, 2002.

RIBEIRO, M. E.; YOSHIDAW. B. **Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models**. J. Vasc. Br . 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.

ROMAN C, GONELLA J. **Extrinsic control of digestive tract motility.**In: Johnson LR, editor. Physiology of the gastrointestinal tract. New York: Raven Press, p 507-543,1987.

ROSS, D.; KEPA, J.K.; WINSKI, S.L.; BEALL, H.D.; ANWAR, A.; SIEGEL, D. **NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1): chemoprotection, bioactivation, gene regulation and genetic polymorphisms.** Chem. Biol. Interact. v. 129, p. 77-97, 2000

ROUM, J. H.; BEHLD, R.; MCELVANCY, N. G.; BOROK, Z.; CRYSTAL, R. G.; SALIM, A. S. **Sulphydryls protect patients against complications of erosive gastritis.** Dig. Dis. Sci. v.11, p. 1436-1437, 1994.

RSINI, B.; CALABRO, A.; MILANI, S.; GRAPPONE, C.; HERBST, H.; SURRENTI, C. **Localization of epidermal growth factor/transforming growth factor-alpha receptor in the human gastric mucosa. An immunohistochemical and in situ hybridization study**. Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol. v. 423, p.57-63, 1993.

SAIRAM, K.; RAO, C. H. V.; BABU, M. D.; KUMAR, V.; AGRAWAL, V.K., GOEL, R.K. **Antiulcerogenic activity of methanolic extract of *Emblica officinalis*.** J. Ethnopharmacol., v. 82, p. 1-9, 2002.

SANTOS, F. J. B. **Constituintes químicos da fase hidroalcoólica e atividades antiinflamatória e antinociceptiva do estrato etanólico das folhas de Cenostigma macrophyllum TUL. var. acuminata Teles Freire (Legumisae-Caesalpinioideae)**. 2001, 148f. Dissertação (Mestrado em Química) – Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, Univarsidade Federal do Piauí. Teresina, 2001.

SANTOS, F. J. B., COSTA, C. L. S., COSTA, A. F., COUTINHO, L. S., SKEFF, A. T. S., OLIVEIRA, E. H., CHAVES, M. H. **Atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de Cenostigma (Caesalpiniaceae).** In: XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2000, Recife. Livro de Resumos, 2000.

SCHULTZ, M.; DUTTA, S.; TEW, K. D. **Inhibitors of glutathione S-transferase as therapeutic agents.** Advanced Drug Delivery Reviews, v. 26, p. 91-104, 1997.

SCHUBERT, M.L. **Gastric Secretion.** Curr. Opin. Gastroenterol., v. 20, p. 519-20, 2004.

SEILD, P. R. **Pharmaceuticals from natural products: current trends**. An. Acad. Bras. Cienc., Rio de Janeiro, v.74, p. 145-150, 2002.

SIEGEL D.; GUSTAFSON D. L.; DEHN D. L.; HAN J. Y.; BOONCHOONG P.; BERLINER L. J.; ROSS D. **NADPH:Quinone Oxidoreductase 1: Role as a Superoxide Scavenger**. MOL Parmacol, v. 65, p 1238-1247, 2004.

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.

SILVA, H. R., C. C. M., NETO, L.B. C, LOPES, J.A.D., CITÓ, A. M. G. L. E CHAVES, M. H. **Constituintes Químicos das Cascas do Caule de *Cenostigma macrophyllum*: Ocorrência de Colesterol.** Quim. Nova*,* v. 30, p. 1877-1881, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. MELO, J. C. P. ; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao medicamento.** Florianópolis: EUFSC, 1102p, 2004.

SINGH, R.; MADAN, J.; RAO, H. S. **Antiulcer activity of black pepper against absolute ethanol induced gastric mucosal damage in mice.** Pharmacognosy magasine, vol. 4, p. 232-235, 2008.

SIRAKI A. G.; POURAHMAD J.; CHAN T. S.; KHAN S.; O'BRIEN P. J. **Endogenous and endobiotic induced reactive oxygen species formation by isolated hepatocytes.** Free Radical Biol. Med. v. 32, p. 2-10, 2002.

SOUCCAR, C, LAPA, A. **II Curso iberoamericano de validação de plantas medicinais com atividade gastrintestinal.** Escola paulista de medicina: São Paulo, 1998.

SOUSA, C. M. M., SILVA, H.R., VIEIRA-JR. G. M., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L.S., ARAÚJO, D.S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., CHAVES, M. H. **Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais**. Quim. Nova, V. 30, p. 351-355, 2007.

SUNDLER, F.; EKBLAD, E.; MEI, Q. **Innervation of the Gastric Mucosa.** MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE, v. 48, p 241-257, 2000.

SUGITA, H.UENO T, SHIMOSEGAWA, T.; YOSHIMURA, T.; **Direct detection of nitric oxide and its roles in maintaning gastric mucosal integrity following ethanol induced injury in rats**. Free Radic Res, v. 37, p. 159-169.2003

STERNINI, C.; REEVE, J. R.; AND BRECHA N. **Distribution and characterization of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the digestive system of normal and capsaicin treated rats.** Gastroenterology, v. 93, p. 852-862, 1987.

SZABO, S., **Mechanisms of gastric mucosal injury and protection.** Journal of Clinical Gastroenterology. v. 13, p. 21-34, 1991.

SZABO, S.; BYNUM, T. E. **Alternatives to the acid-oriented approach to ulcer disease: does 'cytoprotection' exist in man? A new classification of antiulcer agents.** Scand. J. Gastroenterol. v. 1, p. 1-6, 1988.

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.

SZABO, S.; VINCZE, Á. **Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies.** Journal of Physiology, v. 94, p. 77-81, 2000.

TAKEEDA M.; HAYASHI Y.; YAMATO M.; MURAKAMI M.; TAKEUCHI K. **Roles of endogenous prostaglandins and cyclooxygenase isozymes in mucosal defence of inflamed rat stomach.** J Physiol Pharmacol. v. 55, p. 193–205, 2004.

TAKEUCHI K.; AIHARA E.; SASAKI, Y.; NOMURA Y.; ISE, F. I**nvolvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin E2 and EP1 receptors in acid-induced HCO3- secretion in stomach**. Jour. of Phys. and Pharm. v. 57, p. 661-676, 2006.

TANAKA A, ARAKI H, HASE S. **Roles of COX-1 and COX-2 inhibition in nonsteroidal antiinflammatory drug-induced gastric damage in rats: relation to functional responses.** Aliment. Pharmacol. Ther. v.16, p 90-101, 2002.

TANAKA D.; TSUTSUMI S.; ARAI Y.; HOSHINO, T.; SUZUKI, K.; TAKAKI, E.; ITO, T.; TAKEUCHI, K.; NAKAI, A.; MIZUSHIMA, T. **Genetic evidence for a protective role of heat shock factor 1 against irritant-induced gastric lesions.** Mol Pharmacol, v. 71, p.985-993, 2007

TAKEUCHI K, UESHIMA K, HIRONAKA Y. **Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats.** Digestion, v. 49, p. 175–184, 1991.

TAUPIN D.; PODOLSKY D. K. **Trefoil factors initiators of mucosal** healing. Nat Rev Mol Cell Biol. v. 4, p. 721, 2003.

TRINGALI, C.; SPATAFORA, C.; LONGO, O. D. **Bioactive constituents of the bark of *Parkia biglobosa***. Fitoterapia, v. 71, p. 118-125, 2000.

UDDIN, Q.; MALIK, A.; AZAM, S.; HADI, N.; AZMI, A. S.; PARVEEN, N.; KHAN,

N. U.; HADI, S. M. **The biflavonoid, amentoflavone degrades DNA in the presence of copper íons. Toxicol. In Vitro.** Great Britain, v. 18, p. 425-440, 2004.

UEDA S, YOSHIKAWA T, TAKAHASHI S. **Role of free radicals and lipid peroxidation in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats.** Scand J Gastroenterol. v. 24, 55-58, 1989.

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

WALLACE J. L.; MCKNIGHT, W.; REUTER, B. K.; VERGNOLLE, N. **NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2**. Gastroenterology, v. 119, p. 706-714, 2000.

WHITE, R. **The family Leguminosae.** ILDIS- International Legume Database & Information Service < http://www.ildis.org/Leguminosae >(acesso em Janeiro de 2009)

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.**J.Physio.1 Gastrointest. Liver. Physiol., v. 248, p. 580-586,1985.

WHITTLE B. J. R.; LOPEZ-BELMONTE J.; MONCADA S. **Nitric oxide mediates rat mucosal vasodilatation induced by intragastric capsaicin.** Eur. J. Pharmacol. v. 218, p. 339-341, 1992.

YASUI, K.; BABA, A. **Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation.** Inflamm. res., v.55, p. 359-363, 2006.

YOSHIKAWA, T.; UEDA, S.; NAITO, Y.; TAKAHASHI, S.; OYAMADA, H.; MORITA, Y.; YONETA T.; KONDO, M. **Role of oxygen-derived free radicals in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats.** Free Radic. Res. Commun. v. 7, p. 285, 1989.

ZARUCCHI, J. L. **Phytochemical dictionary of the legumisosae**. London, Chapman & Hall, v. 1, 1994.

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