



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA – PRPGP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

FRANCISCO ELIZAUDO DE BRITO JUNIOR

**BIOPROSPECÇÃO FARMACOLÓGICA DE PLANTAS
MEDICINAIS DO NORDESTE BRASILEIRO: AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA E
ANTIMICROBIANA DO *Croton Campestris* A.St.-Hill.
(VELAME DO CAMPO)**

CRATO – CE

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

FRANCISCO ELIZAUDO DE BRITO JUNIOR

**BIOPROSPECÇÃO FARMACOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS DO
NORDESTE BRASILEIRO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA
E ANTIMICROBIANA DO *Croton Campestris* A.St.-Hill. (VELAME DO CAMPO)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Área de Concentração: Bioprospecção Molecular

Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marta Regina Kerntopf

Co-orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

CRATO – CE

2010

Brito Junior, Francisco Elizaudo de.
B862b Bioprospecção farmacológica de plantas medicinais do Nordeste brasileiro:
avaliação da atividade gastroprotetora e antimicrobiana do *Croton campestris*
A.St.-Hill. (velame-do-campo)/ Francisco Elizaudo de Brito Junior. – Crato-CE,
2010.
133p.

Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Pós-Graduação *Stricto*
Sensu em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – Urca.
Orientadora: Profª. Drª. Marta Regina Kerntopf
Co-Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

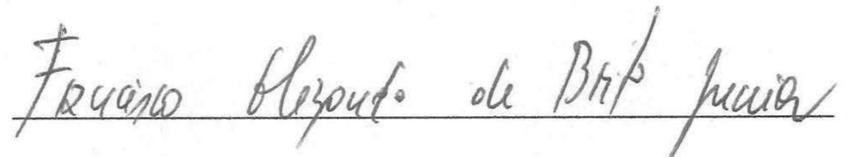
1.Plantas medicinais. 2. *Croton campestris* A.St.-Hill. 3.Bioprospecção
farmacológica. 4. Gastroproteção. 5. Atividade antimicrobiana. I.Título.

CDD: 615.323

FRANCISCO ELIZAUDO DE BRITO JUNIOR

**BIOPROSPECÇÃO FARMACOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS DO
NORDESTE BRASILEIRO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA
E ANTIMICROBIANA DO *Croton Campestris* A.St.-Hill. (VELAME DO CAMPO)**

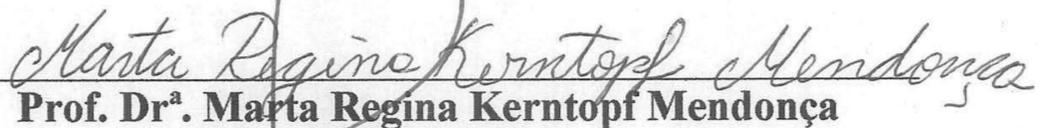
Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em Bioprospecção Molecular / Área de Concentração em Bioprospecção Molecular, outorgado pela Universidade Regional do Cariri, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas da Saúde- CCBS. Universidade Regional do Cariri - URCA.



Francisco Elizaudo de Brito Junior

Dissertação examinada em: 26/10/2010

Banca Examinadora:



Prof. Dr.ª. Marta Regina Kerntopf Mendonça

Universidade Regional do Cariri - URCA



Prof. Dr.ª. Sirleis Rodrigues Lacerda

Universidade Regional do Cariri - URCA



Prof. Dr. Iri Sandro Pampolha Lima
Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ

*Dedico este trabalho com todo o carinho a minha
família pelo apoio e paciência.
Em especial ao meu grande amor, **Ana Ligia**, e ao
meu príncipe **Estêvão**, pelo amor incondicional e
pelo incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **DEUS**, pelos ensinamentos e oportunidades que me fizeram crescer e compreender que o amor é a razão da nossa existência e que nele devemos pautar as nossas atitudes e os nossos objetivos.

E principalmente aos meus pais, **Elizaldo e De Lourdes**, que apesar de não entenderem direito o que eu fazia sempre me incentivaram e confiaram em mim. E por continuarem dando todo apoio e carinho que preciso.

A Seu **Zequinha** e Dona **Socorro** pelo apoio, preocupação e carinho. Sem vocês eu não poderia ter chegado até aqui.

À minha amiga guerreira, orientadora de todas as horas, Prof^a **Marta Regina Kerntopf**, pela confiança em mim depositada, pelo carinho, dedicação e perseverança de alcançarmos juntos este sonho. Meu imenso agradecimento.

As minhas grandes amigas de jornada **Elizângela e Dayanne**, pelos momentos de alegria, de preocupação, de companheirismo, de fidelidade, e principalmente por acreditarmos juntos que a força de nossa amizade nos faria vencer esta batalha. Sem a nossa união e cooperação dificilmente eu teria conseguido alcançar este sonho. Muito obrigado por tudo.

Aos professores do Mestrado que sempre se dispuseram a me ensinar, em especial ao Prof. Dr. **Irwin Rose** pelas preciosas e decisivas orientações.

Ao prof. Dr. **Gauberto**, pelo apoio fitoquímico e fornecimento dos extratos.

Ao prof. Dr. **Henrique Douglas** pela orientação na pesquisa microbiológica.

Aos amigos do Laboratório de Farmacologia e de Química de Produtos Naturais, **Norma, Gerlânia, Renatinha, Heloísa, Paula, Laura, Rogério, Andresa, Alaiane, Márcio, Daniele, Mariana, Fabíola, Samara, Tiago, Édila, Carla, Erlânio e Stephanio** pela enorme assistência e apoio conjunto em prol da realização desta conquista.

Às Prof^{as}. **Dra. Sirleis Rodrigues Lacerda** e a Prof^a. **Dra. Imeuda Peixoto Furtado**, pelos vários momentos em que me auxiliaram na realização deste trabalho, pelo fundamental apoio junto a Coordenação deste Programa.

Ao Prof. **Dr. Iri Sandro Pampolha Lima** por suas considerações e por ter aceitado o convite de participar da Banca de Avaliação deste trabalho.

Aos **colegas do Curso de Mestrado** que dividiram comigo as alegrias e dificuldades deste percurso.

Aos **funcionários** da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte e da Faculdade de Ciências Aplicadas Dr. Leão Sampaio pelo apoio e préstimo dos animais.

Aos animais que foram sacrificados para a realização desta pesquisa.

Eu sei que me esqueci de muitas pessoas que foram importantes na minha vida profissional e pessoal durante o mestrado, porém eu não tenho culpa de ter a memória fraca. A parte de Agradecimentos esta sendo a ultima porção da dissertação a ser digitada. Aqueles que eu não citei não fiquem decepcionados e peço desculpas. E agradeço de coração a todos que me ajudaram.

Ainda que eu falasse a língua dos homens, que eu falasse a língua dos anjos, sem amor eu nada seria...

RESUMO

Croton campestris A.St.-Hill., popularmente conhecido como “velame do campo”, é uma espécie nativa de área do Cerrado do Nordeste Brasileiro utilizada por comunidades tradicionais na medicina popular para uma diversidade de afecções à saúde, dentre as quais se destacam: depurativo do sangue, inflamações e gastrite. O estudo investiga propriedades bioativas (atividade antimicrobiana e antiúlcera), etnofarmacológico e avalia a toxicidade aguda por via oral e intraperitoneal do Extrato Hidroalcoólico das folhas do *Croton campestris* A.St.-Hill. (EHFCC). Para isso, efetuou-se pesquisa etnofarmacológica através de entrevistas com informantes residentes na Chapada do Araripe (Crato e Santana do Cariri – CE); teste hipocrático e de toxicidade aguda em camundongos; determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM do EHFCC e seu efeito potencializador da atividade antimicrobiana; atividade antiúlcera contra: lesões gástricas induzidas pela administração oral e intraperitoneal de etanol absoluto, administração oral de etanol acidificado e indometacina em camundongos e estudo do envolvimento do óxido nítrico, das prostaglandinas, dos receptores noradrenérgicos α_2 , dos canais de K^+ dependentes de ATP e da associação do EHFCC com a capsaicina; e ainda a determinação do efeito do EHFCC sobre a motilidade gastrintestinal. Observou-se o uso popular da espécie para vários distúrbios à saúde, sobretudo, de suas folhas na forma de imersão em água para processos inflamatórios e distúrbios hematológicos. Quanto aos bioensaios, foi possível observar baixa toxicidade aguda na administração oral do extrato ($DL_{50\%} \geq 5000\text{mg/Kg}$), como também por via intraperitoneal ($DL_{50\%}$ de $3162,28\text{mg/Kg}$). Determinou-se uma concentração inibitória mínima maior ou igual a 1024 e um efeito modulador de potencialização da ação de fármacos antimicrobianos, através do método de microdiluição. O EHFCC demonstrou significativa ação gastroprotetora em todos os modelos de úlcera gástrica avaliados, sendo que os resultados sugerem que essa ação provavelmente envolve a participação da via do óxido nítrico. O EHFCC não demonstrou alteração da motilidade intestinal em camundongos. Constatou-se ainda que a espécie *Croton campestris* A.St.-Hill., representa uma promissora fonte natural com importante potencial biológico justificando alguns de seus usos na medicina popular.

Descritores: *Croton campestris* A.St.-Hil.; Bioprospecção farmacológica; Lesões gástricas; Gastroproteção.

ABSTRACT

Croton campestris A.St.-Hill., Popularly known as the “Velame do Campo”, is a native species of the Cerrado area of Northeast Brazil used by traditional communities in folk medicine for a variety of health conditions, among which are: blood cleanser, inflammation and gastritis. The study investigates bioactive properties (antimicrobial and antiulcer), ethnopharmacology and assesses the acute toxicity by oral and intraperitoneal hydroalcoholic extract from leaves of *Croton campestris* A.St.-Hill. (EHFCC). To do so, made up research ethnopharmacological through interviews with residents Araripe Plateau (Crato and Santana Cariri - CE); Hippocratic test and acute toxicity in mice; Minimum Inhibitory Concentration - MIC of EHFCC and its potential effect on antimicrobial activity, antiulcer activity against: gastric lesions induced by intraperitoneal and oral administration of absolute ethanol, Oral administration of acidified ethanol and indomethacin in mice and study the involvement of nitric oxide, prostaglandin, receptors noradrenergic α_2 , of K^+ channels ATP-dependent and a combination of EHFCC with capsaicin, and even determining the effect of EHFCC on gastrointestinal motility. We observed the use of popular species for various health disorders, especially their leaves in the form of immersion in water for inflammatory and hematological disorders. As for the bioassays, we observed low toxicity in acute oral administration of extract ($LD_{50\%} \geq 5000$ mg/kg), as well as intraperitoneally ($LD_{50\%}$ to 3162.28 mg/kg). It was determined a minimum inhibitory concentration greater than or equal to 1024 and a modulating effect of potentiating the action of antimicrobial drugs by the microdilution method. The EHFCC showed significant gastroprotective action on all models of gastric ulcer evaluated and the results suggest that this action probably involves the participation of nitric oxide. The EHFCC did not change intestinal motility in mice. It was further observed that the species *Croton campestris* A.St.-Hill. Represents a promising natural source with significant potential biological justifying some of their uses in folk medicine.

Key words: *Croton campestris* A.St.-Hil.; Bioprospecting pharmacology; Gastric lesions; gastroprotection.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		PÁGINA
Figura 1	Espécie adulta de <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill.....	26
Figura 2	Estruturas morfológicas do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill.....	27
Figura 3	Representação esquemática dos mecanismos fisiológicos da secreção ácida gástrica.....	31
Figura 4	Fluxograma de obtenção do Extrato hidroalcoólico de <i>Croton campestris</i> (EHFCC).....	47
Figura 5	Mapa da Biorregião do Araripe (Área de abrangência da pesquisa etnofarmacológica).....	51
Figura 6	Partes da planta utilizadas do <i>Croton campestris</i> A. St.-Hill. (Velame do campo).....	65
Figura 7	Modo de preparo para uso medicinal do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill. (Velame do campo).....	66
Figura 8	Métodos de aplicação medicinal do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill. (Velame do campo).....	66
Figura 9	Restrições ao uso medicinal do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill. (Velame do campo).....	68
Figura 10	Efeito da administração oral do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	70
Figura 11	Efeito da administração intraperitoneal do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	71
Figura 12	Efeito do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	73
Figura 13	Efeito do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por DAINE (indometacina) em camundongos.....	74

Figura 14	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	75
Figura 15	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	76
Figura 16	Papel dos receptores noradrenérgicos alfa ₂ no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	77
Figura 17	Papel dos Canais de K ⁺ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	78
Figura 18	Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC em associação à capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	79
Figura 19	Efeito do EHFCC sobre a motilidade intestinal em camundongos.....	80
Figura 20	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto.....	122
Figura 21	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado.....	123
Figura 22	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina).....	124
Figura 23	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento do óxido nítrico.....	125
Figura 24	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento das prostaglandinas.....	126

Figura 25	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento dos receptores noradrenérgicos α_2	127
Figura 26	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento dos canais de K^+ dependentes de ATP.....	128
Figura 27	Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores na associação do EHFCC com a capsaicina.....	129

LISTA DE TABELAS

TABELAS		PÁGINA
Tabela 1	Origem Bacteriana e Perfil de Resistência a antibióticos.....	59
Tabela 2	Prospecção Fitoquímica do extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas de <i>Croton campestris</i> A. St.-Hill.....	62
Tabela 3	Perfil dos informantes da espécie <i>Croton campestris</i> A. St.-Hill (Velame) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.....	63
Tabela 4	Comparação do Nível de Fidelidade (FL) sobre as indicações medicinais do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill (Velame) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.....	64
Tabela 5	Indicação medicinal <i>versus</i> duração do tratamento e frequência da dose da espécie <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill. (Velame do campo).....	67
Tabela 6	Valores de CIM ($\mu\text{g/ml}$) de aminoglicosídeos na presença e ausência de 128 $\mu\text{g/mL}$ de EHFCC contra linhagens de <i>Escherichia coli</i> 27 e <i>Staphylococcus aureus</i> 358.....	69
Tabela 7	Efeito do EHFCC (via oral) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	117
Tabela 8	Efeito do EHFCC (via intraperitoneal) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	117
Tabela 9	Efeito do EHFCC no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	118
Tabela 10	Efeito do EHFCC no modelo de lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina) em camundongos.....	118
Tabela 11	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	119

Tabela 12	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	119
Tabela 13	Papel dos receptores noradrenérgicos alfa ₂ no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	120
Tabela 14	Papel dos Canais de K ⁺ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	120
Tabela 15	Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC em associação à capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	121
Tabela 16	Efeito do EHFCC sobre a motilidade intestinal em camundongos.....	121

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

±	Mais ou menos
<	Menor
>	Maior
°C	Grau Centígrado
%	Porcentagem
α	Alfa
β	Beta
<i>et al.</i>	e outros
μm	Micrômetro
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato Adenosina
CE	Ceará
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
cm	Centímetro
col	Colaboradores
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase do Tipo 1
COX-2	Ciclooxigenase do Tipo 2
DAINE	Droga Antiinflamatória Não-Esteroidal
DL ₅₀	Dose Letal Média
EHFCC	Extrato Hidroalcoólico das folhas do <i>Croton campestris</i> A.St.-Hil.
E.P.M.	Erro Padrão da Média
Etanol _{abs}	Etanol absoluto
FMJ	Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte
FL	<i>Fidelity Level</i> – Nível de Fidelidade
GSH	Glutationa reduzida
g	Gramma
h	Hora

H ⁺	Íon Hidrogênio
H ₂	Receptor de Histamina tipo 2
HCl	Ácido Clorídrico
H ⁺ /K ⁺ ATPase	Bomba de Prótons
i.p.	Intraperitoneal
K ⁺	Íon Potássio
KATP	Canais de Potássio Dependentes de ATP
Kg	Quilograma
LFQM	Laboratório de Farmacologia e Química Molecular
L-NAME	NG-nitro-L-arginina-metilester
LPPN	Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais
M ₃	Receptor Muscarínico tipo 3
mL	Mililitro
N	Número
NO	Óxido Nítrico
NO _e	Óxido Nítrico Endotelial
NO _i	Óxido Nítrico Induzível
NOS	Óxido Nítrico Sintetase
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial de hidrogênio
PGE ₂	Prostaglandina Tipo 2
PGI ₂	Prostaciclina Tipo 2
RFC	<i>Relative Frequency of Citation</i> - Frequência Relativa de Citação
URCA	Universidade Regional do Cariri
v.o.	Via oral
vs	Versus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1. Apresentação.....	19
.....	
1.2. Plantas Medicinais.....	20
1.3. Gênero <i>Croton</i>.....	23
1.4. <i>Croton campestris</i> A.St.-Hill. (Euphorbiaceae).....	25
1.5. Anatomia e Fisiologia do Trato Gastrointestinal.....	28
1.5.1. Fisiologia da secreção gástrica.....	30
1.5.1.1. Fatores agressores da mucosa gástrica.....	31
1.5.1.2. Mecanismos e fatores de proteção da mucosa gástrica.....	32
a) Muco.....	33
b) Bicarbonato.....	34
c) Prostaglandinas.....	34
d) Defesas antioxidantes.....	36
e) Fluxo sanguíneo.....	36
f) Mecanismos intracelulares.....	37
1.5.1.3. Óxido Nítrico (NO).....	38
1.6. Doença Ulcerosa Péptica.....	39
1.7. As plantas medicinais e a atividade antiulcerogênica.....	43
2. OBJETIVOS.....	45
2.1. Objetivos gerais.....	45
2.2. Objetivos específicos.....	45
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1. Materiais.....	46
3.1.1. Material Botânico (origem e obtenção do extrato vegetal).....	46
3.1.2. Drogas e reagentes.....	48
3.1.3. Material permanente e equipamentos utilizados.....	48
3.1.4. Prospecção fitoquímica.....	49
3.1.5. Animais.....	50
3.2. Métodos.....	51
3.2.1. Tipologia do estudo.....	51
3.2.1.1. Pesquisa Etnofarmacológica.....	51
3.2.2. Ensaio pré-clínico farmacológico <i>in vivo</i>	52
3.2.2.1. Investigação da Toxicidade Aguda do EHFCC.....	52
a) Preparo dos animais.....	52
b) Procedimento experimental.....	53
3.2.2.2. Investigação da atividade gastroprotetora.....	53
a) Lesão gástrica induzida pela administração oral de etanol absoluto.....	53
b) Lesão gástrica aguda induzida por etanol acidificado.....	54

a)	Lesão gástrica aguda induzida por indometacina.....	54
b)	Estudo dos possíveis mecanismos envolvidos na atividade gastroprotetora do EHFCC.....	55
•	Avaliação do envolvimento do óxido nítrico.....	55
•	Envolvimento dos Canais de K ⁺ dependentes de ATP.....	56
•	Estudo do envolvimento das Prostaglandinas.....	56
•	Envolvimento dos Receptores noradrenérgicos alfa ₂	57
•	Efeito do EHFCC em associação com capsaicina.....	57
3.2.2.3.	Determinação da motilidade intestinal.....	58
3.2.2.4.	Investigação da atividade antibacteriana.....	58
a)	Linhagens bacterianas.....	58
b)	Teste de suscetibilidade às drogas.....	59
3.2.3.	Expressão dos dados e análise estatística.....	59
3.3.	Aspectos éticos do estudo	60
3.4.	Instituições parceiras e financiamento	60
3.5.	Normatização do texto	61
4.	RESULTADOS	62
4.1.	Prospecção Fitoquímica	62
4.2.	Dados da Pesquisa Etnofarmacológica	62
•	Informantes.....	62
•	Dados etnofarmacológicos da espécie <i>C. campestris</i> A. St.-Hill.....	63
4.3.	Toxicidade Aguda do EHFCC	68
4.4.	Atividade Microbiológica do EHFCC	69
4.5.	Dados sobre o efeito antiulcerogênico e mecanismos de ação gastroprotetora do EHFCC	69
4.5.1.	Efeito da administração oral do EHFCC em lesões gástricas induzidas pela administração de etanol absoluto em camundongos.....	69
4.5.2.	Efeito da administração intraperitoneal do EHFCC em lesões gástricas induzidas pela administração de etanol absoluto em camundongos.....	71
4.5.3.	Efeito do EHFCC em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	72
4.5.4.	Efeito do EHFCC em lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina) em camundongos.....	73
4.5.5.	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	74

4.5.6.Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	75
4.5.7.Papel dos receptores noradrenérgicos alfa ₂ no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	76
4.5.8.Papel dos canais K ⁺ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	77
4.5.9.Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC associado à capsaicina em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	78
4.6.Dados relativos à atividade do EHFCC sobre a motilidade intestinal de camundongos.....	80
5. DISCUSSÃO.....	81
6. CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS.....	95
ANEXOS.....	116
APÊNDICES.....	130

1 INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

As plantas e extratos vegetais foram e continuam sendo uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos e, devido a sua grande diversidade em termos de estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas, podem ser modelo para a síntese de inúmeros fármacos (NODARI; GUERRA, 2000).

A redução da biodiversidade seja pelos desmatamentos para exploração da madeira, expansão de áreas cultivadas ou como consequência do aquecimento global, despertou maior interesse pelas espécies que ora existem, mas que poderão estar extintas dentro de pouco tempo, trouxe a discussão sobre as perdas que estas práticas acarretam e a necessidade de procedimentos que tenham como meta o desenvolvimento sustentável. A indústria de medicamentos percebeu nos produtos naturais uma grande oportunidade de desenvolvimento em vários segmentos da cadeia produtiva, seja na industrialização dos fitoterápicos, na distribuição de matérias-primas e na produção de plantas medicinais (FONTE, 2004).

Atualmente, estima-se que 50% do total dos fármacos mundialmente utilizados na clínica são derivados de produtos naturais (GURIB-FAKIM, 2006).

Apesar de possuímos a maior diversidade do mundo, até 2007 foi desenvolvido apenas um medicamento fitoterápico genuinamente nacional, o Achéflan foi o primeiro antiinflamatório feito com base no extrato de uma planta nativa brasileira em forma de creme. A erva-baleeira (*Cordia verbenacea*) usada por pescadores no litoral das regiões Sul e Sudeste é a matéria-prima do medicamento. Isto, talvez seja uma consequência da característica do mercado farmacêutico brasileiro que é composto por empresas multinacionais (70%) que vendem predominantemente (90%) produtos de marca, originados a partir de pesquisas desenvolvidas em seus países de origem (MAYER, 2007).

Apesar do percentual de crescimento do mercado de fitoterápicos ser bastante significativo, apenas 8% da flora mundial apresenta estudos científicos que comprovam sua utilização, sendo a maioria das indicações ainda baseadas na tradição popular e na observação de efeitos com o relato de alguns casos (NODARI; GUERRA, 2000). Assim, o aumento da pesquisa com produtos da biodiversidade brasileira pode levar ao desenvolvimento de novos produtos de qualidade (com eficácia e segurança).

A pesquisa envolvendo plantas medicinais é complexa e apresenta um caráter multidisciplinar, principalmente quando o objetivo da pesquisa é encontrar substâncias ativas úteis para a terapêutica. Nessas pesquisas, a experiência indica que a seleção da espécie a ser estudada deve levar em consideração a indicação popular de uso medicinal e o trabalho conjunto de uma equipe que tenha um esforço comum na identificação da espécie, no isolamento e determinação das substâncias ativas e na escolha e execução dos ensaios farmacológicos (SOUZA BRITO, 1996).

Para a escolha da planta *Croton campestris* A.St.-Hill. (velame do campo) foi utilizada uma abordagem etnofarmacológica que, segundo Schultes (1995), é uma subdivisão da etnobotânica. Ela preocupa-se basicamente em estudar o conhecimento popular relativo às propriedades químicas e medicinais das plantas. A comparação de resultados obtidos com coleta de plantas, ao acaso ou quimiotaxonomicamente orientadas com aqueles obtidos com base no uso em medicina popular, tem gerado dados que demonstram que o conhecimento tradicional é indicativo de espécies que acumulam compostos bioativos (FRANÇA, 1999).

Este trabalho foi desenvolvido de acordo com uma filosofia de multidisciplinaridade. Nesta abordagem, o grupo de pesquisadores foi composto por profissionais com amplos conhecimentos e experiência em etnobotânica, fitoquímica, farmacologia e microbiologia. Segundo Souza Brito (1997) é necessária a conjunção de todos estes profissionais, num esforço interativo, para a busca de novas substâncias bioativas com potencial terapêutico.

Por sua importância científica, social e econômica, no Programa de Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, o grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia e Química Molecular tem procurado demonstrar a eficácia e segurança de produtos utilizados pela população no tratamento dos transtornos gástricos.

1.2 Plantas Medicinais

O emprego de plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local, provavelmente utilizada pelo homem primitivo até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial utilizada pelo homem moderno (LORENZI; MATOS, 2002).

As plantas medicinais foram descobertas pelo homem através da procura por alimentos, e desde então, foram aplicadas empiricamente para o tratamento de patologias (WAGNER; WISENAUER, 2006).

Essas informações sobre os usos de plantas medicinais e suas virtudes terapêuticas foram sendo acumuladas durante séculos, e muito desse conhecimento empírico se encontra disponível. De domínio público, o conhecimento sobre as plantas medicinais representou e ainda representa o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (DI STASI, 1996).

Durante a última parte do século XX a prática da fitoterapia tornou-se difundida por todo o mundo. Isto é suficiente, em parte, para o reconhecimento do valor dos sistemas de medicina tradicional e a identificação de plantas medicinais; que têm mostrado um significativo poder de cura no seu estado natural ou como fonte de novos agentes farmacológicos (ELVIN; LEWIS, 2001).

Fitoterápico é o medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validadas através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase III. Os fitoterápicos, assim como todos os medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população (TWARDOWSCHY, 2007).

Em torno de 65-80% da população de países em desenvolvimento, devido à pobreza ou ao difícil acesso a medicina moderna, dependem essencialmente de plantas para os primeiros cuidados da saúde. Entretanto, poucas plantas (menos de 10%) têm estudos científicos para a validação de sua qualidade, segurança e eficácia (CALIXTO, 2005).

Os estudos fitoquímicos compreendem as etapas de isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, principalmente de substâncias originárias do metabolismo secundário, responsáveis, ou não, pela ação biológica. Esses conhecimentos permitem identificar a espécie vegetal, conjuntamente com ensaios de atividade biológica, analisar e caracterizar frações ou substâncias bioativas (TOLEDO, 2003).

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

Há uma controvérsia, oriunda principalmente da imprecisão de dados e da falta de pesquisas, sobre o número de espécies vegetais fanerogâmicas existentes no Brasil. Dos

diversos biomas brasileiros (Floresta Amazônica, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal, Caatinga, Manguezal etc.), estima-se que existam de 40 mil (FARNSWORTH, SOEJARTO, 1991) a 55 mil espécies (DAVIS, 1986). Segundo Plotrunk (1991), o Brasil é o país com maior número de espécies no mundo.

A rica flora brasileira representa mais de 20% das espécies de plantas medicinais conhecidas no mundo, e pouco tem sido feito para estudar este potencial como fonte de novas moléculas ou de matérias-primas para preparados farmacêuticos. Cerca de 70% dos recursos fitofarmacêuticos não foram suficientemente estudados, a fim de se obter a confirmação necessária sobre eficácia e segurança (PETROVICK, 1999).

Apesar de o Brasil possuir a mais rica biodiversidade do mundo e da existência no país de um grande número de grupos de pesquisa, que tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas, da quimiotaxonomia, da farmacologia de produtos naturais e de outras áreas relacionadas, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (YUNES *et al.*, 2001). Os principais fatores que justificam isso é a falta de investimentos em muitos dos segmentos da cadeia produtiva de plantas medicinais que levam a pesquisa para o desenvolvimento de novos fármacos. Além dos grandes financiamentos para a utilização de alta tecnologia, faltam também às parcerias entre universidades, centros de pesquisa e as indústrias (CALIXTO, 2001; CORRÊA JÚNIOR, SCHEFFER, 2004).

No Brasil, especialmente na Região Nordeste, o uso de plantas medicinais e preparações caseiras assumem importância fundamental no tratamento das patologias que afetam as populações de baixa renda, tendo em vista a deficiência da assistência médica, a influência da transmissão oral dos hábitos culturais e a disponibilidade da flora (MATOS, 1989).

Segundo dados da Fundação de Desenvolvimento Tecnológico (FUNDETEC) – Plano de Gestão da Área de Proteção Ambiental do Araripe - APA (1998) a região do Cariri, está localizada ao Sul do Estado do Ceará, tem sua geografia marcada pela Chapada do Araripe, com uma área de proteção ambiental e uma floresta nacional. Conta com mais de oitenta municípios na chamada Mesorregião do Araripe, compreendendo, além do Estado do Ceará, os Estados do Piauí, Pernambuco e Paraíba, sendo as cidades de Crato, Juazeiro do Norte e Barbalha o seu centro de desenvolvimento político e econômico. A Chapada do Araripe abriga um espaço com um bioma de características geológicas, geomorfológicas, pedológicas, climáticas, hidrográfico-hidrológicas e de vegetação bem diversificado. Existe

uma relação entre a Chapada do Araripe e outros ecossistemas brasileiros que repercute nas modificações climáticas, nas expansões e contrações de formações florestais, nas modificações da composição da fauna e flora, o que tem sido objeto de debates sobre biodiversidade nos últimos trinta anos. As formações florestais da Chapada do Araripe podem, de maneira simplificada, ser estratificadas em mata úmida, cerradão, cerrado, carrasco e caatinga. Além do potencial madeireiro, também há a produção de frutos e produtos obtidos de espécies consideradas não madeireiras, tais como: araçá (*Psidium araçá* Raddi), cajuí (*Anacardium humile*), pitanga (*Eugenia michelli*), pequi (*Caryocar coriaceum*), janaguba (*Himatanthus drasticu*), faveira (*Dimorphandra gardneriana*), jatobá (*Hymenaea stignocarpa*), velame (*Croton campestris*) e pau de óleo ou copaíba (*Copaifera langsdorffii*), que apresentam valor medicinal, econômico e cultural para a região.

As plantas foram fiéis servidoras do homem desde os primórdios dos tempos. É difícil imaginar a farmácia ou a medicina sem os glicosídeos do gênero *Digitalis* (Dedaleira), os alcalóides do ópio, os antibióticos de tetraciclina ou, a propósito, as antraquinonas da *Cassia angustifolia* (Sena). Portanto, sem as plantas, nem estes, nem muitos outros medicamentos tão utilizados jamais teriam existido (ROBBERS *et al.*, 1997).

Em recentes publicações têm sido evidenciada a ação gastroprotetora de diversas plantas medicinais e de substâncias isoladas a partir delas (BRZOZOWSKI *et al.*, 2005; NAVARRETE *et al.*, 2005; NARAYAN *et al.*, 2005; ANDREO *et al.*, 2006; DA ROCHA LAPA *et al.*, 2007). Os compostos obtidos a partir de plantas medicinais com atividade antiulcerogênica apresentam estruturas químicas diversas e distintos mecanismos de ação. Neste contexto, as plantas medicinais e os compostos isolados a partir delas (como os terpenos, xantonas, flavonóides e alcalóides), apresentam importância como agentes terapêuticos, visto sua ampla utilização na medicina popular, no tratamento de distúrbios gástricos tais como úlceras e gastrites (SCHMEDA-HIRSCHMANN, YESILADA, 2005).

1.3 Gênero *Croton*

A família Euphorbiaceae possui cerca de 300 gêneros e 8000 espécies dispersas em toda a superfície terrestre. Sendo mais amplamente distribuída em regiões tropicais e temperada caracterizando particularmente, portanto, grande parte da flora brasileira. Os gêneros com maior número de espécies são o *Euphorbia* (avelós) e o *Croton* (FARNSWORTH, 1969; WEBSTER, 1967; WILSON, 1976). Os espécimes componentes vão desde ervas a trepadeiras e árvores de grande porte, sendo geralmente produtores de

látex. Podemos citar representantes conhecidos na flora brasileira, como a seringueira – *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. nativa da região Amazônica no Norte do Brasil, a maniçoba – *Manihot glaziovii* Muell. Arg. da região Nordeste, a mandioca *Manihot esculenta* Crantz. e a mamona – *Ricinus comunis* L. (SILVEIRA, 1979).

Esta família é classificada em 4 subfamílias: Crotonoideae, Phyllanthoideae, Porantheroideae e Ricinocarpoideae, e a subfamília Crotonoideae dividida em duas tribos: Crotoneae e Euphorbiaceae (PAX, HOFFMAN, 1931).

O gênero *Croton*, cujo nome significa “carrapato”, é o segundo maior da família Euphorbiaceae e pertence à subfamília Crotonoidae e tribo Crotoneae (BRAGA, 1976). É subdividido em 40 seções e possui mais de 1.300 espécies de distribuição principalmente pantropical, das quais 350 espécies distribuídas em 29 seções ocorrem no Brasil (BERRY, 2006). Destas, um total de 52 espécies distribuídas em 18 seções são referidas para a região Nordeste (CORDEIRO, CARNEIRO-TORRES, 2006).

O gênero recebeu atenção de diversos estudiosos (BAILLON, 1858; MUELLER, 1865, 1866, 1873; BENTHAM, 1880), destacando-se Webster (1993), que propôs a classificação infragenérica mais recente para o gênero. Desde o tratamento de Mueller (1873), não existe uma revisão de *Croton* para o Brasil, o que dificulta o reconhecimento de suas espécies. Embora constitua o principal ponto de partida para estudos sobre o gênero, a Flora Brasiliensis (MUELLER, 1873) se encontra desatualizada devido às recentes sinonimizadas, publicações de novos táxons e mudanças na sua classificação infragenérica. Recentemente, Gomes (2006) revisou a seção *Argyroglossum* Baill. para a América do Sul, citando nove espécies para o Brasil, e Lima (2008) estudou a seção *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax, registrando 21 espécies brasileiras. Estudos tratando de *Croton* no Nordeste ainda estão dispersos na literatura, ficando restritos a trabalhos florísticos e/ou fitossociológicos (CORDEIRO, 1995; LUCENA, 2001; CARNEIRO-TORRES *et al.*, 2002).

Croton é um grupo funcionalmente importante dentro do ecossistema terrestre. Várias de suas espécies são pioneiras, colonizando locais perturbados, tais como beira de estradas, margem de rios e clareiras de matas. Essa característica se deve principalmente a produção massiva de flores e frutos durante a maior parte do ano, o que torna suas espécies indicadas para a restauração de áreas degradadas (LIMA, PIRANI, 2008). Além disso, *Croton* possui forte potencial econômico, especialmente para a indústria farmacêutica, devido aos diversos metabólitos secundários, como alcalóides, flavonóides e terpenóides (RIZSCK, 1987; PAYO *et al.*, 2001), que conferem propriedades terapêuticas a muitas espécies.

Várias espécies de *Croton* há muito tempo desempenham papel importante nos usos tradicionais de plantas medicinais na África, Ásia e América do Sul. Tais usos incluem tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos, diabetes, feridas externas, febre, hipercolesterolemia, hipertensão, inflamação, vermes intestinais, malária, dor, úlceras e obesidade (SALATINO *et al.*, 2007).

Espécies do gênero *Croton* atraem o interesse para seu estudo devido à diversidade do uso popular, atividades biológicas e como fonte promissora de novos e interessantes compostos naturais bioativos (DOURADO, 2003). É encontrado principalmente como árvore de pequeno porte e arbusto, apresentando cerca de 1000 espécies, das quais algumas são conhecidas como fonte de diterpenos do tipo clerodano furânico (CRAVEIRO *et al.*, 1981). Também são relatados diterpenos do tipo cleistantano (CRAVEIRO *et al.*, 1982). Caurano (GONZALEZ *et al.*, 1981) e labdano (ROENGSUMRAM *et al.*, 1999).

Muitas espécies de *Croton* têm um látex vermelho que contém, em algumas espécies, pró-antocianidinas e/ou alcalóides. Os alcalóides de *Croton* são a taspina ou substâncias relacionadas à benzilisoquinolinas. Algumas espécies são aromáticas devido à presença de óleos voláteis. Representantes de novas classes de substâncias (fenilbutanóides, alcalóides glutarimidínicos e diterpenos sarcopetalanos) têm sido isoladas de espécies de *Croton* (SALATINO *et al.*, 2007).

Estudos, envolvendo diversas espécies do gênero *Croton*, têm mostrado diferentes atividades farmacológicas tais como: atividade antiinflamatória e antioxidante de *C. celtidifolius* (NARDI *et al.*, 2003); antileishmanicida de *C. cajucara* (SOCORRO *et al.*, 2003); antinociceptiva de *C. cajucara* (CAMPOS *et al.*, 2002); antiulcerogênica e citotóxica de *C. cajucara* (ALMEIDA *et al.*, 2003); hipoglicêmica e hipolipidêmica de *C. cajucara* (SILVA *et al.*, 2001); antimicrobacteriana e antimalárica de *C. kongensis* (THONGTAN *et al.*, 2003); antinociceptiva e antiinflamatória de *C. malambo* (SUAREZ *et al.*, 2003); antimicrobiana de *C. sonderianus* (MCCHESENEY *et al.*, 1991); purgativa de *C. campestris* (BABILI *et al.*, 1998); hipotensora e narcótica de *C. eluteria* (VIGOR *et al.*, 2001).

1.4 *Croton campestris* A.St.-Hill. (Euphorbiaceae)

Dentre as espécies da FLONA (Floresta Nacional do Araripe), destaca-se o Velame (*Croton campestris* A.St.-Hil). A espécie *Croton campestris* (Figura 1), é um arbusto de 1-2 metros de altura originário do Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste (SANTOS, 2005). Conhecida popularmente como velame do Campo, velame

verdadeiro ou curraleira. Sobre o seu aspecto etnobotânico, suas folhas e raízes, sob a forma de chá, são utilizadas na medicina popular em doenças inflamatórias e parasitárias (RIBEIRO PRATA *et al.*, 1993). Possui ainda largo emprego popular, como depurativo, usado no combate a escrofulose, doenças venéreas, impigens, tumores, moléstias de pele, reumatismo, úlcera do útero, diarréia e artrismo (SANTOS, 2005; CRUZ, 1982).



Figura 1. Espécie adulta de *Croton campestris* A.St.-Hill.

Fonte: arquivo pessoal do próprio pesquisador.

Trata-se de uma espécie amplamente distribuída na região neotropical (CARNEIRO-TORRES, 2009). No Brasil, sua presença é verificada em praticamente toda Região Nordeste, estendendo-se até o estado de Minas Gerais (LUCENA, 2001). É encontrada, frequentemente, em vegetação de caatinga, embora também ocorra em brejos de altitude (florestas montanas), restingas e cerrados. Na área de estudo, destaca-se por estar amplamente distribuída, formando grandes populações em vegetação de caatinga, sobre solo arenoso ou areno-argiloso, onde foi encontrada com flores em maio, junho, julho e novembro e com frutos em maio e junho (SILVA *et al.*, 2009).

Ao longo de sua área de distribuição, *C. campestris* (Figura 02) apresenta grande variação morfológica quanto ao tamanho e forma das folhas, cor do indumento e comprimento das inflorescências, o que dificulta sua identificação. No entanto, pode ser diferenciada das demais espécies, principalmente, pela columela do fruto tripartida no ápice após a deiscência do fruto. Caracteriza-se, ainda, pelos tricomas estrelado-porrectos adensados nas estruturas vegetativas e reprodutivas. Além disso, geralmente não apresenta

glândulas no pecíolo ou elas são inconspícuas e globosas, muitas vezes encobertas pelos tricomas (SILVA *et al.*, 2009).

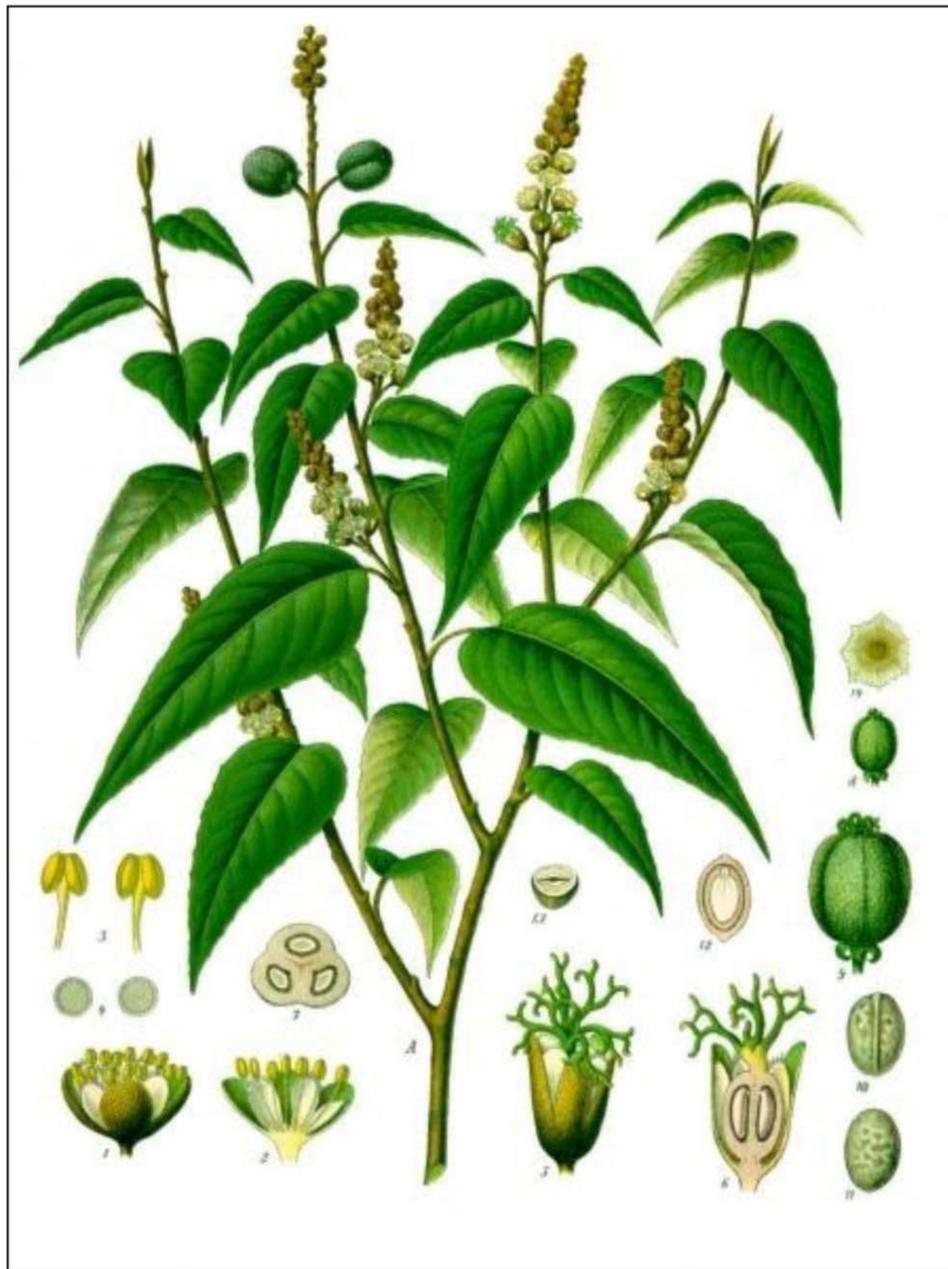


Figura 2. Estruturas morfológicas do *Croton campestris* A. St.-Hill.

Fonte: SILVA *et al.*, 2009

Nos últimos anos alguns estudos têm revelado o potencial fitoquímico e farmacológico do *Croton Campestris* A. St.- Hill. Do extrato butanólico das folhas foram isolados quatro flavonóides, todos *O*-glicosídeos da quercetina. Estas substâncias foram identificadas como 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1 \rightarrow 2)-galactopiranosil quercetina; 3-*O*- β -D-galactopiranosil quercetina (hisperina); 3-*O*- α -L-arabinopiranosil quercetina (guaijaverina) e 3-*O*- α -L-ramnopiranosil quercetina (quercitrina), cuja elucidação estrutural deu-se por espectroscopia em UV e RMN (SANTOS, 2005). Das raízes foram isolados anteriormente três diterpenos: velamolona, velamona e acetato de velamolona (SANTOS, 2005; BABILI *et al.*, 1998). O gênero *Croton* é uma fonte rica em diterpenos, principalmente os do tipo clerodano (SANTOS, 2005; PUEBLA *et al.*, 2002).

No “*screening*” fitoquímico realizado com o extrato etanólico bruto das folhas (EBF) de *Croton campestris* foi evidenciada a presença de alcalóides (RIBEIRO PRATA *et al.*, 1993). O extrato bruto das folhas apresentou efeito sobre algumas preparações

farmacológicas tais como: relaxamento de preparações isoladas da musculatura lisa intestinal, uterina e da árvore brônquica de cobaios. E na triagem farmacológica comportamental observou-se que a administração de EBF, tanto por via oral como intraperitoneal, determinou efeitos tais como: discreto estado depressivo, aumento da frequência respiratória, alteração da postura e dificuldade de locomoção. Neste mesmo estudo o EBF foi submetido a uma sequência de marchas químicas específicas para alcalóides e uma partição cromatográfica onde foram isolados três compostos identificados através de métodos espectroscópicos como: tetracosanoato de butila, taspina e 1,2,10-tri-hidroxi-N-óxido-crotosinolina. A substância 1,2,10-tri-hidroxi-N-óxido-crotosinolina, produziu relaxamento da preparação de traquéia isolada de cobaio, acredita-se que este composto seja o responsável pela atividade relaxante da musculatura lisa (RIBEIRO PRATA *et al.*, 1993).

Também foi comprovada a atividade biológica do extrato diclorometanólico da cascas das raízes, ricas em diterpenos (velamona, velamolona e acetato de velamolona). Este extrato apresentou atividade moluscicida sobre o *Bulinus truncatus* (caramujo aquático) vetor da esquistossomose (BABILI *et al.*, 2006).

1.5 Anatomia e Fisiologia do Trato Gastrointestinal

O sistema digestivo é formado pelo tubo digestivo e suas glândulas anexas, e tem como função retirar dos alimentos ingeridos os metabólitos necessários para o desenvolvimento e a manutenção do organismo. É um tubo musculomembranoso com cerca de 9m de comprimento, que se estende da boca ao ânus e é revestido por mucosa em toda a sua extensão (GRAY; GOSS, 1988).

O trato gastrointestinal pode ser dividido em quatro partes: porção superior, consistindo em boca, esôfago e estômago; porção média, consistindo no intestino delgado; porção inferior, consistindo no ceco, cólon e reto. Por toda a sua extensão exceto a boca, faringe e porção superior do esôfago, o tubo digestivo compõe-se de cinco camadas: uma camada mucosa interna, uma camada submucosa, uma camada de fibras musculares lisas circulares, uma camada de fibras musculares lisas longitudinais e uma camada serosa externa que forma o peritônio e é contínua ao mesentério (PORTH; KUNERT, 2004).

O trato digestivo oferece ao organismo um suprimento contínuo de água, eletrólitos e substâncias nutrientes. Isso exige movimentação do alimento ao longo do tubo digestivo; secreção de sucos digestivos e digestão do alimento; absorção dos produtos da digestão, de

água e dos vários eletrólitos; e controle de todas essas funções pelo sistema nervoso e hormonal (GUYTON; HALL, 1998).

A função gastrointestinal é controlada pelo sistema nervoso entérico, situado completamente dentro da parede do trato gastrointestinal, bem como pela divisão parassimpática e simpática do sistema nervoso autônomo (PORTH; KUNERT, 2004). O número de neurônios nesse sistema entérico é de cerca de cem milhões, que agem no controle da secreção e dos movimentos gastrintestinais. Encontramos uma dúzia ou mais de substâncias neurotransmissoras liberadas pelas terminações nervosas de diferentes tipos de neurônios entéricos. Dentre estas, podemos citar: a acetilcolina, a norepinefrina, o trifosfato de adenosina, a serotonina, a dopamina, a colecistocinina, a substância P, o polipeptídeo intestinal vasoativo, a somatostatina, a leu-encefalina, a met-encefalina e a bombesina. Sendo que a acetilcolina, na maioria das vezes, excita a atividade gastrointestinal. A norepinefrina, por outro lado, quase sempre inibe a atividade gastrointestinal. E os outros transmissores mencionados são uma mistura de agentes excitatórios e inibitórios, mas sua importância e mecanismos de ação ainda precisam ser determinados (GUYTON; HALL, 1998).

O estômago é um órgão sacular com volume entre 1200 a 1500 ml, sua localização se estende desde o hipocôndrio esquerdo através do epigástrico. Sua parede é constituída por mucosa, submucosa, muscular e serosa. A superfície interna possui pregueamentos irregulares. Está dividido em cinco regiões: a cárdia, o fundo, o corpo, o antro e o esfíncter pilórico. É órgão irrigado pelos ramos das artérias celíaca, hepática e esplênica (RUBIN, PALAZZO, 2006).

A estrutura histofisiológica do estômago é composta pelas células secretoras de muco que revestem toda a superfície interna do estômago e por outros dois tipos importantes de glândulas tubulares: as **Glândulas oxínticas**: que secretam ácido clorídrico, pepsinogênio, fator intrínseco e muco, que ficam localizadas nas superfícies internas do corpo do estômago; e as **Glândulas pilóricas**: que secretam principalmente muco, pepsinogênio e o hormônio gastrina, que estão na porção antral do estômago (GUYTON; HALL, 1998). Os principais tipos celulares das glândulas oxínticas são: **Células mucosas**: secretam muco e pepsinogênio I e II; **Células parietais**: exibem numerosas invaginações, canalículos secretórios, que ampliam a área para secreção gástrica; **Células endócrinas**: contêm aminas biogênicas – a serotonina e os hormônios polipeptídicos, gastrina e somatostatina (LIU, CRAWFORD, 2005; RUBIN, PALAZZO, 2006).

1.5.1 Fisiologia da Secreção Gástrica

A secreção gástrica é um processo contínuo e complexo, em que múltiplos fatores centrais e periféricos contribuem para uma meta comum: a secreção de H^+ pelas células parietais. Os fatores neuronais (acetilcolina), parácrinos (histamina) e endócrinos (gastrina) regulam a secreção de ácido. Seus receptores específicos (M_3 , H_2 e CCK_2 , respectivamente) localizam-se na membrana basolateral das células parietais no corpo e fundo gástricos. Nessas células a adenosina monofosfato cíclica (AMP_c) e as vias dependentes de Ca^{2+} ativam a H^+ , K^+ -ATPase (a bomba de prótons), que efetua a troca de íons hidrogênio e potássio através da membrana celular parietal (Figura 3). Essa bomba gera o maior gradiente iônico conhecido nos vertebrados, com um pH intracelular de cerca de 7,3 e um pH intracanalicular de cerca de 0,8 (HOOGERWERF; PASRICHA, 2006).

As células parietais constituem as únicas células que secretam ácido clorídrico. A secreção desse ácido se encontra sob controle contínuo de sinais endócrinos e nervosos. É a bomba de prótons (H^+ K^+ -ATPase), localizada na membrana apical das células parietais, que bombeia o H^+ contra um gradiente de concentração. Por esse mecanismo o H^+ é secretado para o lúmen celular em troca do K^+ (GUYTON, HALL, 2002).

A gastrina, que é produzida pelas células G do antro, é um dos indutores mais potente da secreção de ácido. A liberação de gastrina é estimulada por múltiplas vias, incluindo ativação do Sistema Nervoso Central (SNC), distensão local e componentes químicos do conteúdo gástrico. A gastrina estimula a secreção ácida indiretamente ao induzir a liberação de histamina pelas células enterocromafins (HOOGERWERF; PASRICHA, 2006).

A acetilcolina liberada a partir do nervo vago atua sobre receptores muscarínicos estimulando a secreção ácida da célula parietal, elevando os níveis de Ca^{2+} intracelular. Sua liberação está associada a estímulos provenientes do olfato, visão, paladar ou mastigação e ainda aqueles provenientes de neurônios locais da parede gástrica através da distensão das paredes do estômago com a chegada do alimento (HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995; KUTCHAI, 1996).

A histamina é liberada por estimulantes da secreção ácida como alimento ou gastrina. E atua em receptores H_2 e a sua liberação promove o aumento da secreção ácida por elevar os níveis intracelulares de AMP_c (DOCKRAY *et al.*, 1996).

A somatostatina (SST), que é produzida pelas células D do antro, inibe a secreção de ácido gástrico. A acidificação do pH luminal gástrico para valores menores que três estimula a liberação de SST que, por sua vez, suprime a produção de gastrina em um mecanismo de

retroalimentação negativa. As células produtoras de SST estão diminuídas em pacientes com infecção por *Helicobacter pylori*, e a consequente redução do efeito inibitório da SST pode contribuir para produção excessiva de gastrina (SCHUBERT, 2007).

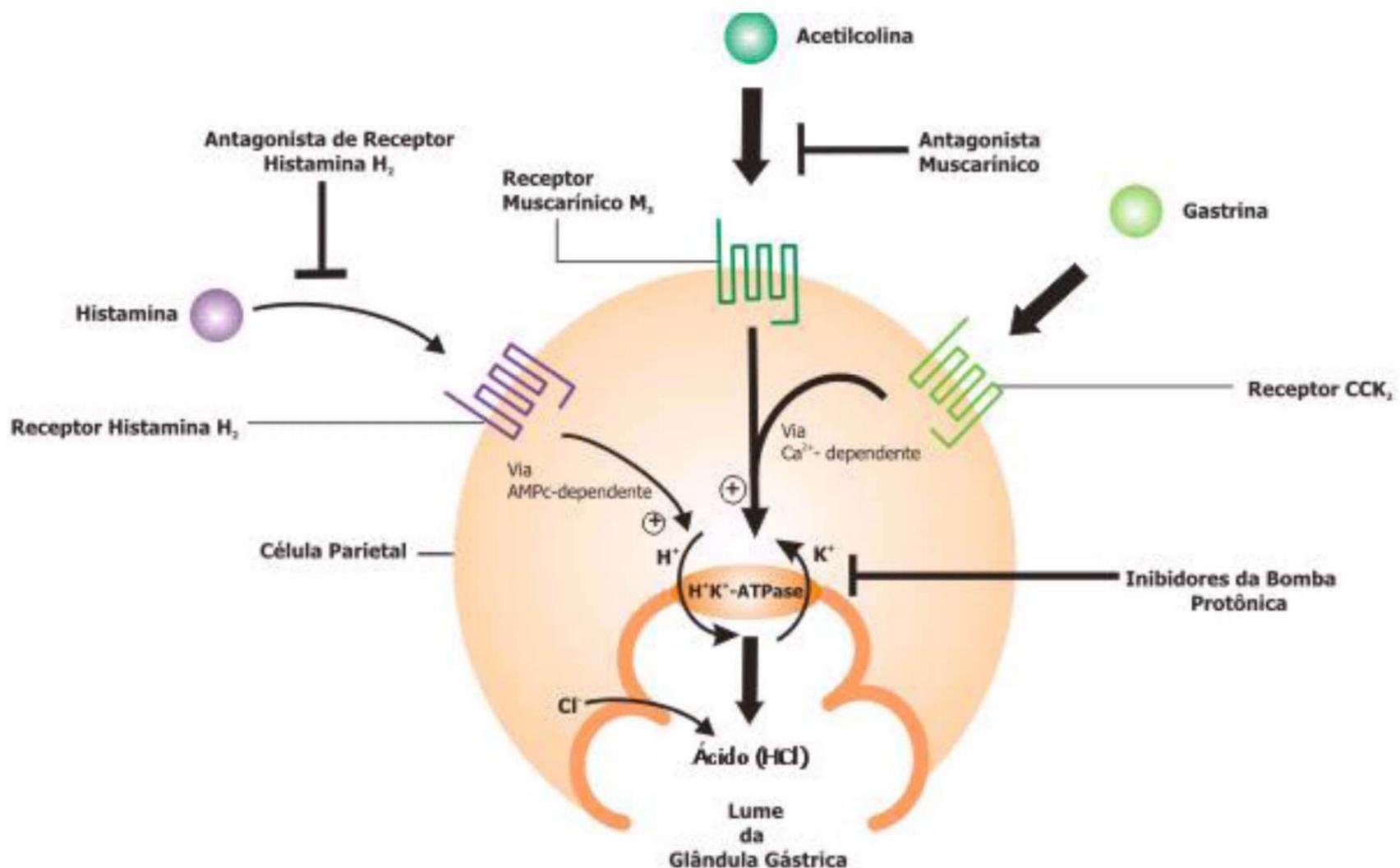


Figura 3. Representação esquemática dos mecanismos fisiológicos da secreção ácida gástrica.
Fonte: Adaptado de OLBE *et al.*, 2003.

1.5.1.1 Fatores Agressores da Mucosa Gástrica

Em condições fisiológicas, existe no estômago um balanço entre os fatores agressores (HCL, pepsina, bile e enzimas pancreáticas) e os mecanismos gastroprotetores (muco-bicarbonato, fluxo sanguíneo e glutathiona). Esses mecanismos podem ser classificados, pelo local de ação, em mecanismos de proteção pré-epitelial, epitelial ou subepitelial. A proteção pré-epitelial é realizada pela barreira muco-bicarbonato. A proteção epitelial é dada pelos surfactantes (fosfolipídios anfóteros) que aumentam a hidrofobicidade das membranas biológicas, tornando-as resistentes aos agentes hidrofílicos agressores, tais como aspirina. Juntamente com os surfactantes, os compostos sulfidrílicos não-proteicos (NP-SH, glutathiona) constituem fatores importantes da proteção epitelial contra radicais livres. A proteção subepitelial é dada pelo fluxo sanguíneo, que suplementa nutrientes e oxigênio, além de remover íons hidrogênio e outros agentes nocivos. Evidências

experimentais têm enfatizado o papel do fluxo sanguíneo e, em particular a microcirculação na patogênese de injúrias na mucosa gástrica. Atribui-se o controle do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica às prostaglandinas (PG's) (ALPHIN *et al.*, 1977; FORSELL, 1998).

Pesquisas sugerem que boa parte dos casos de gastrite é causada por uma infecção bacteriana (*H. pylori*) crônica da mucosa gástrica. Tal infecção podendo ser tratada com sucesso pela administração de um esquema intensivo de medicamentos antibacterianos. Além disso, a ingestão de algumas substâncias tem efeito irritativo, podendo ser muito lesivas para a barreira mucosa de proteção gástrica – isto é, para as glândulas produtoras de muco viscoso e para as junções fechadas epiteliais entre as células do epitélio de revestimento gástrico (GUYTON; HALL, 1998).

Dentre os principais fatores agressores da mucosa gástrica, podemos citar: o uso exagerado de antiinflamatórios não-esteróides (AINE) particularmente a aspirina; o consumo excessivo de álcool; o fumo; tratamentos com quimioterápicos contra o câncer; estresse intenso; tentativas de suicídio com ácidos e bases; traumas mecânicos (sonda nasogástrica); traumatismos severos (especialmente quando acompanhados por choque, septicemia prolongada e incapacidades decorrentes de doenças crônicas debilitantes) (PORTH; KUNERT, 2004; KUMAR *et al.*, 2005).

Acredita-se que um ou mais dos fatores citados anteriormente atuem nos seguintes contextos: secreção ácida aumentada com difusão retrógrada de íons H^+ , redução da produção de tampão bicarbonato, redução do fluxo sanguíneo, ruptura da camada mucosa aderente e lesão direta do endotélio. Não surpreendendo que estes agressores da mucosa atuem sinergisticamente. E outros fatores agressores da mucosa foram identificados, como a regurgitação dos ácidos biliares e das lisolecitinas do duodeno proximal, além da síntese mucosa inadequada de prostaglandinas. Deve-se observar que uma parte substancial dos pacientes tem gastrite idiopática, sem nenhum distúrbio associado (KUMAR *et al.*, 2005).

1.5.1.2 Mecanismos e Fatores de proteção da Mucosa Gástrica

O mecanismo de defesa da mucosa gastrointestinal contra fatores agressores, como o ácido clorídrico, ácidos biliares e drogas antiinflamatórias não-esteroidais, consiste principalmente de fatores funcionais, humorais e neurais. A secreção do muco alcalino, microcirculação da mucosa e motilidade agem como fatores funcionais, enquanto que prostaglandina e óxido nítrico agem como fatores humorais e os neurônios sensoriais

sensíveis a capsaicina agem como fatores neurais (TSUKIMI; OKABE, 2001; REPETTO; LLESUY, 2002).

O revestimento do estômago geralmente é impermeável ao ácido por ele secretado, uma propriedade que permite este órgão conter ácido e pepsina, sem que ocorra a digestão de sua parede. Diversos fatores contribuem para a proteção da mucosa gástrica, tais como uma cobertura celular superficial impermeável, mecanismo para transporte seletivo de íons hidrogênio e bicarbonato, além das características do muco gástrico. Estes mecanismos são coletivamente conhecidos como a barreira da mucosa gástrica (PORTH; KUNERT, 2004).

Dentre os fatores protetores da mucosa gástrica, são considerados importantes:

a) Muco

É um fator de proteção da mucosa o qual, apresenta-se de forma viscosa, elástica, aderente, como um gel transparente, que contém 95% de água e 5% de glicoproteínas, recobrando toda a superfície da mucosa gastrointestinal. O muco é capaz de agir como antioxidante e reduzir danos na mucosa promovidos por radicais livres (REPETTO; LLESUY, 2002).

O muco é secretado em todo o trato gastrointestinal desde o estômago até o cólon, formando uma camada viscosa aderente à superfície que promove uma barreira protetora entre o epitélio e o lúmen contra agentes nocivos, enzimas e microorganismos (FORSTNER; FORSTNER, 1994). A camada de muco funciona como uma barreira física, impedindo o acesso da pepsina, presente no lúmen, à mucosa gástrica. Além disso, mantém o gradiente de pH próximo a neutralidade, impedindo danos a mucosa gástrica (SCHADE *et al.*, 1994).

O muco também protege a mucosa contra as forças mecânicas da digestão, retraindo água e diminuindo a difusão de íons H^+ da luz para a membrana apical das células parietais, além de lubrificar a superfície gástrica (REPETTO; LLESUY, 2002).

A regulação da secreção de muco está associada a fatores neurais, hormonais e parácrinos. Normalmente a espessura da camada de muco é a diferença resultante entre a taxa de secreção e a erosão provocada pela digestão enzimática. A secreção contínua de muco mantém as propriedades protetoras da barreira, entretanto, alguns fatores como a infecção por *Helicobacter pylori*, úlceras pépticas e colite ulcerativa podem comprometer a barreira de muco afetando a sua estrutura e a sua espessura (ATUMA *et al.*, 1998; NEWTON *et al.*, 1998; STRUGALA *et al.*, 1998).

b) Bicarbonato

O bicarbonato é secretado pelas células superficiais do estômago e pelas glândulas de Brünner do duodeno permanecendo em grande parte, abaixo ou na camada mucosa. Deste modo, a superfície mucosa fica em contato com o líquido que contém pH elevado em relação à luz do estômago que, em condições normais, irá neutralizar os íons H^+ que se difundem entre a luz e as células epiteliais (WALLACE; GRANGER, 1996).

A secreção de íons bicarbonato da superfície das células epiteliais é um mecanismo de defesa no estômago que atua sinergicamente com a barreira de muco. A regulação fisiológica desta secreção envolve diversos fatores, como as prostaglandinas, peptídeos e fatores neuronais. No duodeno, as prostaglandinas sintetizada via COX-1 ativam a secreção de bicarbonato através da interação com receptores EP_3 e EP_4 (FLEMSTROM, 1987; HOGAN *et al.*, 1993).

Sabe-se também que o aumento na secreção de bicarbonato no duodeno é mediado pela estimulação da adenilo ciclase e elevação nos níveis intracelulares de AMP_C , e que a ativação de EP_3/EP_4 resulta em um aumento do AMP_C celular através da proteína G (AOI *et al.*, 2004).

No estômago, o aumento da secreção de HCO_3^- é regulado pelas PGE_2 através da interação com receptores EP_1 (TAKEUCHI *et al.*, 2006).

c) Prostaglandinas

As prostaglandinas (PGs) são derivadas 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 prostaglandinas 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 $F_{2\alpha}$ 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 *et al.*, 2006).

As prostaglandinas têm efeito na motilidade, secreção e citoproteção do trato gastrointestinal. Seu efeito protetor envolve o fluxo sanguíneo, estimulação de muco,

secreção de bicarbonato (HAWKEY, 2000). Em baixas concentrações as PGE₂ 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 localizados nas membranas das células parietais e nas células principais da mucosa gástrica (DING *et al.*, 1997).

Com relação às defesas primárias da mucosa gastrointestinal, as PGE₂ têm um efeito estimulatório na secreção de bicarbonato, este efeito parece estar relacionado com receptores EP₁ no estômago e EP₃/EP₄ no duodeno (HIROKAWA *et al.*, 2004).

As PGs geradas em uma úlcera gástrica, pela COX₂, parecem ter um papel crucial na cicatrização das úlceras, estimulando a proliferação celular, promovendo angiogênese e a restauração da integridade da mucosa. Em situações onde a mucosa é exposta a agentes lesivos, ou quando a mucosa está ulcerada, há uma inibição da COX₁ e subsequente super expressão da COX₂ (KONTUREK *et al.*, 2005).

As úlceras gástricas parecem ser um dos principais efeitos adversos dos antiinflamatórios não esteroidais (AINES), os quais são amplamente usados no tratamento da dor, febre e inflamação (BAYIR *et al.*, 2006). Ambos os efeitos dos AINES, adversos e terapêuticos, são atribuídos a sua capacidade de reduzir a produção de PG, através da inibição da COX. Várias linhas de evidência indicam que a patogênese da lesão gastrointestinal induzida por AINES também depende de vias independentes de PG, como fosforilação oxidativa, redução na proliferação celular da mucosa e ativação de neutrófilos, seguido pelo aumento de adesão endotelial. Estes mecanismos, juntamente com os relacionados à inibição da síntese de PG, conduzem à oclusão de microvasos e subsequente superprodução de metabólitos reativos a oxigênio. Estas substâncias são capazes de induzir lesão tecidual oxidativa, que parece ter papel importante na patofisiologia da ulceração digestiva induzida por AINES (FORNAI *et al.*, 2005).

A PGI₂ endógena está envolvida na resposta a lesão ocasionada pelo estresse, mas não na cicatrização da úlcera gástrica pré-formada, além disso, PGI₂ e seus receptores podem ter um papel fundamental na proteção gástrica induzida por capsaicina, mas não na citoproteção adaptativa induzida por irritantes leves. A ação protetora em ambos os casos é dependente de PG endógena, ainda que os receptores envolvidos nessa ação mostrem ser diferentes; os receptores IP estão envolvidos na formação da úlcera, enquanto os receptores EP₁ na úlcera já formada (TAKEUCHI *et al.*, 2001).

d) Defesas antioxidantes

Quando a barreira produzida pelo muco é transposta, são ativados mecanismos complexos de proteção epitelial e subepitelial. Um destes mecanismos é a redução do estresse oxidativo. Um radical livre é definido como qualquer espécie química que contém um ou mais elétrons desemparelhados. Espécies reativas de oxigênio (ROS) é uma expressão que inclui radicais de oxigênio, como radical superóxido (O_2^-), hidroxila (OH^-), peroxila (RO_2), hidroperoxila (HO_2) e outros agentes oxidantes que não são radicais, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$) e ozônio (O_3), que podem ser convertidos fácil e rapidamente em radicais (DONG; KAUNITZ, 2006).

O trato gastrointestinal tem a capacidade de produzir grandes quantidades de ROS pelas oxidases de mucosa como a xantina oxidase, mieloperoxidase (MPO) e NADPH oxidase, encontrada em leucócitos residentes (macrófagos, neutrófilos e eosinófilos) da lâmina própria. Além disto, vários fatores podem acarretar o aumento da produção de ROS como, por exemplo, o processo inflamatório e consequente recrutamento de neutrófilos por citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1β (IL- 1β) e o fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$) (DONG; KAUNITZ, 2006).

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 glutathione peroxidase (GPx). Moléculas químicas pequenas também têm papel antioxidante como vitaminas, flavonóides, carotenóides, ácido úrico e glutathione (GSH), promovendo uma segunda linha de defesa (CNUBBEN *et al.*, 2001).

e) Fluxo sanguíneo

O fluxo sanguíneo na mucosa mantém a estrutura e a função do estômago e está associado à cicatrização de lesões gastrointestinais. É regulado e modificado por sistemas e fatores metabólicos locais como prostaglandina, leucotrieno e outros mediadores químicos endógenos na mucosa (KAWANO; TSUJI, 2000).

Um dos mais importantes componentes de defesa da mucosa é a resposta da circulação sanguínea a agentes irritantes. Quando ácidos ou outros agentes agressores entram na camada subepitelial, neurônios aferentes sensoriais promovem um rápido aumento no

fluxo sanguíneo da mucosa, permitindo a rápida remoção das substâncias tóxicas, limitando a penetração em camadas mais profundas da mucosa (WALLACE; GRANGER, 1996).

Os neurônios aferentes sensoriais, quando apropriadamente estimulados, liberam peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) na vizinhança das arteríolas presentes na submucosa. O CGRP causa vasodilatação nestes vasos, através da via mediada pelo óxido nítrico (NO), aumentando o fluxo sanguíneo local. A resposta hiperêmica é também fundamental para os processos de restituição da mucosa (HOLZER; SAMETZ, 1986).

f) Mecanismos intracelulares

A ação da H^+ , K^+ ATPase, localizada na membrana apical da célula parietal, é bombear H^+ contra um gradiente de concentração. A célula parietal tem a membrana apical revestindo o lúmen das glândulas gástricas e a membrana basolateral em contato com o fluido intersticial. Os canalículos se estendem desde a membrana apical para dentro da célula. As células contêm também estruturas túbulo-vesiculares com moléculas da H^+ , K^+ ATPase nas paredes (GANOG, 2003).

Quando as células parietais são estimuladas, as estruturas túbulo-vesiculares se direcionam a membrana apical e se fusionam com ela, inserindo muitas moléculas de H^+ , K^+ ATPase na membrana. A H^+ , K^+ ATPase promove a secreção do H^+ no lúmen gástrico, trocando-o por K^+ . O Cl^- também é expelido através de seus canais ativados por AMPc. O HCO_3^- , formado pela dissociação do H_2CO_3 é expelido através da membrana basolateral das células parietais que trocam o HCO_3^- por outro ânion, principalmente Cl^- (GANOG, 2003).

A secreção ácida pela célula parietal envolve a elevação dos níveis intracelulares de cálcio e AMPc, seguido pela translocação da bomba de prótons (H^+ , K^+ ATPase) das túbulo vesículas citoplasmáticas para a membrana apical da célula parietal (HOU; SCHUBERT, 2006). Os receptores H_2 de histamina aumentam AMPc, via proteína G. Os receptores CCK-2 de gastrina e os receptores colinérgicos M_3 aumentam os níveis intracelulares de cálcio. A interação destes eventos intracelulares é tanta que a ativação de um tipo de receptor potencializa a resposta de outro para a estimulação. As prostaglandinas (PG), principalmente PGE_2 , inibe a secreção ácida, pela ativação dos receptores EP_3 , via ativação da proteína G (GANOG, 2003; HOOGERWERF; PASRICHA, 2006).

1.5.1.3 Óxido Nítrico (NO)

O óxido nítrico (NO) é uma molécula sinalizadora gerada, através de uma série de etapas de transferência de elétrons, por uma família de enzimas conhecidas como NO sintases (NOS). Três genes independentes codificam a NOS neuronal (nNOS) (BREDT *et al.*, 1991), a endotelial (eNOS) (SESSA *et al.*, 1992) e a induzida (iNOS) (XIE *et al.*, 1992), as quais possuem a capacidade de gerar o NO por mecanismos regulatórios complementares e distintos.

O NO, por sua natureza lipofílica, difunde-se rapidamente, iniciando sinais intercelulares e intracelulares (PALMER *et al.*, 1987). A via melhor caracterizada da sinalização produzida pelo NO está relacionada com a ativação da guanilato ciclase solúvel (GCs), onde o NO liga-se no grupamento heme da enzima, estimulando a formação de GMPc, que por sua vez ativam proteínas quinases G (PKG), iniciando uma cascata de fosforilação para obter a função efetora (DENNINGER *et al.*, 2001).

Entretanto, em condições fisiopatológicas e provavelmente durante certas condições fisiológicas, a sinalização mediada por NO pode ser independente da ativação da GC. O NO, por exemplo, regula diretamente a função de canais iônicos, enzimas e várias proteínas (STAMLER *et al.*, 2001). Esta regulação parece ser, ao menos em parte, pela nitrosilação de grupamentos tióis do resíduo de cisteína presentes nas proteínas (JAFFREY *et al.*, 2001).

Recentemente, o óxido nítrico tem sido reconhecido como um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica. Em vários estudos, foram demonstrados que as lesões na mucosa gástrica induzidas por agentes químicos são reduzidas pela administração de NO e agravadas com a sua remoção (CALATAYUD, 1999). Este efeito pode estar ocorrendo devido ao aumento do fluxo sanguíneo da mucosa promovido pelo NO (WALLACE; GRANGER, 1996) ou ainda por promover um aumento na liberação de muco gástrico (BROWN *et al.*, 1992).

Recentemente também foi demonstrado que a administração de L-NAME (inibidor da NOS) acentua as lesões gástricas induzidas por etanol e aumenta a atividade da H⁺,K⁺-ATPase, enquanto doadores de NO (nitroprussiato) reparam as lesões induzidas por etanol e inibem a atividade ATPásica em ratos (BULUT *et al.*, 1999).

Estudos com o NO também foram realizados para avaliar sua participação na motilidade gastrointestinal e no fluxo sanguíneo gástrico. Enquanto o papel do NO na motilidade gastrointestinal é fortemente controlada pela nNOS, os efeitos nas funções vasculares ocorrem, em maior parte, através da eNOS (SHAH *et al.*, 2004).

Em estudos em humanos foi observado que inibidores da NOS aumentam a frequência de contrações gástricas e aumenta o esvaziamento gástrico (TACK *et al.*, 2002), assim como doadores de NO inibem o esvaziamento gástrico e promovem a acomodação da região proximal do estômago (KONTUREK *et al.*, 1995).

A maior parte do fluxo sanguíneo do trato gastrointestinal entra pela vasculatura mesentérica e é regulado, em grande parte, pelas arteríolas. O papel do NO neste processo foi evidenciado por inibidores de NO, que reduziram o fluxo sanguíneo em artérias mesentéricas (SHAH *et al.*, 2002; KUSAYAMA *et al.*, 1996).

1.6 A Doença Ulcerosa Péptica

A úlcera péptica é um termo utilizado para descrever um grupo de distúrbios ulcerativos que ocorrem em áreas do trato gastrintestinal superior que se encontra exposto a secreções ácidas e pepsina. As formas mais comuns de úlcera péptica são as úlceras duodenais e gástricas (RUBIN, PALAZZO, 2006).

A doença ulcerosa péptica, com suas remissões e exacerbações, representa um problema crônico de saúde. Aproximadamente 10% da população têm ou irão apresentar úlcera péptica (RUBIN, PALAZZO, 2006).

A úlcera é uma lesão profunda da mucosa, onde tanto os componentes do tecido epitelial e conectivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos, podem ser destruídos (MILANI e CALABRÒ, 2001). Tanto as úlceras localizadas no estômago quanto as do duodeno são referidas como úlceras pépticas. Em geral, as úlceras ocorrem mais comumente no duodeno (5x), onde 90% estão localizadas a 3 cm da junção do piloro com a mucosa duodenal. No estômago as úlceras se localizam mais comumente no antro (60%) e na junção do antro com o corpo na pequena curvatura (25%) (ABITBOL, 2010).

Sua incidência é ligeiramente maior nos homens em relação às mulheres (1,3:1) e, apesar de ocorrerem em qualquer idade, a úlcera duodenal ocorre com mais frequência na faixa de 30-55 anos, enquanto a úlcera gástrica na faixa de 50-70 anos (ABITBOL, 2010).

A úlcera péptica foi considerada a maior causa de morbidade e mortalidade por mais de um século. Ela ainda é considerada um grande fator sério de morbidade, havendo alto índice de morte em casos extremos, como em úlceras hemorrágicas promovidas pelo estresse (CHAN; LEUNG, 2002).

Segundo a revisão realizada por 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 sanguíneo 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 agressão 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 (etanol, antiinflamatórios esteroidais, fumo), e os fatores protetores da mucosa gástrica (muco, bicarbonato, prostaglandinas, fluxo sanguíneo, óxido nítrico) (GLAVIN; SZABO, 1992; WALLACE; GRANGER, 1996).

O primeiro evento que geralmente ocorre antes da formação das úlceras é uma isquemia local, que leva a um aumento da permeabilidade da membrana, permitindo que agentes lesivos (ácido, pepsina, dentre outros) entrem em contato com a mesma, danificando-a (PETERSON, 1995). A secreção de íon bicarbonato na camada de muco cria um gradiente de pH próximo à neutralidade, na superfície epitelial do estômago e duodeno, promovendo a primeira forma de proteger a mucosa contra acidez. A camada de muco contínua é também uma barreira para a pepsina, desse modo protege a mucosa subjacente da digestão proteolítica (ALLEN; FLEMSTROM, 2005).

A importância clínica das úlceras pépticas levou ao desenvolvimento de drogas capazes de aliviar os sintomas e até mesmo possibilitar a cura. Drogas pertencentes à família de antagonistas de receptores H₂ (cimetidina) ou inibidores de bomba protônica (lansoprazol) são efetivas e muito utilizadas no tratamento dos sintomas; porém, o uso prolongado dessas drogas pode levar a efeitos adversos como risco de câncer (RAGHUNATH *et al.*, 2005). Isso demonstra a necessidade de mais estudos para a compreensão desta doença, assim como a busca por métodos e drogas capazes de promover a sua remissão.

Durante séculos, a neutralização do ácido gástrico com antiácidos foi o único alívio para a dor das úlceras, porém a alcalose causada por absorção de NaHCO_3 , a constipação provocada pelo hidróxido de alumínio, a diarreia provocada pela administração de hidróxido de magnésio, as complicações em pacientes com hipertensão e insuficiência cardíaca congestiva, causadas pelo alto teor de sódio absorvido, implicaram em empecilhos para o uso destas drogas. Antigamente, grandes doses de bicarbonato e/ou carbonato de cálcio eram comumente administradas com leite, para o tratamento da úlcera péptica, ocasionando a “Síndrome leite-álcali”, com efeitos que consistiam em: hipercalcemia, retenção de fosfato, precipitação de sais de Ca^{2+} nos rins e insuficiência renal; portanto, esses e outros fatores levaram à busca de novas drogas para o tratamento das úlceras pépticas (BRUNTON, 1996; CHAMPE *et al.*, 1998).

A estimulação de receptores muscarínicos aumenta a motilidade e a atividade secretória do trato digestivo (CHAMPE *et al.*, 1998). Os estudos do controle fisiológico da secreção de ácido mostram que os agentes anticolinérgicos bloqueiam este processo, porém estas drogas podem provocar efeitos anticolinérgicos sobre as glândulas salivares, coração e no globo ocular (ROBERTS; MORROW, 2001). Durante muito tempo, a doença da úlcera péptica foi freqüentemente manuseada cirurgicamente, resultando em altas taxas de morbidade e mortalidade. Uma supressão farmacológica efetiva da secreção gástrica iniciou com a introdução de antagonistas do receptor H_2 de histamina na década de 70. Durante a década de 80 as cirurgias eletivas de úlceras pépticas declinaram 85%, o que pode ser atribuído pelo uso de cimetidina ou ranitidina (YUAN *et al.*, 2006). A redução da produção de ácido gástrico mostrou ser o principal efeito colateral das drogas dessa classe, porém o bloqueio não seletivo da secreção de ácido e os efeitos no SNC., principalmente em idosos, (p.ex. cefaléia, tontura, sonolência, alucinações) contribuíram para a busca por fármacos mais seletivos (CHAMPE *et al.*, 1998).

Posteriormente, os inibidores benzimidazólicos substitutos da $\text{H}^+ \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ofereceram um meio muito eficaz de bloquear seletivamente a bomba de prótons responsável pela secreção de ácido da célula parietal (ROBERTS; MORROW, 2001). Estudos em animais mostraram que os fármacos inibidores da bomba protônica aumentam a incidência de tumores carcinóides gástricos, possivelmente relacionados com os efeitos da prolongada hipocloridria (CHAMPE *et al.*, 1998). O excesso de crescimento bacteriano no trato gastrointestinal, devido a elevação do pH gástrico, pode estar relacionado ao uso a longo prazo dos medicamentos desta classe (BRUNTON, 1996).

Embora o ácido gástrico tenha dominado o pensamento médico como responsável pela formação das úlceras pépticas, os meios pelos quais a mucosa gástrica normalmente se protege de danos sugeriram enfoques terapêuticos adicionais, inclusive o uso de inúmeros agentes citoprotetores (ROBERTS; MORROW, 2001).

Subsequentemente à descoberta da atividade citoprotetora das prostaglandinas, análogos estáveis das prostaglandinas foram obtidos sugerindo que poderiam ser úteis no tratamento da úlcera péptica, particularmente por se mostrarem efetivos na inibição ácida gástrica humana. Diversas triagens clínicas relataram que esses análogos são efetivos na aceleração da taxa de cicatrização das úlceras gastroduodenais, não somente acompanhada de terapia com DAINES (quando há deficiência na existência de prostaglandinas endógenas), mas também nas ulcerações DAINES-independentes (KONTUREK *et al.*, 2005).

Alguns efeitos colaterais limitaram o uso desses análogos de prostaglandinas: doses orais eficazes de misoprostol causam diarreia em até 30% dos pacientes. Uma reação adversa importante do misoprostol é seu efeito abortivo; portanto, seu uso foi restringido para gestantes (BRUNTON, 1996).

A identificação do papel do *H. pylori* em causar a gastrite e contribuir para o processo ulcerativo no estômago e no duodeno fez surgir o enfoque terapêutico de que a eliminação desta bactéria seria uma estratégia útil para promover a cicatrização de úlceras e evitar sua recorrência (ROBERTS; MORROW, 2001). Numerosos estudos mostram que as úlceras pépticas ressurgem com baixa frequência quando a infecção pela *H. pylori* é combatida e quando o uso de DAINES é suprido pelo paciente (KONTUREK *et al.*, 2005).

Em países em desenvolvimento, as úlceras relacionadas com infecção pela *H. pylori* têm tornado-se raras, devido à introdução da antibioticoterapia. Entretanto, úlceras associadas como o uso de DAINES permanecem como um dos principais problemas clínicos da atualidade, o qual não foi solucionado com a introdução de inibidores seletivos da ciclooxigenase-2 (COX-2). Diversos artigos recentes têm esclarecido a contribuição adicional da COX-2 da defesa da mucosa gástrica e na cicatrização de úlceras. Em algumas circunstâncias, COX-2 produz uma substância gastroprotetora altamente potente (15-R-lipoxina A4), e análogos dessa substância poderiam ter valor terapêutico na prevenção de ulcerações gástricas (WALLACE, 2005).

Porém, com a redução dos índices de infecções por *H. pylori*, a proporção de úlceras pépticas não relacionadas com esta bactéria ou ao uso de DAINES tem aumentado (CHAN; LEUNG, 2002).

O gasto financeiro anual, com doença da úlcera péptica, nos EUA, incluindo custo direto e indireto, é estimado em US\$ 3,4 bilhões (YUAN *et al.*, 2006).

No Brasil, apesar da ausência de registros epidemiológicos dos casos de úlceras, sabe-se que existem inúmeros casos envolvendo essa doença, o que significa um problema de saúde pública relevante e torna a busca por novas substâncias com atividade antiulcerogênica essencial. Embora exista um grande arsenal de drogas com atividade antiulcerogênica no mercado, ainda não há aquela que produza 100% de remissão das úlceras, com reduzido efeito colateral e sem o comprometimento do paciente, que geralmente faz uso crônico desses medicamentos. Revistas têm difundido artigos que identificam novas drogas antiulcerogênicas derivadas de fontes naturais (JAMAL *et al.*, 2006)

1.7 As plantas medicinais e a atividade antiulcerogênica

De acordo com a literatura, muitas plantas medicinais têm sido evidenciadas como úteis no tratamento de distúrbios gástricos. Como exemplo, temos: *Syngonanthus arthrotrichus* SILVEIRA. (sempre-vivas) (BATISTA *et al.*, 2004) e *Byrsonima crassa* Nied. (murici vermelho), que possuem compostos que atuam como “varredoras” de espécies reativas de oxigênio na superfície da mucosa gástrica (SANNOMIYA *et al.*, 2005).

Contudo, existe na flora mundial um grande número de espécies usadas na medicina popular, a exemplo da *Melissa officinalis* L. (erva-cidreira) (GURBUS *et al.*, 2000), *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta), *Silybum marianum* L. (cardo-mariano) (KHAYYAL *et al.*, 2001), *Brassica oleracea* L. (couve), *Maytenus aquifolium* Mart. (espinheira santa verdadeira), *Symphytum officinalis* L. (confrei), *Zollernia ilicifolia* Vog. (espinheira santa) (ALONSO, 1998) que são utilizadas no tratamento da úlcera gástrica por produzirem atividade antiulcerogênica dose-dependente associada à redução da acidez, aumento da secreção de mucina, diminuição da síntese de leucotrienos e aumento na produção e liberação de PGE₂ (REPETTO; LLESUY, 2002).

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

Substâncias com atividade antiulcerogênica, obtidas a partir de plantas medicinais, exercem seus efeitos estimulando os fatores de proteção da mucosa gástrica, aumentando a

síntese de prostaglandina e/ou estimulando a secreção de muco e bicarbonato, ou ainda inibindo a secreção gástrica (BORRELI; IZZO, 2000).

É nesse contexto que os produtos naturais devem ser discutidos na farmacologia e que, posteriormente, podem vir a ser usados para o tratamento e cura da úlcera péptica (LEWIS; HANSON, 1991).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Investigar as atividades bioativas do extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas da espécie vegetal, *Croton campestris* A. St.-Hill. - Euphorbiaceae (Velame do campo) em modelos *in vivo* e *in vitro*.

2.2 Objetivos Específicos

- Elucidar os elementos (materiais ou simbólicos) constitutivos e característicos das concepções e práticas terapêuticas locais quanto à aplicação etnofarmacológica do *Croton campestris* nas comunidades tradicionais da Chapada do Araripe;

- Determinar a DL_{50%} (dose letal mediana) do extrato hidroalcoólico das folhas de *Croton campestris* (EHFCC), através de teste hipocrático e de toxicidade aguda em camundongos por via oral e intraperitoneal;

- Identificar o efeito antiulcerogênico, *in vivo*, do EHFCC em modelos de lesões gástricas agudas induzidas por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina, e investigar os possíveis mecanismos de ação do extrato;

- Avaliar as alterações produzidas pelo EHFCC sobre a motilidade gastrointestinal de camundongos;

- Determinar o efeito antimicrobiano e modulador de fármacos antibacterianos do EHFCC contra linhagens bacterianas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Material Botânico (Origem e Obtenção do Extrato Vegetal)

Foi utilizado nos experimentos o extrato hidroetanólico obtido das folhas frescas (EHFCC) de *Croton campestris* A.St.-Hill. (velame do campo).

A coleta de material para preparo da exsicata e para obtenção do extrato foi realizada na Fazenda Barreiro Grande (7°12'30''S e 39°28'42,4''W, altitude: 892 m acima do nível do mar), Crato-Ceará, em área de Cerrado da Chapada do Araripe, em dia ensolarado, cujas coordenadas foram obtidas através de aparelho GPS (Garmin).

Os procedimentos para preparo da exsicata seguiram as recomendações descritas por Ming 1996 *apud* Di Stasi, 1996. O material foi depositado no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, sob o número: #7095.

O material vegetal (folhas frescas – 852 g de *Croton campestris* A. St.-Hill.) foi lavado em água corrente, triturado e macerado, e depois extraído a frio com água e etanol a 99,9% na proporção de 1:1 (8,7 L de solvente), sendo que o solvente etanólico foi removido através do rotaevaporador sob pressão reduzida e temperatura 40-50°C, obtendo-se um rendimento de 70,89 g de extrato bruto a partir da utilização do liofilizador, conforme descrito no fluxograma da figura 4.

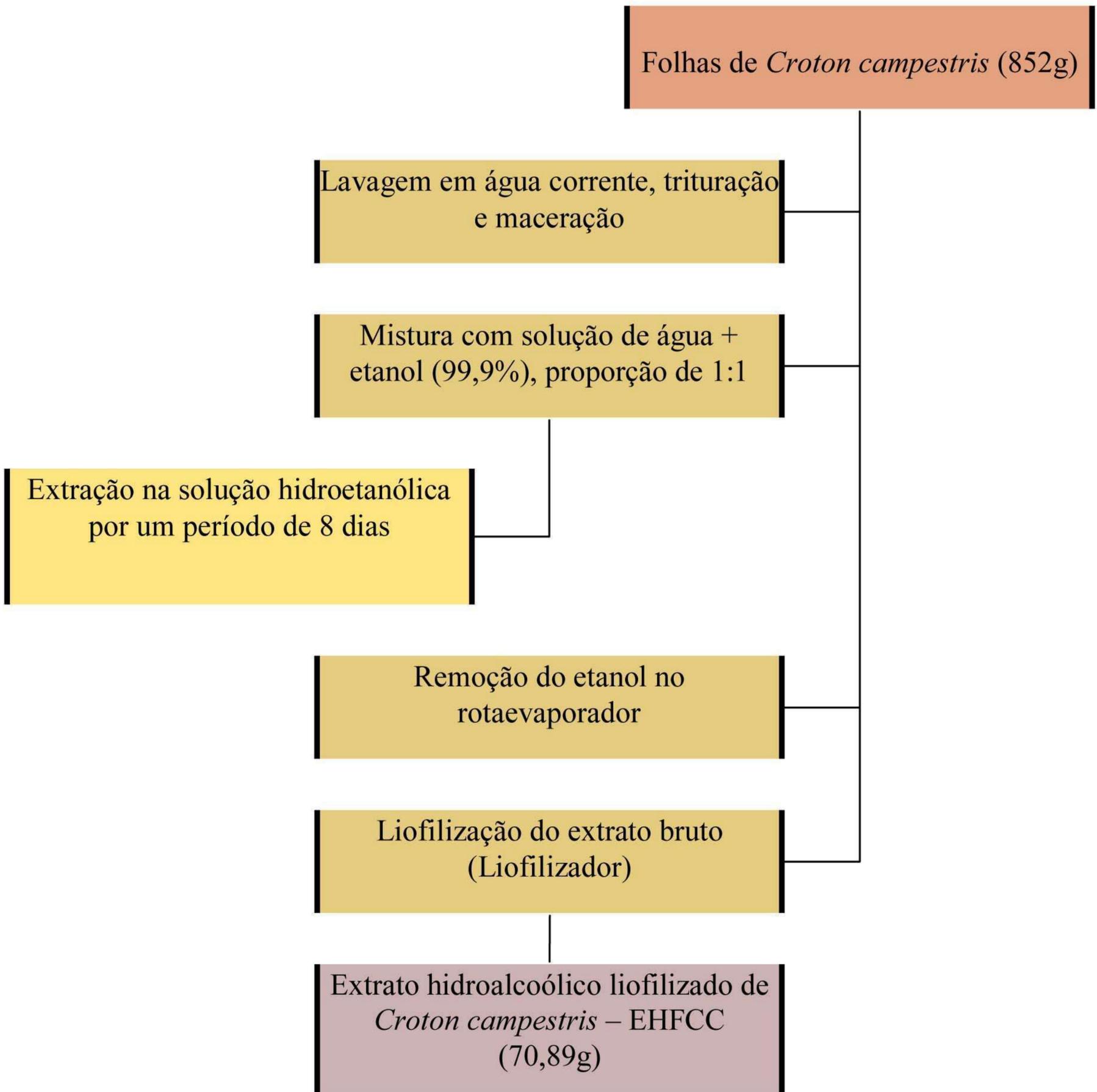


Figura 4. Fluxograma de obtenção do Extrato hidroalcoólico de *Croton campestris* A. St.-Hill. (EHFCC)

3.1.2 Drogas e reagentes

Quanto às drogas e os reagentes utilizados, estes estão relacionados a seguir com suas respectivas procedências:

SUBSTÂNCIA	ORIGEM
Ácido clorídrico (HCL)	Sigma, U.S.A.
Amicacina	Sigma Chemica Co , U.S.A.
Atropina	Sigma, U.S.A.
Capsaicina	Sigma, U.S.A.
Etanol absoluto 99%	(Química Especializada Erich, Brasil)
Éter etílico	Sigma-Aldrich, U.S. A.
Formalina	Fluka, Alemanha
Gentamicina	Sigma Chemica Co , U.S.A.
Glibenclamida	Sigma,U.S.A.
Indometacina (Indocid®)	Merck Sharp & Dohme, Brasil
Ioimbina	Sigma, U.S.A.
Canamicina	Sigma Chemica Co , U.S.A.
L-Arginina	Sigma,U.S.A.
Misoprostol	Continental Pharma, Itália
Neomicina	Sigma Chemica Co , U.S.A.
N-nitro-L-arginina-metilestar (L-NAME)	Sigma, U.S.A.
Solução fisiológica NaCl 0,9%	FARMACE, Brasil

3.1.3 Material permanente e equipamentos utilizados

- Balança analítica de precisão (Metler Toledo AB204)
- Banho-maria (Modelo 100, Fanem Ltda.)
- Cronômetros digitais (LivStar)
- Cânulas de gavagem para camundongos
- Materiais de biossegurança
- Material cirúrgico

- Pipetas automáticas (Maxipette)
- Rotaevaporador (Fisatom)
- Seringas estéreis (1 mL, 3 mL e 5 mL)
- Tubos Eppendorffs
- Vidrarias gerais
- GPS (Garmin)
- Liofilizador

3.1.4 Prospecção Fitoquímica (MATOS, 1997)

A avaliação fitoquímica do material vegetal foi realizada segundo Matos (1997), e as classes de metabólitos secundários identificados no extrato estão descritas na tabela 1.

Para determinação da prospecção fitoquímica, executou-se a avaliação conforme descrito: a fração do extrato hidroalcoólico liofilizado obtido das folhas frescas da espécie *Croton campestris* A. St.-Hill.(0,3 g) foi diluída em água destilada (9 ml) e etanol a 70% (21ml) e após a diluição, distribuídos em seis frascos, procedendo-se a partir de então, aos testes para determinação de: » **Teste para Fenóis e Taninos**, empregando-se 3 gotas de cloreto férrico, sendo que coloração azul no frasco denotou a **presença de taninos pirogálicos**, o que ainda pode ser confirmado com a adição de gelatina, a qual formou precipitado com a amostra; » **Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides**: para fins desse teste foi realizado o processo de acidualização (pH=3) através da adição de 18 gotas de ácido clorídrico - HCl, sendo que a não observância de modificações na coloração do frasco demonstrou a **presença de flavonas, flavonóis, xantonas e flavononóis**.

Em continuidade, o **Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas** foi realizado através de alcalinização a pH: 8,5 com hidróxido de sódio a 1% no primeiro frasco; de acidualizado (pH=3) por meio de 18 gotas de HCL e aquecimento por 2 minutos no segundo frasco; e de alcalinização (pH=11) com 18 gotas NAOH 1% e também aquecimento por 2 minutos do terceiro frasco. Assim, o frasco 2 não apresentou alteração de cor demonstrando **presença de flavononas**; e ainda, a cor vermelho laranja do frasco 3 pode revelar a **presença de flavononas** também.

O **Teste para Chauconas e Auronas**, através do processo de alcalinização (pH=11) com 18 gotas de NaOH 1%, obteve coloração vermelho-púrpuro no frasco evidenciando a presença de **chauconas e auronas**.

O **Teste para Alcalóides** foi realizado diluindo-se fração dos extratos hidroalcoólicos liofilizados obtidos das cascas (0,3g) em 30ml de ácido acético a 5% e 15ml de amônia, esta para alcalinização. Procedeu-se o aquecimento até fervura deste preparado, alcalinização com hidróxido de amônia a 10% (10ml), adição de clorofórmio (15ml), homogeneização e repouso em funil de separação, coleta da fase clorofórmica em Béquer, evaporação do solvente, adição de ácido clorídico a 1%, homogeneização, aplicação sobre uma lâmina, aplicação de uma gota de reagente Dragendorff, observando-se a formação de precipitado indicativo da **presença de alcalóides**.

O **Teste para Esteróides e Triterpenóides** ocorreu a partir da diluição de fração dos extratos hidroalcoólicos liofilizados obtidos das cascas (0,3g) em 06ml de solução de clorofórmio, filtração com algodão coberto com sulfato de sódio, passagem do material para um tubo de ensaio, adição de 01ml de anidrido acético e de três gotas de ácido sulfúrico, verificando-se alteração da cor, sendo a coloração verde indicativa da **presença de esteróides**.

3.1.5 Animais

Os camundongos albinos (*Mus musculus* L.), machos e fêmeas, da cepa “Swiss”, pesos entre 20 g – 30 g, utilizados neste trabalho de pesquisa foram obtidos no Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ) e da Faculdade de Ciências aplicadas Dr. Leão Sampaio. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno, à temperatura ambiente de 22-24°C, com ciclos de claro/escuro de 12 horas, recebendo ração padrão e água *ad libitum*. Um dia anterior aos testes os animais foram identificados e a ração foi retirada 15:00 h antes dos ensaios, sendo a água sempre mantida. O peso de jejum foi determinado. Todos os procedimentos utilizados seguiram as normas da ética em pesquisa com animais.

3.2 Métodos

3.2.1 Tipologia do Estudo

Em conformidade com o objeto de pesquisa, desenvolveu-se um estudo experimental randomizado, este com capacidade de demonstrar causalidade (HULLEY, *et al*, 2006) em modelos animais, a partir da adoção de intervenções ativas, em um grupo caso, e bem controlada com o uso de um princípio ativo que se pretendeu por em prova (intervenção, neste caso, observando-se os possíveis efeitos bioativos do extrato liofilizado do *Croton campestris* A. St.-Hill. - Gastroproteção) e outro (grupo controle) que receberá sempre uma abordagem/tratamento convencional.

3.2.1.1 Pesquisa Etnofarmacológica

Empregou-se um estudo randomizado, desenvolvido na área rural dos municípios de Crato e Santana do Cariri, localizados no Estado do Ceará (Figura 5). Foi utilizado como critério de exclusão da amostra o desconhecimento do uso do *Croton campestris* A. St.-Hill. (Velame do campo) para fins medicinais. Desse modo, a amostra esteve representada por 29 informantes que atribuíram valor de uso medicinal para a espécie.

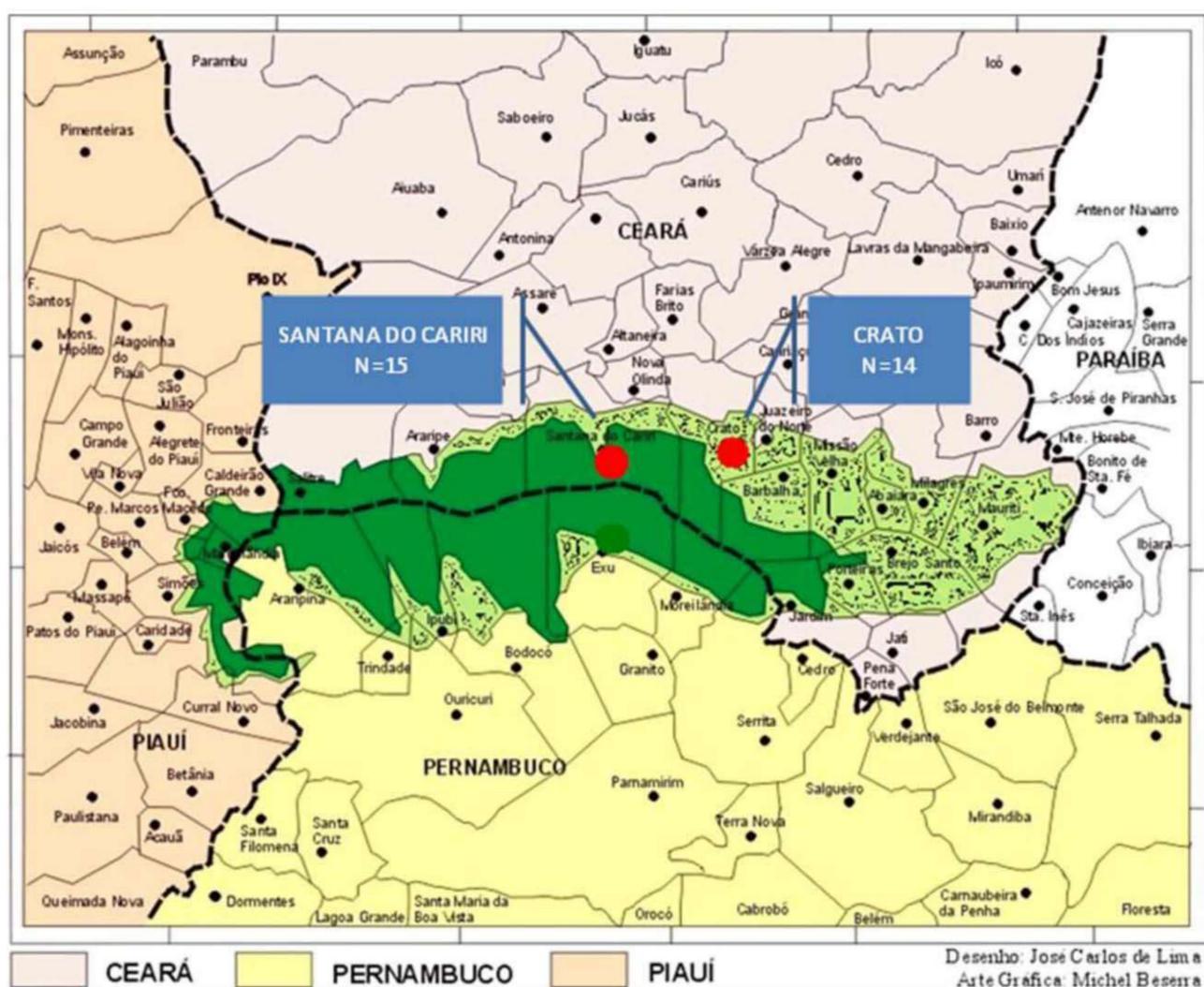


Figura 5. Mapa da Biorregião do Araripe (Área de abrangência da pesquisa etnofarmacológica)
Fonte: Fundação Araripe – FA (2008)

O período de estudo compreendeu os meses de junho e julho de 2009, no qual foram realizadas entrevistas semi-estruturadas com os informantes (APÊNDICE A). Para fins de composição de amostra foi empregada a técnica de amostragem por saturação de dados (POLIT; BECK; HUNGLER, 2004). A análise dos dados ocorreu através da estatística descritiva (frequência simples e percentual), abordando-se o uso medicinal das espécies (modo de preparo e administração, partes utilizadas da espécie, a duração do tratamento e a frequência das doses e restrições ao uso); o índice de Fidelity Level (FL) – Nível de fidelidade, proposto por Friedman *et al*, 1986 (ALBUQUERQUE; LUCENA; CUNHA, 2008.).

Conforme a fórmula:

$$FL = I_p / I_u \times 100\%$$

Onde:

I_p = número de informantes que sugerem o uso de uma determinada espécie para uma proposta principal;

I_u = número total de informantes que citaram a espécie para qualquer finalidade.

E da *Relative Frequency of Citation* (RFC) - Frequência relativa de citação, obtida a partir da fórmula:

$$RFC = FC / N$$

Onde:

FC representa o número de informantes que mencionaram o uso da espécie e N , o número total de informantes do estudo (TARDIO; PARDO-DE-SANTAYANA, 2008).

3.2.2 Ensaios Pré-Clínicos Farmacológicos *in vivo*

3.2.2.1 Investigação da Toxicidade Aguda do EHFCC (OECD, 2008)

a) Preparo dos animais

Para este ensaio foram utilizados animais (camundongos – n:5) fêmeas, selecionados randomicamente, acondicionados individualmente em caixas de polipropileno e aclimatizados em uma temperatura média de 22°C (\pm 3°C), mantidos em ciclos claro/escuro de 12 horas cada, com ração padrão e água *ad libidum*, observados por um período de catorze dias, conforme procedimento experimental preconizado por OECD, 2008.

b) Procedimento Experimental

O EHFCC foi dissolvido em solução salina a 0,9% nas concentrações de 17.5, 55, 175, 500 e 2000 mg/Kg (v.o. e i.p.) inicialmente, sendo que cada animal recebeu uma concentração diferente e o volume administrado foi de 0,1 ml/10 g de peso corporal por animal.

Todas as observações foram registradas sistematicamente e individualmente. Para as observações foram consideradas as alterações na pele e pêlos, nos olhos e nas mucosas, e também nos sistemas respiratório, circulatório, nervoso autônomo e central, atividade motora e ainda comportamental. Outros parâmetros avaliados foram a ocorrência de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma.

A massa corporal de cada animal foi determinada, diariamente, imediatamente antes da administração do extrato. Os animais que evoluíram a óbito tiveram os órgãos (baço, coração, fígado, pulmões e rins) excisados e os seus pesos determinados. Ao final do ensaio toxicológico (14 dias) os animais sobreviventes receberam o mesmo procedimento.

Em seguida ao experimento, a dose de 5000 mg/Kg do EHFCC foi administrada (v.o. e i.p.) a três animais, tendo em vista a inócorência de óbito com as doses de até 2000 mg/Kg.

A dose letal média – $DL_{50\%}$ foi calculada utilizando o Programa LC50 Moden System (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

3.2.2.2 Investigação da Atividade Gastroprotetora

a) Lesão gástrica aguda induzida por administração oral de etanol absoluto (ROBERT *et al*, 1979)

Para fins desse teste foram utilizados camundongos “Swiss”, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Jejum por um período de 15 horas, obtenção do peso e identificação. Partindo-se do objetivo de definir a melhor dose eficaz para gastroproteção, realizou-se um “*screening*” de doses do Extrato Hidroalcoólico das folhas do *Croton campestris* A.St.-Hill. - EHFCC (50, 75, 125, 250, 500 e 750 mg/Kg, v.o.), o omeprazol (30 mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g para o grupo controle negativo) 1 h antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos, os animais foram sacrificados por deslocamento

cervical, os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, as imagens foram escaneadas e digitalizadas, com posterior análise através do “*software*” (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de porcentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa “*GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Student Newman-Keuls, para expressão estatística.

Para avaliação de possível efeito gastroprotetor do EHFCC por via intraperitoneal, administrou-se o EHFCC na dose de 75 mg/Kg, 30 minutos antes da administração do etanol_{abs}. Decorridos 30 minutos do etanol, os animais foram sacrificados e receberam o mesmo procedimento descrito anteriormente.

b) Lesão gástrica aguda induzida por administração de etanol acidificado (MIZUI; SHIMONO; DOTEUCHI, 1987)

Para fins de investigação dessa atividade foram utilizados camundongos “*Swiss*”, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Jejum por um período de 15 horas, obtenção do peso e identificação. Receberam tratamento com o EHFCC (50, 75, 125, 250, 500 e 750 mg/Kg, v.o.), o omeprazol (30 mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g para o grupo controle negativo). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de uma solução 0,3 M de ácido clorídrico - HCl em etanol a 60 % e após 1 hora foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, as imagens foram escaneadas e digitalizadas, com posterior análise através do “*software*” (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de porcentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Student Newman-Keuls, para expressão estatística.

c) Lesão gástrica aguda induzida por indometacina (DJAHANGUIRI, 1969).

Esta investigação se deu através do uso de camundongos “*Swiss*”, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Os animais foram colocados em jejum por um período de 15 horas, em seguida, pesados e identificados. Administrou-se tratamento com o EHFCC (250, 500 e 750 mg/Kg, v.o.), o omeprazol (30 mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g para o grupo controle negativo). A quantidade de doses do extrato foi reduzida com o objetivo de minimizar o sacrifício de

animais. Após uma hora foi administrado subcutaneamente a indometacina (10 mg/Kg) e após três horas da administração do agente lesivo, foram repetidos os tratamentos com o veículo, o extrato e o omeprazol. Seis horas após a administração da indometacina, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, as imagens foram escaneadas e digitalizadas, com posterior análise através do “*software*” (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Student Newman-Keuls, para expressão estatística.

d) Estudo dos Possíveis Mecanismos Envolvidos na Atividade Gastroprotetora do EHFCC

Para fins de estudo dos mecanismos possivelmente envolvidos no efeito gastroprotetor do EHFCC, empregou-se a dose eleita como a mais efetiva, sendo eleita a dose de 75 mg/Kg do EHFCC, a partir do “*screening*” de doses realizado com a administração via oral de etanol acidificado. Assim, testaram-se cinco mecanismos de provável ação gastroprotetora do extrato.

- Avaliação do envolvimento do Óxido Nítrico (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Utilizaram-se camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00 h, tratados com EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), L-NAME (10 mg/kg, i.p.), L-Arginina (600mg/Kg v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 30 min ou 1h antes da administração etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento do óxido nítrico foi avaliado pela administração do EHFCC (75 mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00 h antes do L-NAME, sendo que após 30 min deste foi administrado etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos analisados como descrito anteriormente. O controle lesionado recebeu solução salina (0,2 ml/animal) 30 min antes da administração do etanol e após, 30 min, o sacrifício. Um grupo de animais recebeu EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) 01:00 h antes do etanol e este, 30 min antes do sacrifício.

Empregou-se ainda, L-Arginina (600 mg/Kg v.o.) 01:00 h antes do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e decorridos 30 min da administração deste, os animais foram sacrificados e, prosseguiu-se a análise dos estômagos. A ação ulcerogênica do L-NAME (através da

inibição da síntese de óxido nítrico) foi testada a partir da administração deste, 30 min antes do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e após 30 min deste último, procedeu-se ao sacrifício. Utilizou-se o programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Envolvimento dos Canais de K⁺ dependentes de ATP (RAHGOZAR *et al*, 2001)

Foram empregados camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=6), tratados com EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), Glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g, v.o.) 30 min antes da administração etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento dos canais de potássio dependentes de ATP foi avaliado pela administração do EHFCC (75 mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01 h antes da Glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) e após 30 minutos, administrou-se o etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 min da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo. O grupo controle foi tratado pela administração de Glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) 30 min antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e com 30 min, os animais receberam o sacrifício. Empregou-se o “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Student Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Estudo do envolvimento das Prostaglandinas (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Utilizaram-se camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00 h, tratados com EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), Indometacina (10 mg/kg, v.o.), Misoprostol (0,016 mg/Kg, v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10g, v.o.) 1:00 h-2:00 h antes da administração etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento das prostaglandinas foi avaliado pela administração do EHFCC (75 mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00 h antes da Indometacina (10 mg/kg, v.o.), sendo que após 02:00 h desta foi administrado etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos analisados. O controle lesionado recebeu solução salina (0,2 ml/animal) 30 min antes da administração do etanol e após, 30 min, o sacrifício. Um grupo de animais recebeu EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) 01:00 h antes do etanol e este, 30 min antes do sacrifício.

Empregou-se também o Misoprostol (0,016 mg/Kg v.o.) 01:00 h antes do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e decorridos 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados e, prosseguiu-se a análise dos estômagos. O efeito ulcerogênico da Indometacina (através da inibição da síntese de prostaglandinas) foi testado a partir da administração desta, 2 h antes do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e após 30 min, procedeu-se ao sacrifício. Empregou-se o programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Envolvimento dos receptores noradrenérgicos alfa₂ (LAPA *et al*, 2008)

Foram empregados camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=6), tratados com EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), ioimbina (2 mg/kg, i.p.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g, v.o.) 30 min antes da administração etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento dos receptores noradrenérgicos alfa₂ foi avaliado pela administração do EHFCC (75 mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01 h antes da ioimbina (2 mg/kg, i.p.) e após 30 min, administrou-se o etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 min da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo. O grupo controle foi tratado pela administração de ioimbina (2 mg/kg, i.p.) 30 min antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) e com 30 min, os animais receberam o sacrifício. Empregou-se o programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Student Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Efeito do EHFCC em Associação à Capsaicina (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

Para avaliação do possível efeito potencializador do EHFCC em associação à Capsaicina, foram empregados camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00 h, tratados com EHFCC (7,5 mg/Kg, v.o.), Capsaicina (0,2 mg/kg, v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g v.o.) 01:00 h ou 30 min antes da administração etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.).

Administrou-se o EHFCC (7,5 mg/Kg; v.o. – Grupo tratado) 01:00 h antes da Capsaicina (0,2 mg/kg, v.o.) e após 01:00 h, administrou-se o etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 min da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo. Um grupo foi tratado pela administração de

Capsaicina (0,2 mg/kg; v.o.) e outro desta mesma substância na dose de 4 mg/Kg; v.o., 01:00h antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal; v.o.) e com 30 min, os animais receberam o sacrifício. O grupo controle recebeu solução salina a 0,9%, (0,1 ml/10 g; v.o.) 30 min antes da administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal; v.o.) e decorridos 30 min deste, os animais foram sacrificados. Empregou-se o Programa “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

3.2.2.3 Determinação da Motilidade Intestinal (LAPA *et al*, 2008)

Para fins dessa investigação foram utilizados camundongos “*Swiss*”, ambos os sexos, divididos em grupos (n=10), os quais foram tratados com EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), veículo (solução salina a 0,9%, 0,1 ml/10 g, v.o.), atropina (0,01 g/Kg, v.o.) e carvão ativado a 10% (0,1 ml/10 g, v.o.). Procedeu-se a administração do EHFCC (Grupo tratado), da atropina (Grupo controle positivo) e veículo (Grupo controle), após 1 h, administrou-se o carvão e decorridos 30 min desse, efetuou-se o sacrifício dos animais, os quais tiveram seus estômagos e intestino delgado removidos, procedendo-se então, a medição do comprimento total do intestino (da região gastropilórica até a junção ileocecal) e a distância percorrida pelo carvão do piloro à última porção do intestino que conteve pelo menos 1 cm contínuo de carvão calculando a razão do último pelo primeiro.

3.2.2.4 Investigação da Atividade Antibacteriana

a) Linhagens bacterianas (COUTINHO *et al.*, 2005)

Foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *Escherichia coli* (EC27) e *Staphylococcus aureus* (SA358) com perfil de resistência identificado na tabela 1. Todas as cepas foram mantidas em “*slants*” com “*Heart Infusion Agar*” (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes do ensaio, as células foram cultivadas durante a noite a 37°C em “*Brain Heart Infusion*”- BHI (COUTINHO *et al.*, 2005).

Tabela 1. Origem Bacteriana e Perfil de Resistência a antibióticos.

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>E. coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Aztreonan; Amoxicilina; Ampicilina; Amicacina; Amoxicilina; Cefadroxil; Cefaclor; Cefalotina; Ceftazidima; Ciprofloxacina; Cloranfenicol; Imipenem; Kanamicina; Sulfametrim; Tetraciclina; Tobramicina.
<i>S. aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxacilina; Oxacilina; Tobramicina, Amicacina, Kanamicina, Neomicina; Paramomicina; Butirosina; Sisomicina; Netilmicina.

b) Teste de suscetibilidade às drogas (JAVADPOUR *et al.*, 1996).

Conforme Javadpour *et al.*, 1996, a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato foi determinada em um ensaio de microdiluição, utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem bacteriana, suspensas em caldo BHI até uma concentração final de 10^5 “*colony-forming units*”/ mL em placas de microdiluição com 96 poços, com diluições em série $1/2$. Em cada poço foi adicionado 100 µL de solução do extrato. As concentrações finais do extrato foram 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8 µg/mL. As CIM_s foram registradas como as menores concentrações para inibição do crescimento bacteriano.

O efeito potencializador do EHFCC foi testado em combinação com os aminoglicosídeos (Gentamicina, Canamicina, Neomicina e Amicacina) pela técnica de microdiluição, nas concentrações finais de 2500, 1250, 625, 312, 156.5, 79, 39, 19.5, 9.7, 4.9, 2.5 µg/mL.

As placas foram incubadas aerobicamente por 24 horas a uma temperatura de 37°C.

3.2.3 Expressão dos Dados e Análise Estatística

Os dados estão representados como as médias e o desvio padrão. O nível de significância utilizado foi de 0,05. As diferenças entre as médias estão determinadas através da análise de variância (ANOVA). Empregou-se o teste de significância estatística “*Student Newman-Keuls*”. As análises foram realizadas a partir do “*Software GraphPad Prism*” versão 5.0.

3.3 Aspectos Éticos do Estudo

A adoção de procedimentos éticos rigorosos e o seguimento de protocolos validados para ensaios farmacológicos com animais e pesquisa envolvendo seres humanos, que nortearam o desenrolar da pesquisa, justificam-se pelo entendimento por parte dos pesquisadores, de que não se concebem a realização de estudos que desrespeitam as recomendações e consensos éticos.

O estudo esteve em conformidade com as normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo seres vivos: humanos (Resolução Nº 196/1996 e 301/2000 do Conselho Nacional de Saúde – CNS), animais não-humanos (“*Guide for the care and use of laboratory animals*”, do NIH – “*National Institute of Health-EUA*”, 1996; Princípio dos 3R’s – “*Replace, Reduce and Refine*”, de Russel e Burch, 1959; Lei Federal Nº 11.794/2008; Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA); e integridade da fauna e flora (Lei Federal Nº 9605/1998) (BAZZANO, 2006; MACHADO *et al*, 2006; BRASIL, 2006, 2008).

Desta forma, a pesquisa foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ e recebeu parecer favorável sob número de processo: 2009_0432_FR 271610 (ANEXO 1).

3.4 Instituições Parceiras e Financiamento

A realização desse estudo contou com o apoio dos profissionais do Biotério da Faculdade de Ciências Aplicadas Dr. Leão Sampaio; Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ); Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) e Laboratório de Farmacologia e Química Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA.

Os recursos financeiros foram advindos do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da URCA e ainda, recursos próprios dos pesquisadores envolvidos diretamente na investigação.

3.5 Normatização do texto

Na elaboração deste relatório de pesquisa utilizou-se a recomendação da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (2007) conforme a NBR 6024 (1989), NBR 6034 (1989), NBR 6023 (1990), NBR 6027 (1989), NBR 6028 (1990), NBR 6023 (2002), NBR 10520 (2002) e NBR 14724 (2005). Para as tabelas e gráficos foram confeccionados conforme a Norma de Apresentação Tabular do IBGE (1993).

4 RESULTADOS

4.1 Prospecção Fitoquímica

Na presente investigação, a prospecção fitoquímica do EHFCC permitiu identificar a presença de taninos flobatênicos, flavonas, flavonóis, flavononóis, xantonas, flavononas, alcalóides e terpenos, possivelmente envolvidos nas propriedades bioativas avaliadas, conforme evidenciado na Tabela 2.

Tabela 2. Prospecção Fitoquímica do extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas de *Croton campestris* A. St.-Hill.

CLASSES DE METABÓLITOS	(+) presença (-) ausência
Fenóis	-
Taninos Pirogálicos	-
Taninos Flobatênicos	+
Antocianinas	-
Antocianidinas	-
Flavonas	+
Flavonóis	+
Xantonas	+
Chalconas	-
Auronas	-
Flavononóis	+
Leucoantocianidinas	-
Catequinas	-
Flavononas	+
Alcalóides	+
Terpenos	+
Esteróides	-

4.2 Dados da Pesquisa Etnofarmacológica

Informantes

As características referentes aos informantes (n=29) se encontram elencadas na Tabela 3, a qual evidencia prevalência geográfica, 15 (51,72%) entrevistados para o Município de Santana do Cariri – CE, e também 14 (45,1%) destes situados na faixa etária de 43-58 anos, 05 (17,24%) apresentando entre 50 e com menos de 60 anos e 05 (17,24%) apresentando mais de 60 e com menos de 75 anos de residência na área, 15 (51,72%)

participantes do sexo masculino, 24 (82,75%) exercem a ocupação de agricultores e 20 (68,96%) informaram não exercer atividade laboral com plantas medicinais.

Tabela 3: Perfil dos informantes da espécie *Croton campestris* A. St.-Hill. (Velame do campo) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.

Município	Localidade	n	%
Crato - CE	Sítio Matinha	02	6,90
	Sítio Mata Velha	06	20,69
	Sítio Barreiro Grande	05	17,24
	Sítio Baixa da Garganta	01	3,45
Santana do Cariri - CE	Sítio Lírio	03	10,34
	Sítio Guritiba	12	41,38
Faixa etária			
	22-38	06	19,4
	43-58	14	45,1
	60-80	11	35,5
Sexo			
	Masculino	15	51,72
	Feminino	14	48,28
Tempo de residência na área			
	< 5 anos	03	10,34
	≥ 5 < 10 anos	02	6,90
	≥ 10 < 20 anos	03	10,34
	≥ 20 < 30 anos	04	13,80
	> 30 < 40 anos	03	10,34
	> 40 < 50 anos	04	13,80
	≥ 50 < 60 anos	05	17,24
	> 60 < 75 anos	05	17,24
Ocupação			
	Agricultor (a)	24	82,75
	Cozinheira	01	3,45
	Domestica	01	3,45
	Comerciante	01	3,45
	Merendeira	01	3,45
	Agente comunitário de saúde	01	3,45
Atividade laboral com plantas medicinais			
	Sim	08	27,59
	Não	20	68,96
	Não informado	01	3,45

Dados Etnofarmacológicos da espécie *Croton campestris* A.St.-Hill.

O nível de fidelidade identificado para a espécie *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo) referente ao uso medicinal nas duas localidades investigadas (Crato e Santana do Cariri – CE) se encontra disposto na Tabela 4. Dentre as indicações medicinais relatadas, os usos para distúrbios hematológicos (Depurativo) e inflamação são apontados,

respectivamente, para Crato e Santana do Cariri, apresentando níveis de fidelidade de 55,17% e 41,37%, respectivamente, sendo os maiores para estes municípios. Merece destaque também o uso para dermatoses, com nível de fidelidade de 37,93% para Crato, e para gripe, ferimentos e distúrbios hematológicos (depurativo), todos com nível de fidelidade de 28,54% em Santana do Cariri. A indicação para gastrite é referida na localidade de Santana do Cariri, com nível de fidelidade de 7,16%.

Tabela 4: Comparação do Nível de Fidelidade (FL) sobre as indicações medicinais do *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.

CRATO - CE		SANTANA DO CARIRI – CE	
DOENÇAS	FL	DOENÇAS	FL
Distúrbios hematológicos (efeito depurativo)	55.17	Inflamação	41.37
Dermatoses	37.93	Gripe	28.54
Ferimentos	24.13	Ferimentos	28.54
Inflamação	24.13	Distúrbios hematológicos (efeito depurativo)	28.54
Gripe	24.13	Alergias	21.37
Febre	24.13	Dermatoses	14.21
Lesões provocadas por animais peçonhentos	13.79	Infecção	7.16
Dores	24.13	Sinusite	7.16
Distúrbios renais	6.89	Febre	7.16
Cefaléia	6.89	Gastrite	7.16
Odontalgia	6.89		
Limpeza ocular	6.89		

A Frequência Relativa de Citação (FRC) foi de 0,48 no município de Crato e 0,52 em Santana do Cariri-CE, com RFC total de 1,00.

A Figura 6 apresenta a descrição sobre as partes da planta utilizadas pelos informantes para fins medicinais. Assim, as raízes da espécie *Croton campestris* A.St.-Hill. constituem a parte mais amplamente utilizada (74 %), seguida pelas folhas (19 %) e cascas (7 %).

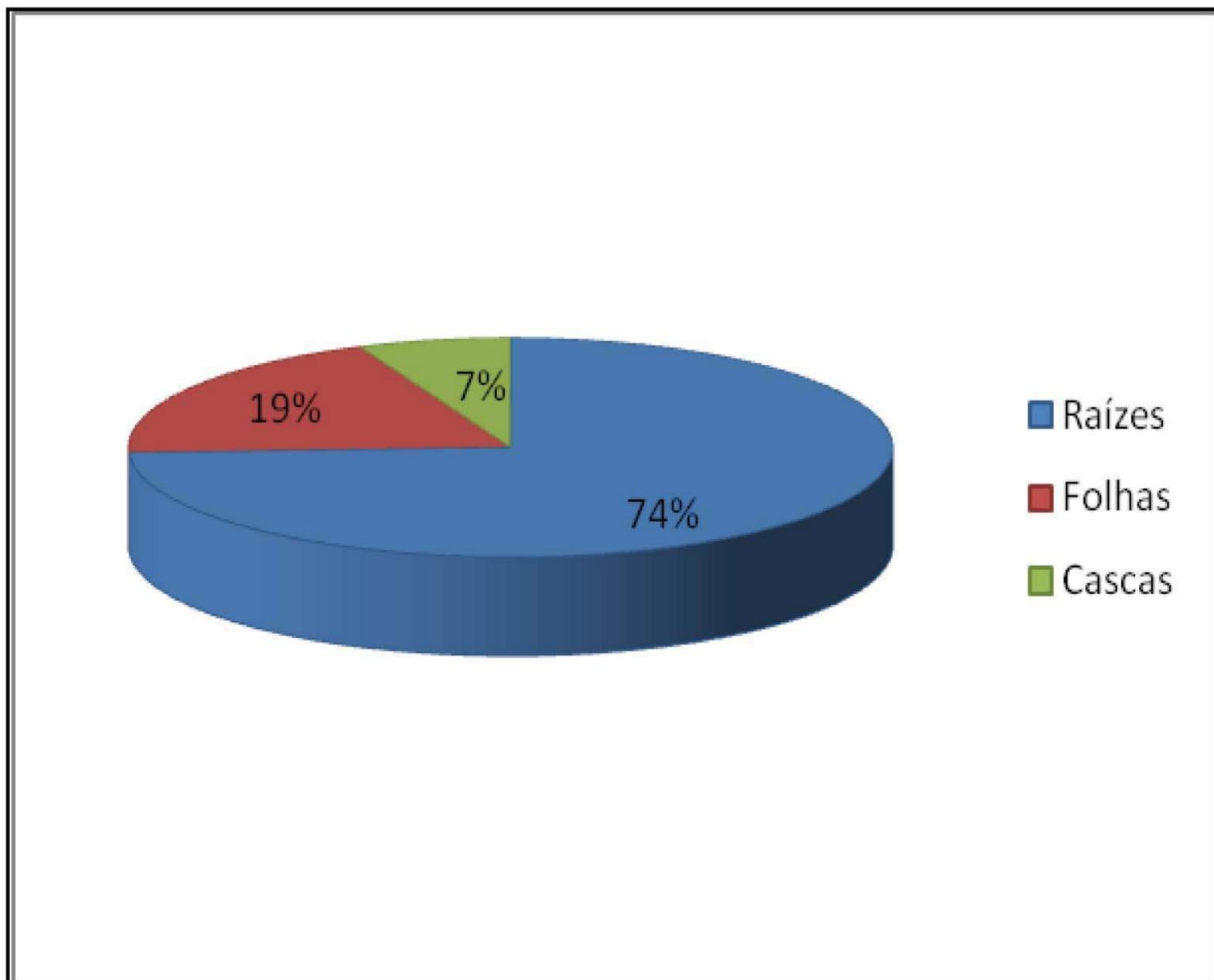


Figura 6. Partes da planta utilizadas do *Croton campestris* A. St.-Hill. (Velame do campo).

O modo de preparo medicinal para a espécie *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo) também foi objeto de investigação, estando descrito na Figura 7. Observou-se que a imersão em água e decocto com água representaram os modos mais prevalentes, estes situados em 48 % e 33 %, respectivamente.

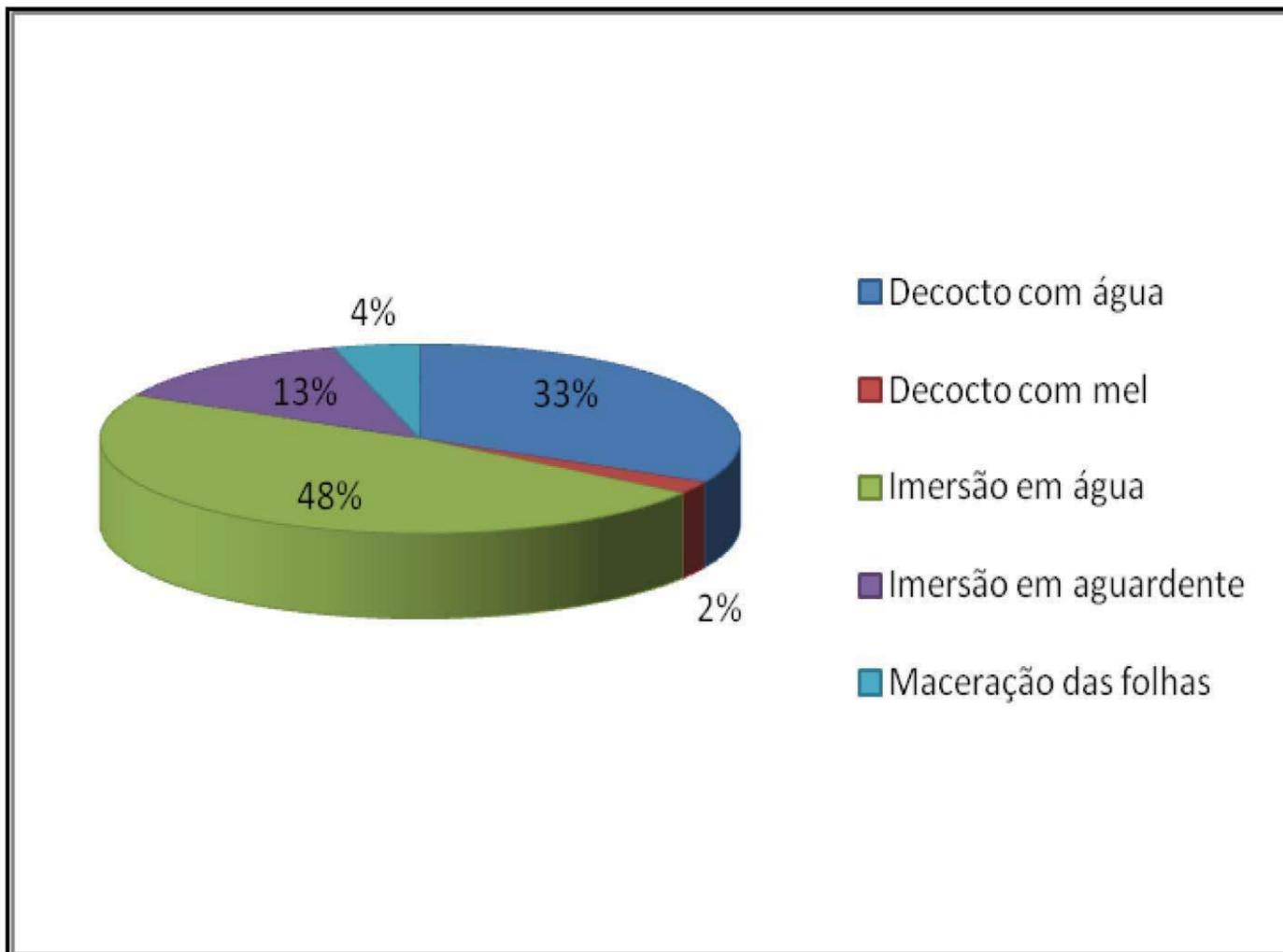


Figura 7: Modo de preparo para uso medicinal do *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo).

Os métodos de aplicação medicinal da espécie foram descritos pelas comunidades e se encontram reunidos na Figura 8. Desta forma, os modos de aplicação mais amplamente empregados para a espécie foram à ingestão oral, o banho e a aplicação tópica, sendo relatados os seguintes percentuais: 55, 19 e 18 %, respectivamente.

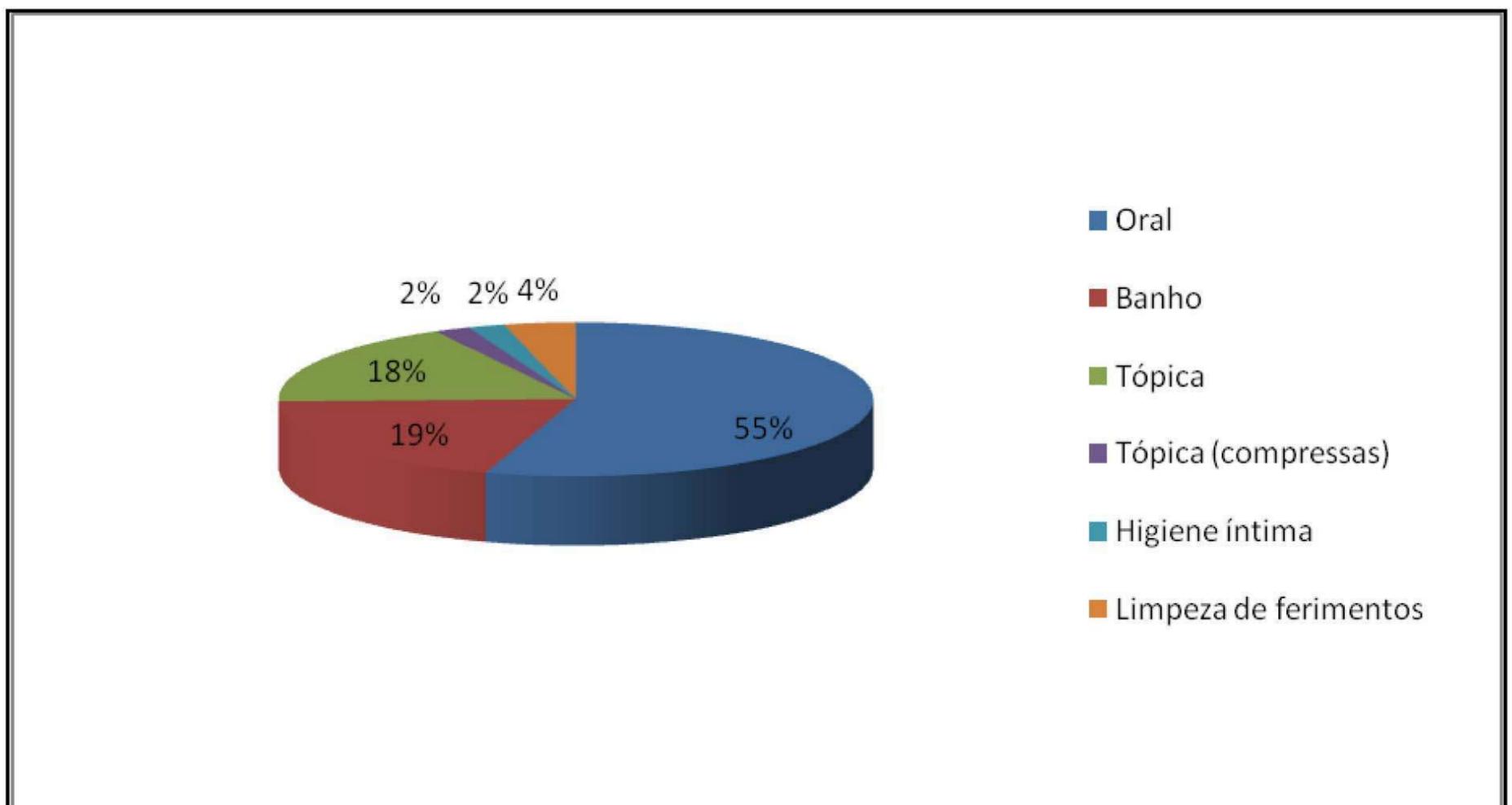


Figura 8: Métodos de aplicação medicinal do *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo).

Buscou-se ainda, identificar a relação entre a indicação medicinal, a duração do tratamento e a frequência de doses empregadas no uso medicinal da espécie, aspectos estes descritos na Tabela 5.

Observou-se, portanto, para cada afecção referida, uma variação na duração da terapêutica e na frequência das doses. Com também, em relação ao tempo de tratamento empregado, pode-se verificar que este variou desde indeterminado até 08 dias, e ainda que a frequência da dose ficou situada entre 1 a 3 vezes por dia.

Em geral, para os processos inflamatórios/infecciosos e ferimentos o tratamento empregado pelas comunidades foi de 06 dias e a frequência da dose situada em 3 vezes/dia. Para a terapia antiúlcera/gastrite, o tratamento teria a mesma duração (06 dias), sendo a dose administrada 1 vez/dia. Para os processos álgicos, a terapia tem duração indeterminada, com dose de 2 vezes/dia.

Tabela 5: Indicação medicinal *versus* duração do tratamento e frequência da dose da espécie *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo)

Indicação	Duração do tratamento	Frequência da dose
Gastrite/úlcera	06 dias	01 vez/dia
Infecção/inflamação e ferimentos	05 dias	03 vezes/dia
Depurativo	03 dias	01 vez/dia
Dor	Indeterminada	02 vezes/dia
Dor osteomuscular	Indeterminada	02 vezes/dia
Dermatoses	07 dias	02 vezes/dia
Doenças pulmonares	08 dias	01 vez/dia
Alergia	08 dias	01 vez/dia
Afecções oculares	2-3 dias	2-3 vezes/dia

Os dados etnofarmacológicos sobre a espécie foram complementados com a investigação de possíveis restrições aos seus usos, a partir dos informantes, conforme elucidado na Figura 9. Dessa forma, merece destaque o fato dos informantes terem mencionado que a espécie não apresenta restrições ao uso, sendo esta informação prevalente, representando 70 %, seguida da restrição em gestantes, esta com 15 %.

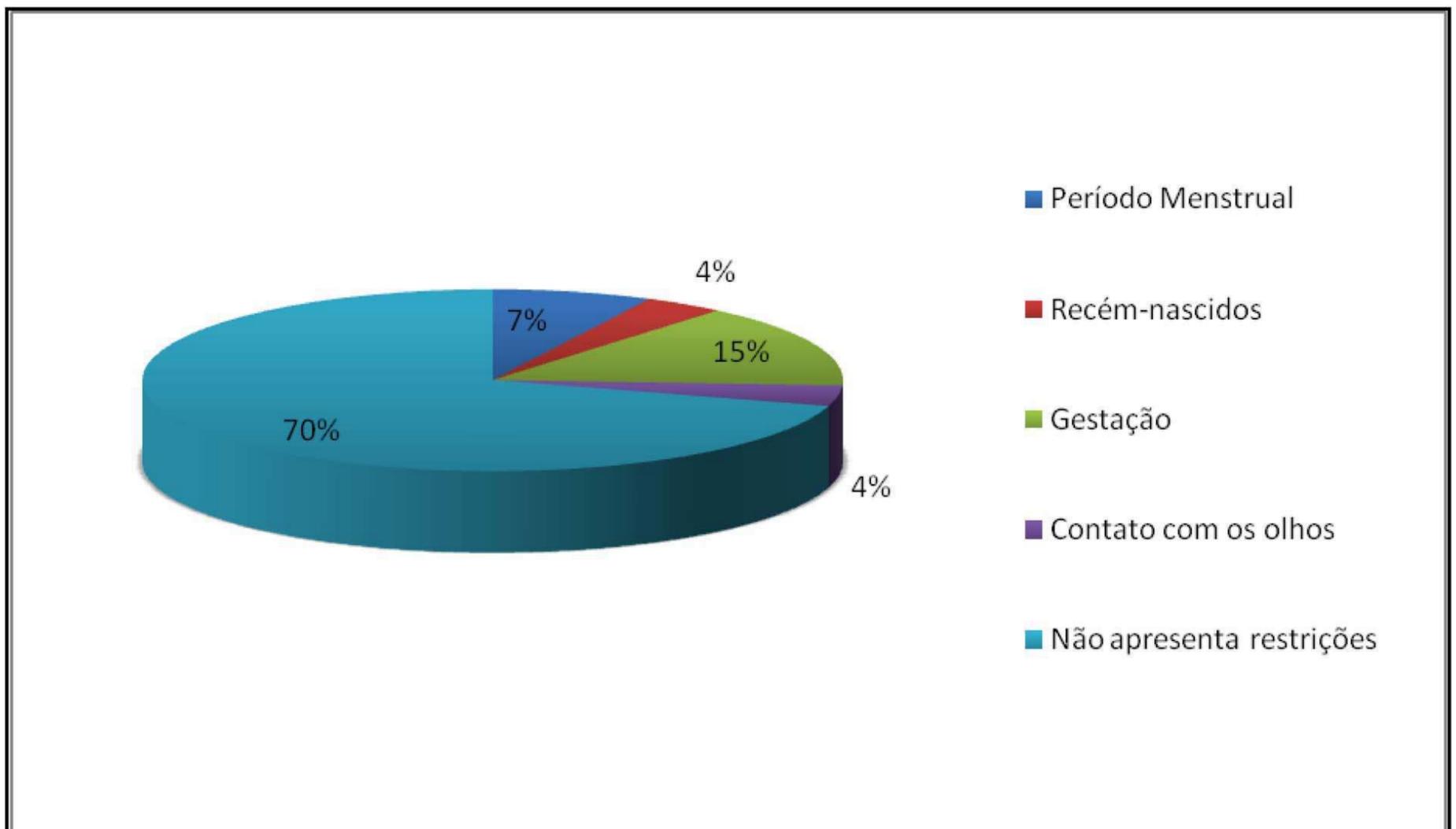


Figura 9: Restrições ao uso medicinal do *Croton campestris* A.St.-Hill. (Velame do campo).

4.3 Toxicidade Aguda do EHFCC

O estudo de toxicidade aguda pré-clínica deve indicar qual o grau de confiança a ser depositado em um medicamento a ser administrado à espécie humana. Os resultados apresentados no ensaio com o EHFCC não demonstraram indícios de toxicidade aguda.

O monitoramento diário do peso dos animais não indicou variação significativa em relação ao grupo controle (salina). Não ocorreram sinais de morbidade ou morte seguida à administração, nem durante o período de observação e pesagem (14 dias pós-tratamento) no grupo tratado por via oral, e no grupo intraperitoneal, com exceção do animal que recebeu a dosagem de 5000mg/Kg i.p., o qual foi a óbito imediato após a administração. A dose letal mediana ($DL_{50\%}$) para a administração intraperitoneal do EHFCC é de 3162,28 mg/Kg, e a $DL_{50\%}$ via oral é maior ou igual a 5000 mg/Kg, com intervalo de confiança de 95 %.

Os animais que receberam as doses por via oral demonstraram diminuição da atividade e dispnéia leve, demonstrando recuperação em quatro horas. No grupo tratado com as doses de 17,5, 55, 175, 550 e 2000 mg/Kg por via intraperitoneal, os animais apresentaram o mesmo comportamento do grupo via oral, exceção feita ao animal tratado com 5000 mg/Kg (i.p.), o qual manifestou tremores evoluindo para estado de inconsciência seguida de morte.

4.4 Atividade Microbiológica do EHFCC

O EHFCC demonstrou atividade antimicrobiana sem significância clínica contra as linhagens bacterianas testadas, com valor de CIM ≥ 1024 .

O EHFCC na concentração de 128 μ l/ml foi combinado com os antibióticos testados (Tabela 6) demonstrando efeito potencializador importante quanto à ação antibacteriana das drogas utilizadas para controle.

Tabela 6. Valores de CIM (μ g/ml) de aminoglicosídeos na presença e ausência de 128 μ g/mL de EHFCC contra linhagens de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.

Antibióticos	EC 27		SA358	
	CIM + ATB*	CIM + EHFCC (128 μ g/mL)	CIM	CIM + EHFCC
Gentamicina	2500	2,4	39	9,7
Canamicina	2500	156,2	2500	156,2
Amicacina	156,2	19,5	78,1	9,7
Neomicina	312,5	9,7	312,5	39

CIM = Concentração Inibitória Mínima do EHFCC ($\geq 1024\mu$ g/mL)

ATB = Antibióticos.

4.5 Dados sobre o Efeito Antiulcerogênico e Mecanismos de Ação Gastroprotetora do EHFCC

4.5.1 Efeito da administração oral do EHFCC em lesões gástricas induzidas pela administração de etanol absoluto em camundongos.

Os efeitos do EHFCC em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) estão demonstrados na Figura 10 e os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 20 (Anexo B). Assim, os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram extensa área de lesão gástrica (18,57 \pm 1,87%). O EHFCC apresentou redução significativa nas áreas lesionadas

etanol_{abs}, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 50 mg/Kg ($1,34 \pm 0,66\%$ e $92,78\%$), 75 mg/Kg ($1,11 \pm 0,67\%$ e $94,02\%$), 125 mg/Kg ($0,93 \pm 0,43\%$ e $94,99\%$), 250 mg/Kg ($0,87 \pm 0,54\%$ e $95,31\%$), 500 mg/Kg ($0,82 \pm 0,31\%$ e $95,58\%$) e 750 mg/Kg ($0,53 \pm 0,16\%$ e $97,14\%$), respectivamente, evidenciando valores de $p < 0,001$ em todas as doses quando comparado ao controle. Os animais que receberam omeprazol (30 mg/Kg, v.o.) também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de úlceras, sendo estes de $0,78 \pm 0,34\%$ e $95,79\%$, respectivamente, com valores de $p < 0,001$, quando comparado ao controle. Dados sintetizados na Tabela 7 (Anexo A).

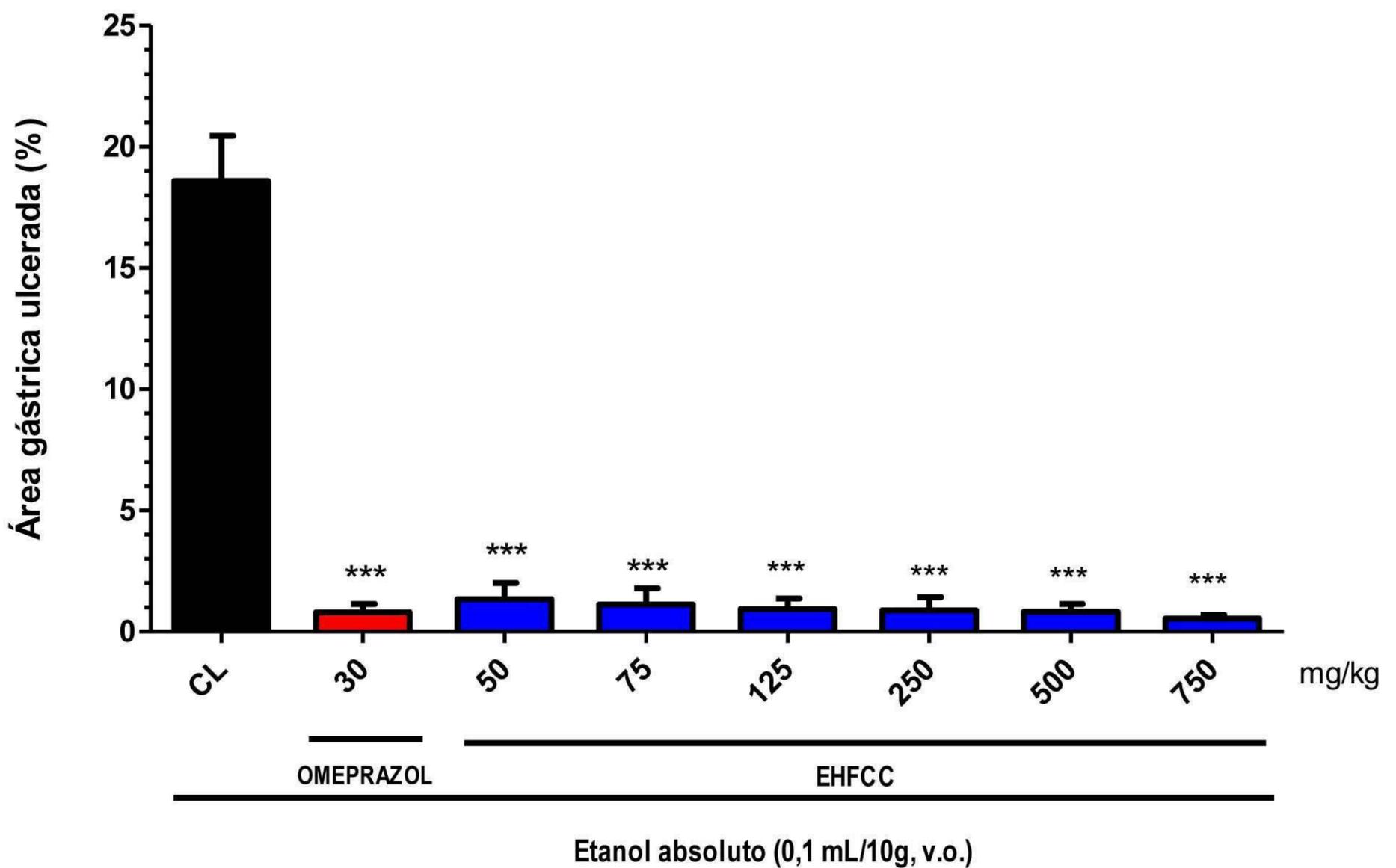


Figura 10. Efeito da administração oral do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.), o EHFCC (50, 75, 125, 250, 500, e 750 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30 mg/kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e $***p < 0,001$, significante quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

4.5.2 Efeito da administração intraperitoneal do EHFCC em lesões gástricas induzidas pela administração de etanol absoluto em camundongos.

Os efeitos do EHFCC em lesões gástricas induzidas por etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) estão demonstrados na Figura 11. Assim, os animais que receberam somente veículo (i.p.) em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram extensa área de lesão gástrica (26,60±3,43%). O EHFCC foi testado na dose de 75 mg/Kg, i.p., determinada a partir dos estudos da toxicidade do extrato por esta via, apresentando significativo ($p < 0,001$) efeito gastroprotetor, percentual de área ulcerada de 4,17±1,05% e percentual de redução de lesão gástrica de 65,03%. A administração do EHFCC 75 mg/Kg, v.o., não evidenciou diferenças significativas no percentual de área ulcerada (1,11±0,67%) quando comparada à dose de 75mg/Kg, i.p. vs controle lesionado. Dados sintetizados na Tabela 8 (Anexo A).

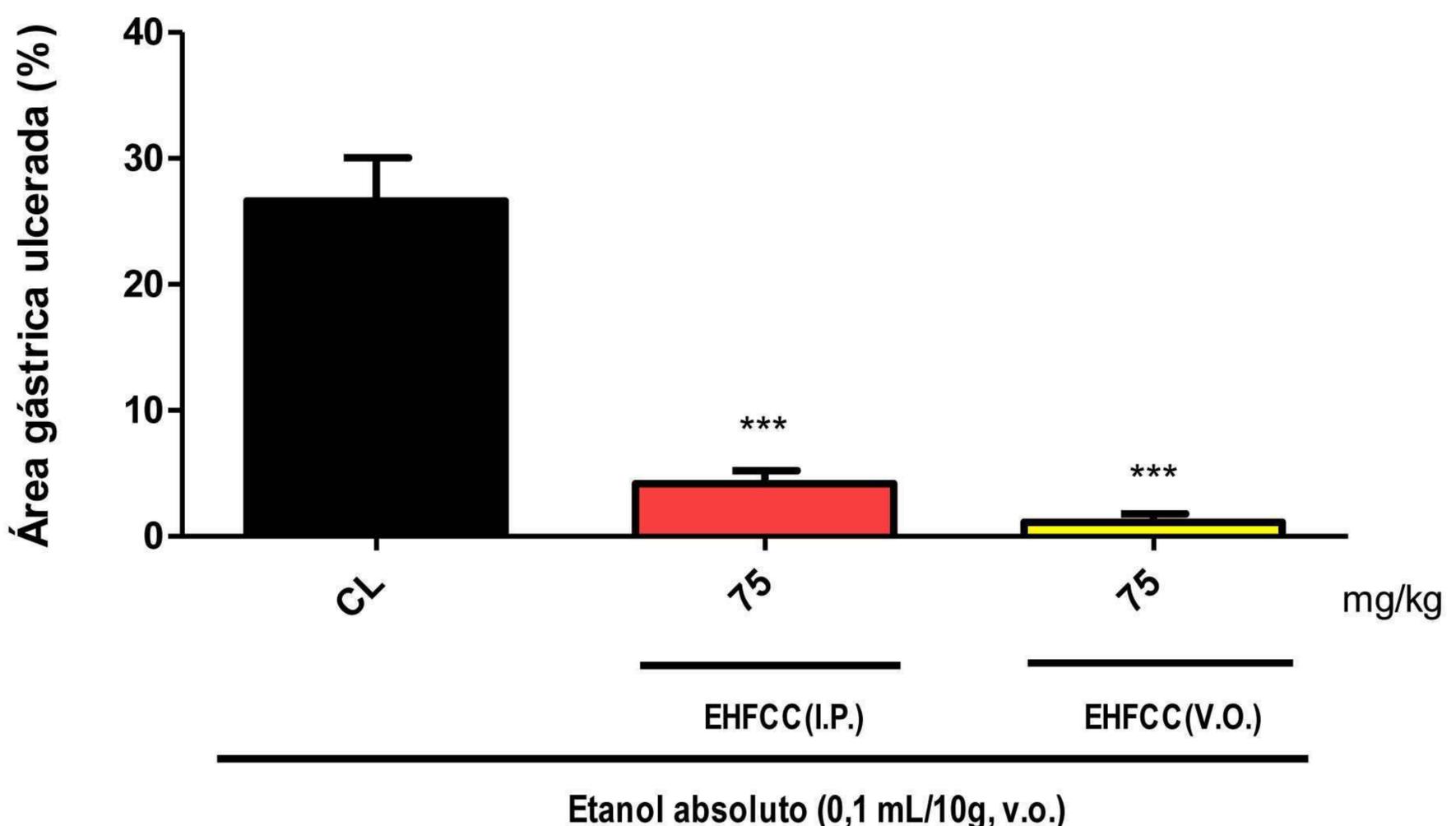


Figura 11 - Efeito da administração intraperitoneal do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10 g, i.p.), o EHFCC (75 mg/Kg, i.p.) e EHFCC (75 mg/Kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significante $p > 0,05$ e $***p < 0,001$ vs CL (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

4.5.3 Efeito do EHFCC em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.

Os efeitos do EHFCC em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado (0,2 mL/animal, v.o.) estão demonstrados na Figura 12 e os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 21 (Anexo B). Desse modo, os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol acidificado obtiveram extensa área de lesão gástrica ($23,19 \pm 3,09\%$). O EHFCC apresentou redução significativa nas áreas lesionadas por administração de etanol acidificado, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 50 mg/Kg ($3,04 \pm 0,80\%$ e $86,89\%$), 75 mg/Kg ($1,94 \pm 0,70\%$ e $91,63\%$), 125 mg/Kg ($1,67 \pm 0,75\%$ e $92,79\%$), 250 mg/Kg ($2,40 \pm 0,99\%$ e $89,65\%$), 500 mg/Kg ($0,52 \pm 0,30\%$ e $97,75\%$) e 750 mg/Kg ($0,59 \pm 0,26\%$ e $97,45\%$), respectivamente, evidenciando valores de $p < 0,001$ em todas as doses quando comparado ao controle. Os animais que receberam omeprazol (30 mg/Kg, v.o.) também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de úlceras, sendo estes de $3,58 \pm 0,56\%$ e $84,56\%$, respectivamente, com valores de $p < 0,001$ comparado ao controle. Dados sintetizados na Tabela 9 (Anexo A).

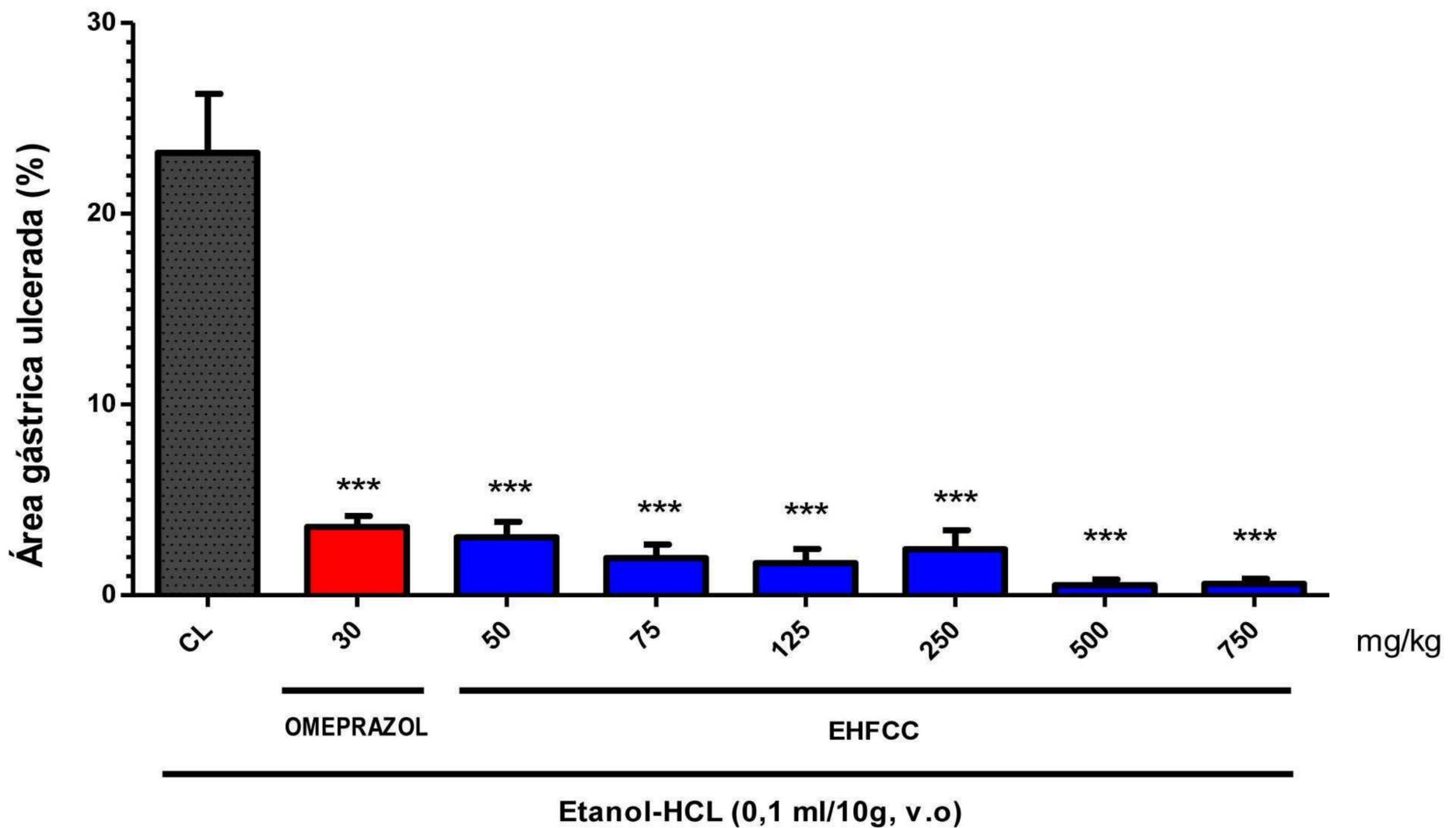


Figura 12. Efeito do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), o EHFCC (50, 75, 125, 250, 500, e 750 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30 mg/kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de uma solução 0,3 M de HCl em etanol 60 %. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significante $p > 0,05$ e *** $p < 0,001$ significativo quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

4.5.4 Efeito do EHFCC em lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina) em camundongos.

Os efeitos do EHFCC em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por indometacina (10 mg/Kg, s.c.) estão demonstrados na Figura 13 e os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 22 (Anexo B). Dessa forma, os animais que receberam somente veículo em associação a administração subcutânea de indometacina obtiveram maior área de lesão gástrica ($12,61 \pm 3,27\%$). O EHFCC apresentou redução significativa nas áreas lesionadas por administração de indometacina, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 250 mg/Kg ($0,63 \pm 0,11\%$ e 95,00%), 500 mg/Kg ($0,33 \pm 0,08\%$ e 97,38%) e 750mg/Kg ($0,47 \pm 0,17\%$ 97,38%), respectivamente, evidenciando valores de $p < 0,001$ em todas as doses quando comparado ao controle. Os animais que receberam omeprazol (30mg/Kg v.o.) também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de

úlceras, sendo estes de $0,40 \pm 0,24\%$ e $96,82\%$, respectivamente, com valores de $p < 0,001$ comparado ao controle. Dados sintetizados na Tabela 10 (Anexo A).

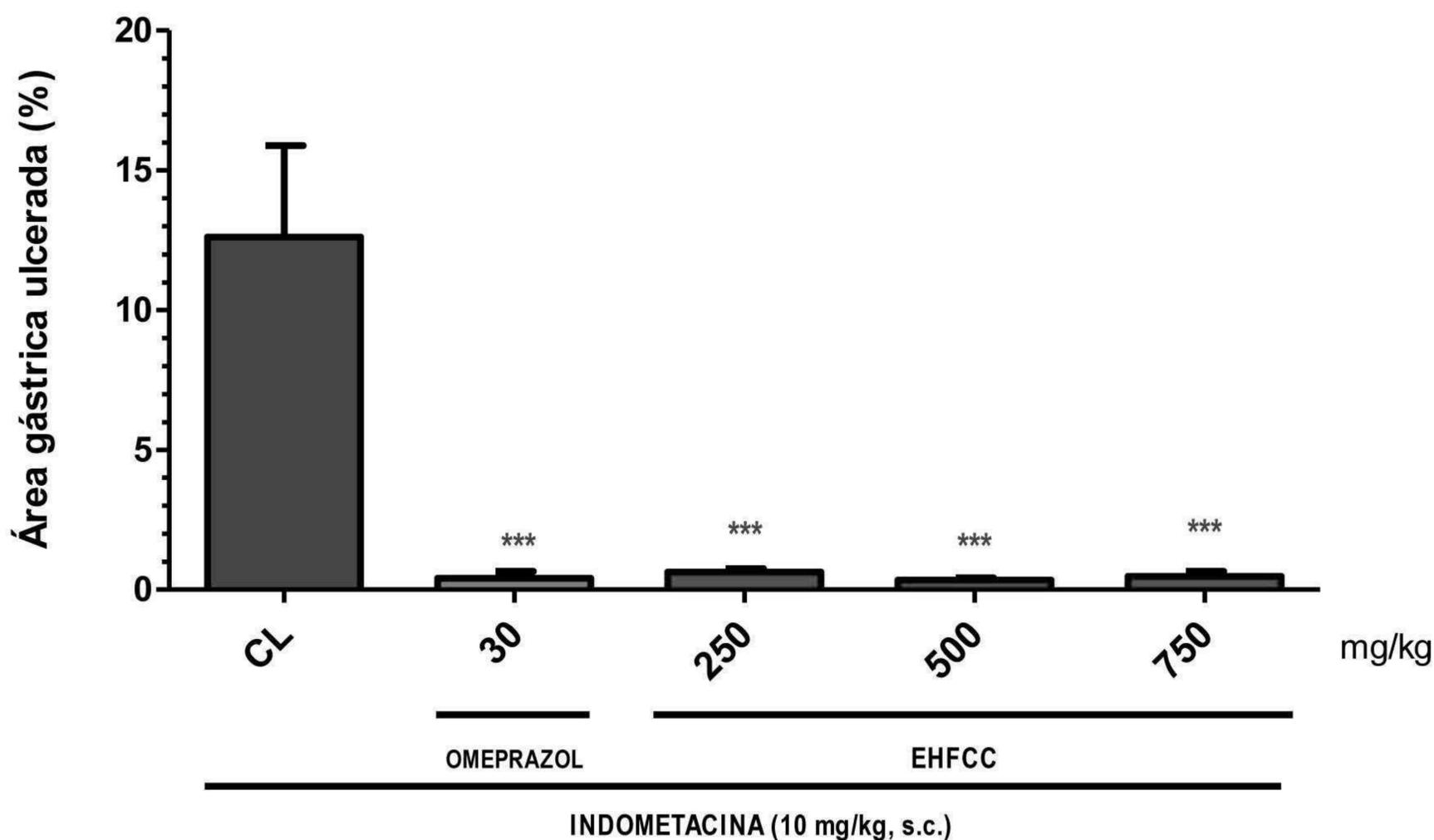


Figura 13. Efeito do EHFCC sobre as lesões gástricas induzidas por DAINÉ (indometacina) em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.), o EHFCC (100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30 mg/kg, v.o.). Uma hora após a administração da indometacina (10 mg/Kg, s.c.) e após três horas, foram repetidos os tratamentos com o veículo, o EHFCC e o omeprazol. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e $***p < 0,001$, significativo quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

4.5.5 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram área de lesão gástrica ($20,52 \pm 2,29\%$). Os animais que receberam L-NAME (10 mg/Kg, i.p.), um inibidor da NOS – óxido nítrico sintetase, associado ao etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) também apresentaram grande percentual de área ulcerada ($28,73 \pm 3,83\%$). Já os animais que receberam L-Arginina (600 mg/Kg, v.o.) em associação ao etanol_{abs} obtiveram redução de área lesionada ($1,47 \pm 0,38\%$), com percentual de redução das úlceras de 92,83%. O EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa ($p < 0,001$) redução de área ulcerada $1,11 \pm 0,67\%$ e percentual de redução de 94,59% quando comparado

ao controle. No entanto, o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) quando associado ao L-NAME (10 mg/Kg, i.p.), teve seu efeito bloqueado demonstrando percentual de área ulcerada de $30,65 \pm 6,55\%$, dados dispostos na Figura 14 e Tabela 11 (Anexo A). E os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 23 (Anexo B).

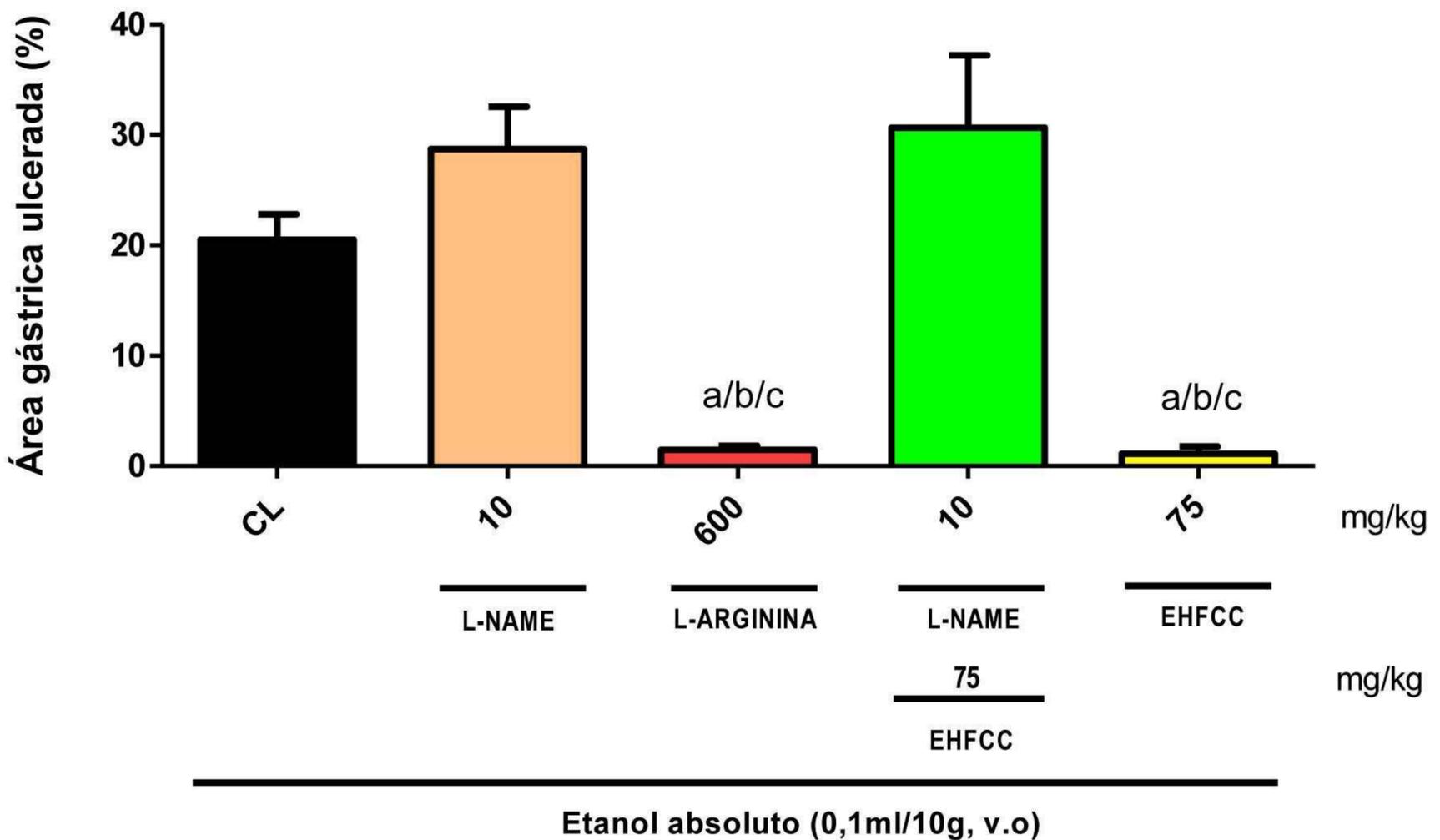


Figura 14: Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Administrou-se tratamento com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) ou veículo (solução salina, 0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, do L-NAME (10 mg/kg, i.p.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e ^a $p < 0,001$ vs CL, ^b $p < 0,001$ vs L-NAME (10 mg/Kg, v.o.) e ^c $p < 0,001$ vs L-NAME (10mg/kg, v.o.) + EHFCC (75mg/kg, v.o.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

4.5.6 Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram área de lesão gástrica ($18,57 \pm 1,87\%$). Os animais que receberam indometacina (10 mg/Kg, s.c.) associada ao etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram percentual de área ulcerada ($13,09 \pm 1,92\%$). Já os animais que receberam misoprostol (0,016 mg/Kg, v.o.) em associação ao etanol_{abs} obtiveram redução de área lesionada ($0,57 \pm 0,25\%$), com percentual de redução das úlceras de 96,95%. O EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) demonstrou

significativa ($p < 0,001$) redução de área ulcerada $1,11 \pm 0,67\%$ e percentual de redução de $94,02\%$ quando comparado ao controle. O EHFCC (75 mg/Kg , v.o.) quando associado à indometacina (10 mg/Kg , s.c), demonstrou percentual de área ulcerada de $3,95 \pm 1.15\%$ e percentual de redução de úlceras de $78,72\%$, dados observados na Figura 15 e Tabela 12 (Anexo A). E os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 24 (Anexo B).

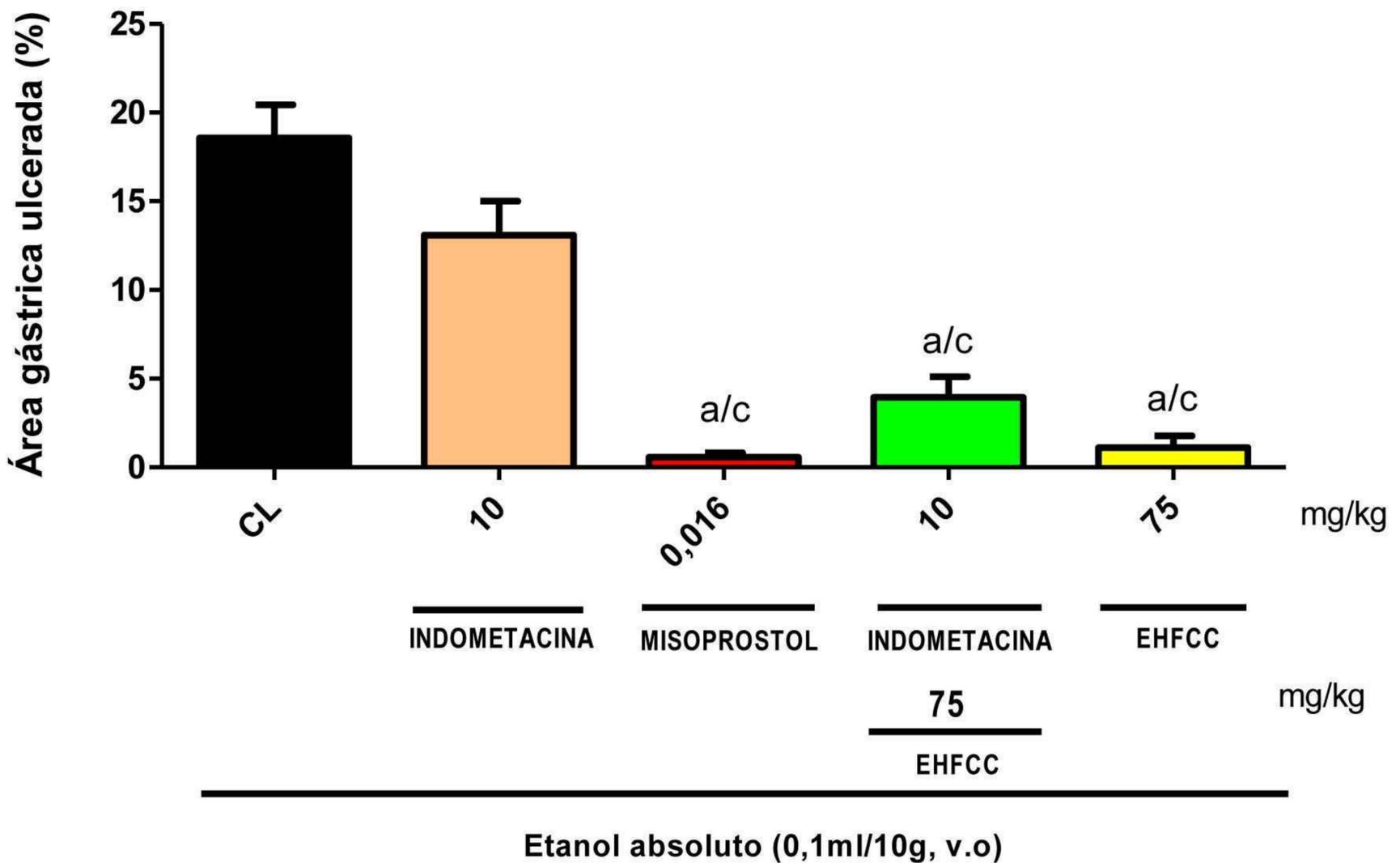


Figura 15. Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Administrou-se tratamento com o EHFCC (75 mg/Kg , v.o.) ou veículo ($0,1 \text{ ml}/10 \text{ g}$ para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da indometacina (10 mg/Kg , v.o.), 2 horas antes da administração do etanol absoluto ($0,2 \text{ mL}/\text{animal}$). Um grupo foi tratado com o EHFCC (75 mg/Kg , v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e ^a $p < 0,001$ vs CL, ^b $p < 0,01$ vs CL, ^c $p < 0,001$ vs indometacina (10 mg/Kg , s.c.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

4.5.7 Papel dos receptores noradrenérgicos α_2 no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram área de lesão gástrica ($23,22 \pm 2,08\%$). Os animais que receberam ioimbina (2 mg/Kg , i.p.) associada ao etanol_{abs} ($0,2 \text{ mL}/\text{animal}$, v.o.) apresentaram extensa área ulcerada ($30,34 \pm 4,96\%$). O EHFCC (75 mg/Kg , v.o.) demonstrou significativa ($p < 0,001$) redução de área ulcerada $0,91 \pm 0,63\%$ e percentual de redução de $96,34\%$ quando

comparado ao controle. E ainda, o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) quando associado à ioimbina (2 mg/Kg, i.p.), demonstrou efeito gastroprotetor de forma significativa ($p < 0,01$) com percentual de área ulcerada ($9,30 \pm 0,59\%$) e percentual de redução de úlceras de 59,94%, dados apresentados na Figura 16 e Tabela 13 (Anexo A). E os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 25 (Anexo B).

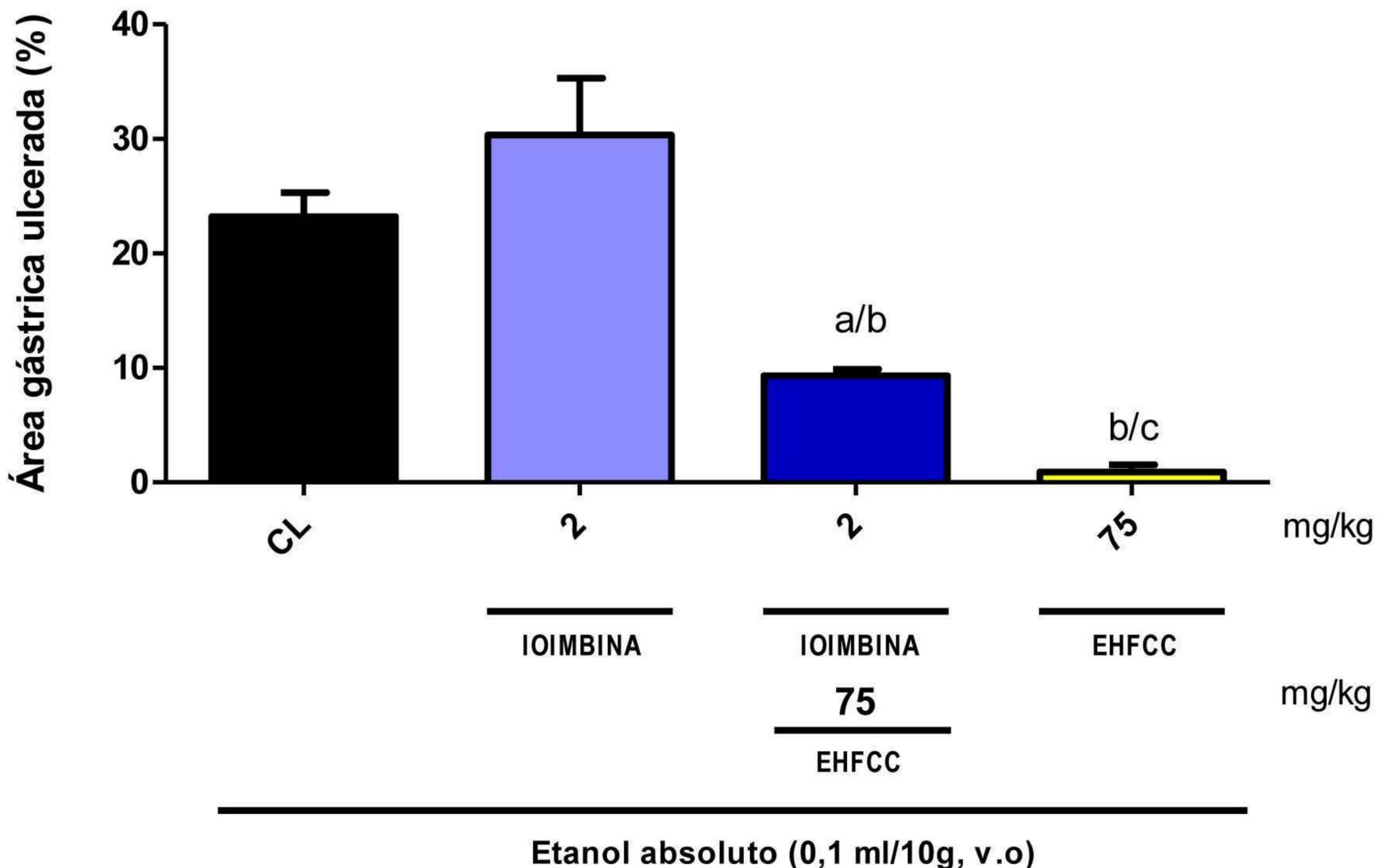


Figura 16. Papel dos receptores noradrenérgicos α_2 no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Administrou-se tratamento com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1 ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da ioimbina (2 mg/Kg, i.p.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e ^a $p < 0,01$ vs CL, ^b $p < 0,001$ vs ioimbina (2mg/kg, i.p.) e ^c $p < 0,001$ vs CL (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

4.5.8 Papel dos canais de K^+ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram área de lesão gástrica ($17,17 \pm 2,44\%$). Os animais que receberam glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.) associada ao etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram área ulcerada ($13,30 \pm 2,25\%$). O EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa ($p < 0,001$) redução de área ulcerada $1,11 \pm 0,67\%$ e percentual de redução de 91,65% quando comparado ao controle. E ainda, o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) quando associado a glibenclamida (5

mg/Kg, i.p.), manteve seu efeito gastroprotetor de forma significativa ($p < 0,001$) com percentual de área ulcerada ($1,23 \pm 0,53\%$) e percentual de redução de úlceras de 90,75%, dados demonstrados na Figura 17 e Tabela 14 (Anexo A). E os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 26 (Anexo B).

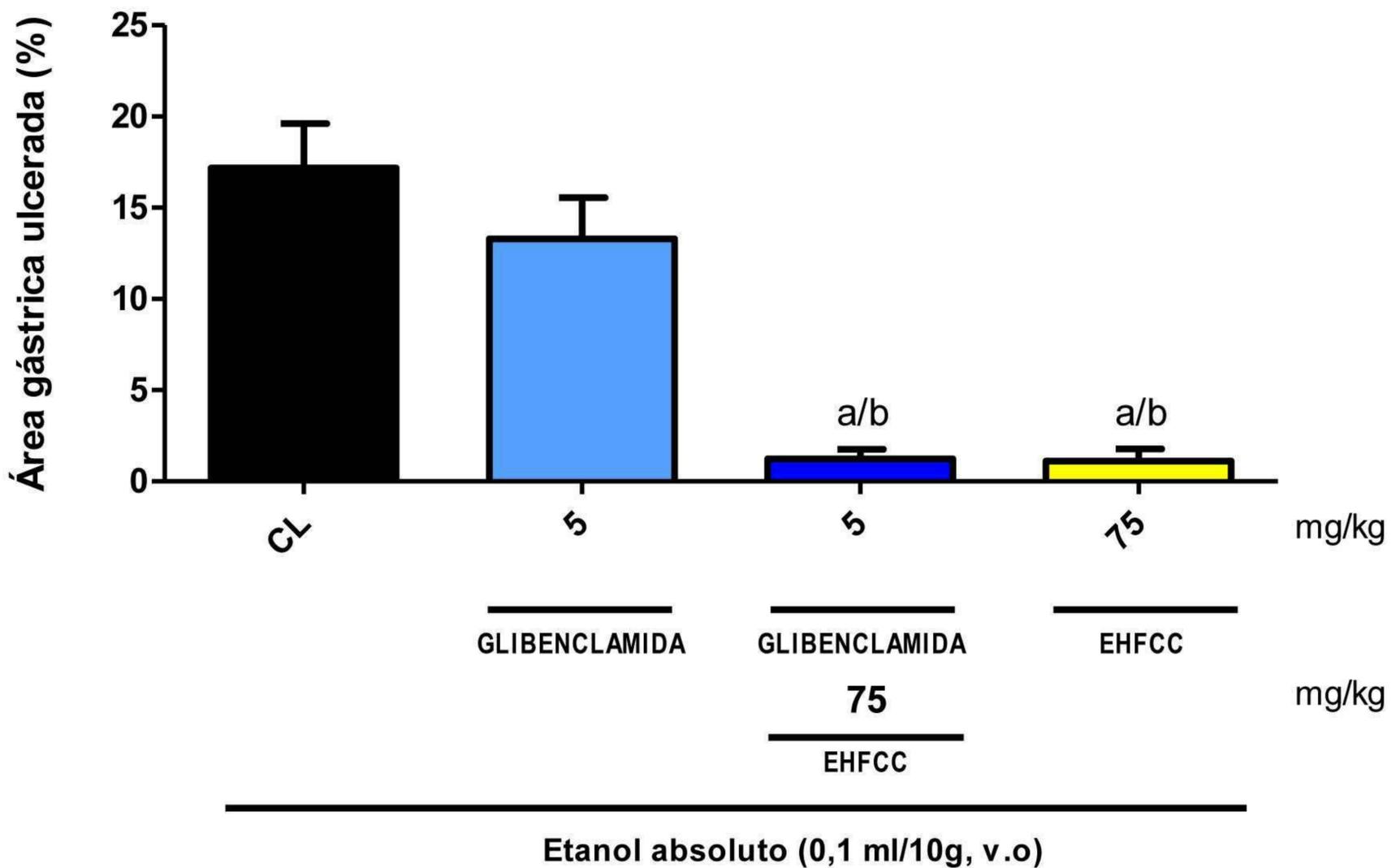


Figura 17. Papel dos Canais de K^+ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Administrou-se tratamento com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1 ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC (75 mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e $^a p < 0,001$ vs CL, $^b p < 0,001$ vs glibenclamida (5mg/kg, i.p.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

4.5.9 Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC em associação à capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação a administração oral de etanol_{abs} obtiveram grande área de lesão gástrica ($23,80 \pm 3,80\%$). Os animais que receberam capsaicina (4 mg/Kg, v.o.) associada ao etanol_{abs} (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram significativa ($p < 0,001$) redução de área ulcerada ($1,60 \pm 0,49\%$) apresentando percentual de redução de 93,27%. O EHFCC (7,5 mg/Kg, v.o.) também demonstrou significativa

($p < 0,001$) redução de área ulcerada $13,19 \pm 1,81\%$ e percentual de redução de $50,17\%$ quando comparado ao controle.

A avaliação do efeito potencializador do EHFCC em associação à Capsaicina foi testado a partir da administração de ambos em baixas doses ($7,5$ e $0,2$ mg/Kg; v.o.), respectivamente, sendo que a associação de EHFCC à Capsaicina, nestas doses, manteve seu efeito gastroprotetor de forma significativa ($p < 0,001$) com percentual de área ulcerada ($2,84 \pm 1,04\%$) e percentual de redução de úlceras de $89,27\%$, dados evidenciados na Figura 18 e Tabela 15 (Anexo A). E os aspectos macroscópicos das mucosas gástricas na Figura 27 (Anexo B).

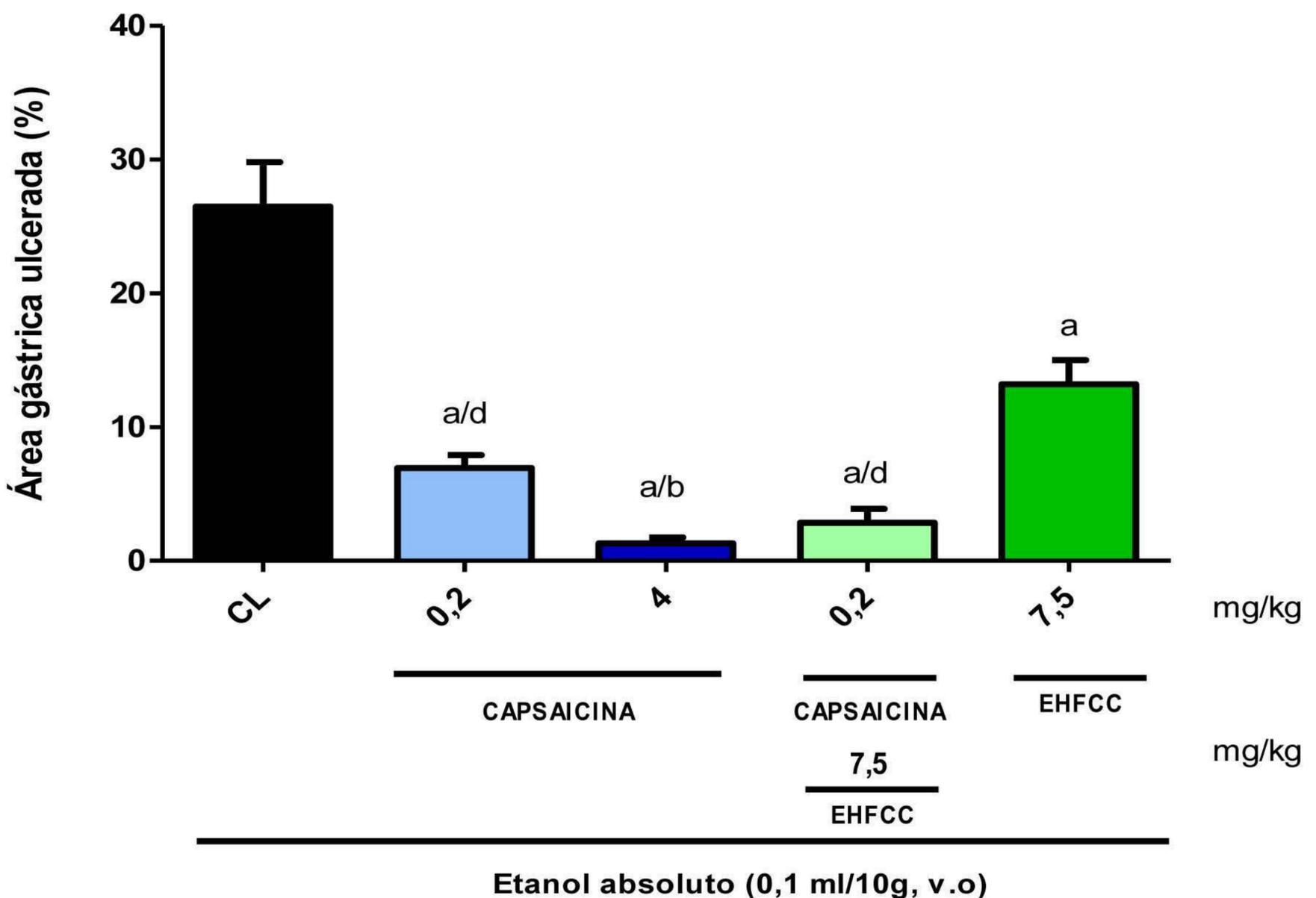


Figura 18. Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC em associação à capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Administrou-se tratamento com o EHFCC ($7,5$ mg/Kg, v.o.) ou veículo ($0,1$ ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da capsaicina (4 mg/Kg, v.o.), 1 hora antes da administração do etanol absoluto ($0,2$ mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC ($7,5$ mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo $p > 0,05$ e $^a p < 0,001$ vs CL; $^b p < 0,001$ vs EHFCC ($7,5$ mg/kg, v.o.); $^c p < 0,01$ vs EHFCC ($7,5$ mg/kg, v.o.) e $^d p < 0,05$ vs EHFCC ($7,5$ mg/kg, v.o.) (ANOVA e teste de Student Newman-Keuls).

4.6 Dados relativos à atividade do EHFCC sobre a Motilidade Intestinal de camundongos

A porcentagem da distância percorrida pelo marcador (carvão ativado) no intestino delgado de camundongos foi de $82,77 \pm 4,29\%$. Os animais que receberam o EHFCC (75mg/Kg) por via oral tiveram a distância percorrida pelo marcador semelhante à obtida pelo grupo veículo, demonstrando que o EHFCC não afeta significativamente a motilidade gastrointestinal, sendo que o marcador percorreu $84,20 \pm 3,94\%$. No entanto, o grupo tratado com atropina (0,01g/Kg, v.o.), um antagonista muscarínico, apresentou redução da motilidade intestinal, cuja distância percorrida foi de $63,21 \pm 2,05\%$, quando comparados ao grupo controle veículo (solução salina a 0,9%, v.o.), evidenciando efeito significativo ($p < 0,01$), conforme dados demonstrados na Figura 19 e Tabela 16 (Anexo A).

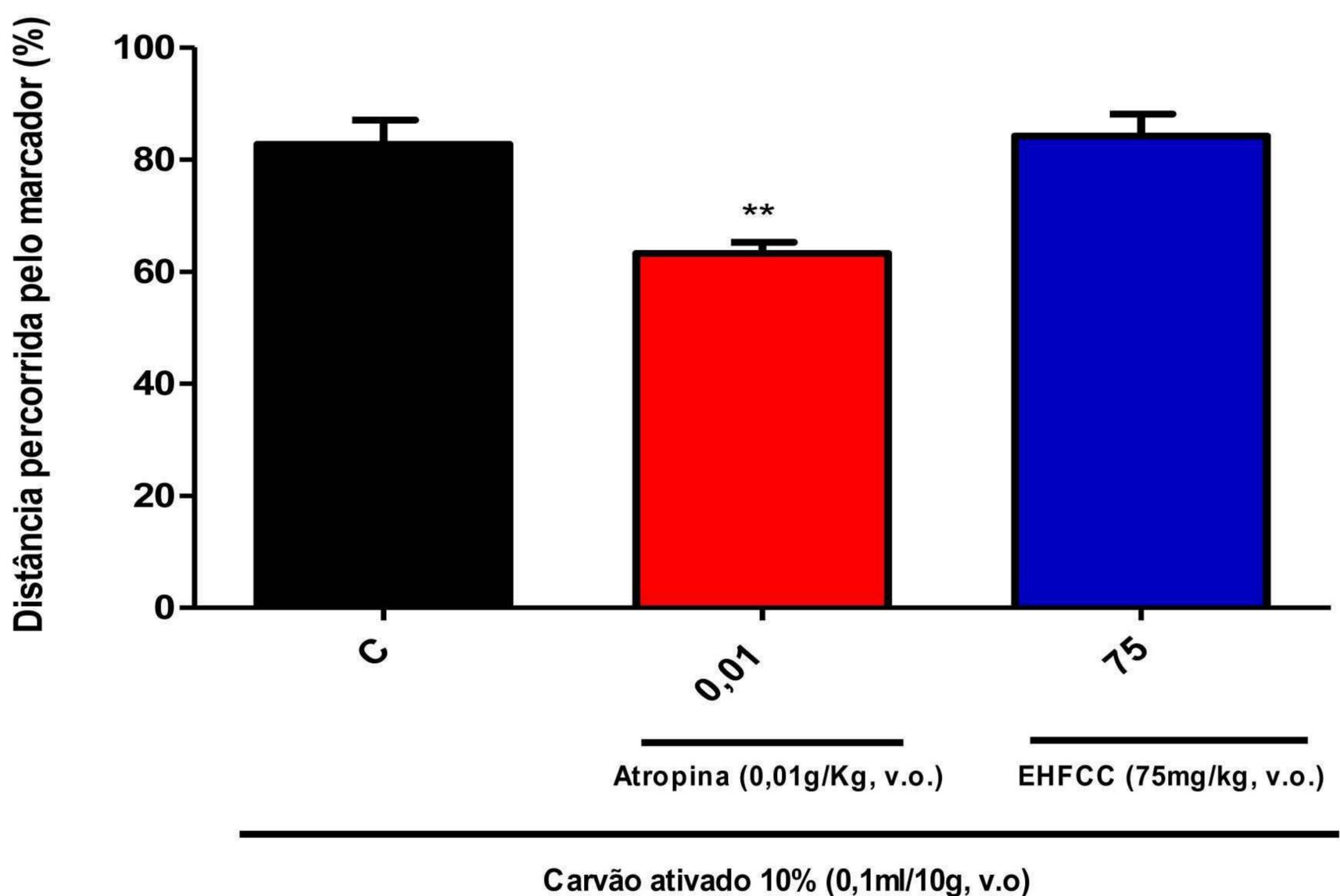


Figura 19. Efeito do EHFCC sobre a motilidade intestinal em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), o EHFCC (75mg/Kg, v.o.) e atropina (0,01g/Kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam carvão ativado 10% (0,1ml/10g, v.o.). Cada grupo representa a média de 10 animais. Na análise estatística, foi considerado não significante $p > 0,05$ e $**p < 0,01$ vs C (controle veículo) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

5 DISCUSSÃO

O uso de plantas medicinais é milenar e difundido por todo o mundo, seja no uso em rituais mágico-religiosos ou como medicamento (LI; OHIZUMI, 2004). O emprego empírico de produtos naturais é, e sempre foi, uma das formas usuais de se buscar cura e alívio para moléstias, ferimentos e males de conceituação popular que sempre acompanharam o homem. O emprego de plantas medicinais, como medicamento, ainda é de grande importância em todo o mundo (KINGHORN, 2002), apesar de muitas vezes ser ineficiente. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais, sendo a maioria de países em desenvolvimento (GURIB-FAKIM, 2006). Dentre os fatores que definem o emprego popular das plantas nos cuidados com a saúde, está o alto preço dos medicamentos industrializados (RATES, 2001).

Os compostos de origem natural desempenham alguns papéis importantes na Medicina moderna. Em primeiro lugar, fornecem alguns medicamentos altamente úteis, cuja produção e comercialização na forma sintética são difíceis, se não impossíveis. De fontes naturais também são retirados compostos básicos que podem ser ligeiramente modificados para tornarem-se mais eficazes ou menos tóxicos. O terceiro papel desempenhado pelos produtos naturais é sua utilidade como protótipos ou modelos para medicamentos sintéticos que tenham atividades fisiológicas semelhantes às dos originais. Há um quarto papel, bem diferente dos acima citados, mas não menos importante. Alguns produtos naturais contêm compostos que apresentam atividade pequena ou nula em si mesma, mas que podem ser modificados por métodos químicos ou biológicos para produzir drogas potentes, não obtidas facilmente por outros métodos (ROBBERS *et al.*, 1997).

Para se realizar pesquisa com plantas medicinais e obter sucesso na investigação farmacológica são necessários critérios adequados na seleção das espécies vegetais. Segundo Holetz *et al* (2002), a escolha com base no conhecimento popular (etnofarmacologia) seria relevante, devido ao acúmulo milenar das informações, o que aumenta a possibilidade de se descobrir novos compostos. Porém, a seleção com base nos constituintes químicos (potencialmente ativos) encontrados em um dado gênero ou família torna-se interessante principalmente pela possibilidade de se encontrar quantidades elevadas de compostos ativos.

Várias espécies do gênero *Croton* há muito tempo desempenham papel importante nos usos tradicionais de plantas medicinais na África, Ásia e América do Sul. Tais usos incluem tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos,

diabetes, feridas externas, febre, dislipidemia, hipertensão, inflamação, vermes intestinais, malária, dor, úlceras e obesidade (SALATINO *et al.*, 2007).

A prospecção fitoquímica do EHFCC na presente pesquisa permitiu identificar a presença das seguintes classes de metabólitos: taninos flobatênicos, flavonas, flavonóis, flavononóis, xantonas, flavononas, alcalóides e terpenos.

Quanto às informações etnofarmacológicas podemos constatar que os maiores níveis de fidelidade indicam o uso medicinal do *Croton campestris* A.St.-Hill. para o tratamento de distúrbios hematológicos (depurativo), seguido da utilização para dermatoses, inflamação, ferimentos, gripe e gastrite.

A literatura demonstra para espécies do gênero *Croton*, vários estudos com abordagem etnofarmacológica, onde são citadas diversas indicações populares para fins medicinais. O *Croton cajucara* Benth popularmente conhecido como “sacaca”, é originário da Amazônia Brasileira, sendo uma planta medicinal tradicional desta região, muito utilizada para o tratamento de diabetes, dislipidemias e distúrbios gastrointestinais (CAMPOS *et al.*, 2002). O *Croton celtidifolius* Baill., comumente conhecido como “sangue-de-adave”, é encontrado na Mata Atlântica do Sul e Sudeste do Brasil, principalmente em Santa Catarina. Onde é muito utilizada pela população local para tratamento de distúrbios inflamatórios, leucemia, úlceras e reumatismo (NARDI *et al.*, 2003). O *Croton eluteria* Bennett., popularmente conhecido como “cascarilla”, é um arbusto nativo do oeste da Índia e do nordeste da América do Sul, sendo muito indicado na medicina tradicional para o tratamento de distúrbios digestivos, hipertensão, bronquite e diarreia (VIGOR *et al.*, 2001). E o *Croton nepetaefolius* Baill., conhecido como “marmeleiro-vermelho”, planta aromática nativa do nordeste do Brasil, é muito aplicada para o tratamento de distúrbios estomacais, cólicas intestinais (efeito antiespasmódico), flatulência e melhora do apetite (LAHLOU *et al.*, 2001). Ainda podemos citar o *Croton palanostigma* Klotzsch, que é uma das plantas mais utilizadas da América do Sul Tropical, o látex vermelho de suas raízes é usado para cicatrização de ferimentos, tratamento de úlcera gástrica e inflamações intestinais (MILLER *et al.*, 2000). E o *Croton zehntneri* Pax. et Hoffm., planta nativa aromática do nordeste brasileiro, popularmente conhecida como “canela-de-cunhã” e bastante utilizada na medicina tradicional local para sedação, distúrbios gastrointestinais e estimulação do apetite (COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1997; COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1998).

Referente à parte da planta utilizada, as informações elencadas pelos informantes do estudo se referem ao uso predominante das raízes e folhas corroborando com outras pesquisas publicadas. Para as espécies do gênero *Croton*, estudos reportados na literatura

relataram o uso das folhas e cascas do caule do *Croton cajucara* Benth. para o tratamento de diabetes, dislipidemias e doenças gastrointestinais (CAMPOS *et al.*, 2002). A utilização também das raízes e folhas do *Croton celtidifolius* Baill. para o tratamento de inflamações, úlceras e reumatismos (NARDI *et al.*, 2003). Ainda, são utilizadas as raízes do *Croton eluteria* Bennett, para hipertensão, distúrbios gástricos, bronquite e diarreia (VIGOR *et al.*, 2001). E para o *Croton campestris* A.St.-Hill. pesquisas experimentais testaram extratos obtidos a partir das folhas com efeito relaxante da musculatura lisa de cobaias (RIBEIRO PRATA *et al.* 1993), e extratos das cascas e raízes com atividade moluscicida (BABILLI *et al.*, 2006).

Para a espécie estudada, a imersão em água e decocto com água representaram os modos de preparo mais prevalentes. Encontram-se também, estudos que relatam o uso do *Croton campestris* A. St.-Hil na medicina popular, sob a forma de chás das raízes e folhas (RIBEIRO PRATA *et al.* 1993). E há relatos na literatura sobre o uso de outras espécies de *Croton* na forma de infusão ou decocto das raízes e folhas, e chás das cascas do caule (SALATINO *et al.*, 2007).

O método de aplicação mais empregado para o *Croton campestris* A. St.-Hill. foi a ingestão oral. E a maioria dos informantes relatou não existir restrições ao uso medicinal da espécie. Estes dados podem estar relacionados à baixa toxicidade das folhas desta planta, onde o extrato bruto etanólico das folhas, não apresentou efeito tóxico na dose de 2000mg/Kg via oral, quando administrado em cobaias (RIBEIRO PRATA *et al.* 1993).

No sentido de averiguar a toxicidade aguda do EHFCC, por via oral e intraperitoneal. O extrato não apresentou sinais de toxicidade aguda significativa nos animais testados em todas as doses administradas. Porém, quando administrado por via intraperitoneal, o extrato provocou a morte imediata do animal que recebeu a dose de 5000 mg/Kg, confirmando o único estudo publicado que determinou a baixa toxicidade aguda do *Croton campestris* A.St.-Hill. quando administrado em cobaias (RIBEIRO PRATA *et al.* 1993).

Na avaliação do potencial antimicrobiano, o EHFCC não apresentou atividade antimicrobiana intrínseca significativa quando empregada a técnica de microdiluição. No entanto, o EHFCC na concentração de 128µl/ml, em combinação com os antibióticos amicacina, garamicina, kanamicina e neomicina, apresentou atividade importante na potencialização do efeito antibacteriano desses fármacos. Nesse sentido, estudos têm revelado atividade antimicrobiana importante atribuída a espécies do gênero *Croton*, a exemplo da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas do *Croton zehntneri*, a

qual foi significativa contra linhagens de *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β -haemolyticus* (COSTA *et al.*, 2008).

O látex vermelho de *Croton lechleri* (sangre de drago) apresentou atividade antioxidante e de estimulação da fagocitose. Como também, possui atividade imunomodulatória, inibindo a proliferação e ativação das células T e propriedades antibacterianas. (CHEN *et al.*, 1994 *apud* SALATINO *et al.*, 2007). O composto 8,9-secokurano isolado de *Croton kongensis* exibiu atividade antibacteriana na concentração inibitória mínima (CIM) de 6,24-25,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (TONGANT *et al.*, 2003 *apud* SALATINO *et al.*, 2007). Catequina e ácido acetil aleuritólico, compostos obtidos de *Croton urucurana*, apresentaram efeito antimicrobiano contra *S. aureus* e *Salmonella typhimurium* (PERES *et al.*, 1997 *apud* SALATINO *et al.* 2007). O óleo essencial das folhas do *Croton cajucara* apresenta na sua composição o linalolol, composto inibidor do crescimento das colônias de *Candida albicans*, *Lactobacilos casei*, *Porphyromonas gengivalis*, *S. aureus* e *Streptococcus mutans*, sendo estas bactérias envolvidas com a patogênese de doenças da cavidade oral (ALVIANO *et al.*, 2005 *apud* SALATINO *et al.*, 2007).

Entretanto, vale ressaltar que esses estudos supracitados foram realizados através da técnica de difusão. No entanto, é importante mencionar que o método por microdiluição, empregado na presente investigação, representa na atualidade, a técnica mais aceita para este bioensaio (HADACEK; GREGER, 2000).

Para a espécie *Croton campestris* A.St.-Hill., a investigação da atividade moduladora do extrato obtido das folhas representa um ensaio pioneiro e promissor para o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas. No entanto, estudos sobre o sinergismo entre produtos naturais e fármacos antibacterianos vêm sendo realizados com outras espécies vegetais, a exemplo da *Mentha arvensis* (COUTINHO *et al.*, 2009d), do *Hyptis martuisii* Benth (CUTINHO *et al.*, 2009c), da *Momordica charantia* L. (COUTINHO *et al.*, 2009a) e da *Turnera ulmifolia* L. (COUTINHO *et al.*, 2009b).

Embora existam muitos produtos disponíveis no mercado para o tratamento de distúrbios gastrintestinais, incluindo antiácidos, inibidores da bomba de prótons, anticolinérgicos e antagonistas histaminérgicos, a maioria destas drogas produz severas reações adversas, como ginecomastia, alterações hematopoiéticas, trombocitopenia (ZLABEK; ANDERSON, 2002), reações anafiláticas (GONZALEZ *et al.*, 2002), nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (FISHER; LE COUTEUR, 2001). Além disso, nos países em desenvolvimento como o Brasil, o tratamento para patologias que acometem o sistema gastrintestinal é muito caro, o que impede o acesso da maioria da população e terapia.

Assim, existe a necessidade do desenvolvimento de agentes efetivos, seguros e de baixo custo para o combate de doenças como úlcera péptica e dispepsia.

As plantas medicinais estão entre as mais atrativas fontes de novas drogas, e foi demonstrado que elas apresentam resultados promissores no tratamento de gastropatias (BORRELLI; IZZO, 2000). No Brasil, um grande número de preparações a partir de plantas é utilizado na medicina popular para o tratamento de vários tipos de distúrbios gástricos (GRACIOSO *et al.*, 2002; TOMA *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2003). Este fato, aliado a grande biodiversidade existente no Brasil, impulsiona a pesquisa por novas drogas gastroprotetoras a partir de produtos naturais.

Os modelos animais desempenham um papel importante na busca de novas drogas com propriedades gastroprotetoras. Considerando que a etiologia da úlcera é multifatorial, as lesões na mucosa gástrica podem ser induzidas por diferentes modelos experimentais, utilizando diversos mecanismos (SAMONINA *et al.*, 2004). Alguns dos modelos agudos mais utilizados para avaliação de substâncias antiulcerogênicas em animais são os de lesão gástrica induzida por etanol absoluto e por indometacina (PANDIAN *et al.*, 2002). No presente trabalho, além de se utilizar essas metodologias, foram também avaliados os efeitos do EHFCC através do modelo de ulceração gástrica induzida por etanol acidificado.

O método de lesão gástrica induzida por etanol é um dos principais modelos utilizados em pesquisas com animais. Este método produz injúria gástrica por solubilização do muco protetor e desta forma a mucosa fica indefesa frente à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente. O contato com o álcool também leva ao aumento da secreção ácida e alteração da rede vascular local, por rompimento dos vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica (OATES; HAKKINEN, 1988).

A úlcera gástrica induzida por etanol ocorre predominantemente na porção glandular do estômago, sendo resultante de uma ação necrotizante direta além da redução dos fatores de defesa como secreção de bicarbonato, de muco e do aumento do estresse oxidativo (RUJJANAWATE *et al.*, 2005). O EHFCC em todas as doses testadas por via oral foi capaz de prevenir, de maneira dose dependente, as lesões gástricas induzidas pela administração de etanol absoluto. As doses inibiram o percentual de área gástrica ulcerada de maneira semelhante ao omeprazol, um conhecido inibidor da bomba de prótons, quando em comparação com o grupo controle veículo lesionado. Também foi demonstrada a ação gastroprotetora e eficácia do EHFCC em todas as doses administradas por via oral, frente ao modelo de úlcera gástrica induzida por de etanol acidificado, promovendo uma inibição no

percentual de área gástrica ulcerada semelhante ao omeprazol em comparação com o grupo controle veículo lesionado.

Com o objetivo de avaliar se o EHFCC estaria produzindo um efeito de barreira física e assim, exercendo proteção da mucosa gástrica por ação mecânica. Efetuamos a verificação do efeito gastroprotetor do extrato, através da via intraperitoneal, frente ao modelo de úlcera gástrica induzida pela administração oral de etanol absoluto. O mesmo exerceu ação gastroprotetora significativa. Entretanto, é possível considerar que a administração oral do extrato exerce efeito de barreira física na proteção da mucosa gástrica, tendo em vista que o uso da via oral apresentou maior atividade gastroprotetora comparado à via intraperitoneal.

O álcool tem sido indicado como o responsável por um número grande de doenças, estando associado a altos níveis de morbidade e mortalidade (TAYLOR; REHM, 2006). Os efeitos agudos do etanol são verificados de imediato no trato gastrointestinal (TGI). Quando o álcool é consumido, ele passa por vários segmentos do TGI, afetando a estrutura e função destes segmentos e, interferindo na função dos músculos que separam o esôfago do estômago, favorecendo a ocorrência de refluxo gastroesofágico, além de aumentar o risco de câncer de esôfago. No estômago, o álcool interfere na secreção de ácido gástrico, na integridade da mucosa, na microcirculação e na musculatura lisa do estômago. Similarmente, o etanol pode agir sobre a motilidade intestinal, contribuindo para o aparecimento de diarreia. Também age inibindo a absorção de nutrientes na parede intestinal e aumentando a absorção de toxinas, efeito que pode contribuir para danos no fígado e outros órgãos (BODE; BODE, 1997).

A mucosa gástrica está sujeita a contínuas mudanças de agentes agressores endógenos e exógenos. Para combater esse ataque, a mucosa possui mecanismos de defesa interativa que protegem o tecido de danos e eventuais ulcerações (WHITTLE, 2003). A indometacina, assim como as maiorias das Drogas Antiinflamatórias Não Esteroidais (DAINEs), atua inibindo a síntese de prostaglandinas e, conseqüentemente, diminuindo os mecanismos de defesa da mucosa gástrica mediados por essas substâncias (LEWIS; HANSON, 1991; MORIMOTO *et al.*, 1991; EVANS, 1996), sendo o mecanismo primário pelo qual essas classes de drogas produzem danos no trato gastrointestinal (WALLACE, 1997).

Anderson e Grossman (1965) propuseram, com seus experimentos, que o contato direto das DAINEs com a mucosa quebra o gradiente de íons hidrogênio entre o lume gástrico e o tecido da mucosa; essa interação é essencial para continuidade epitelial assim

como para manutenção da sua integridade. Essa ação local sugere que danos na barreira superficial são resultados do contato das DAINEs com o tecido da mucosa.

Drogas como a indometacina, agem inibindo o metabolismo do ácido araquidônico pela via das ciclooxigenases (COX) e assim alteram o equilíbrio entre os fatores agressores e protetores da mucosa do estômago promovendo aumento da acidez, redução do fluxo sanguíneo, bloqueio ou redução da síntese de prostaglandinas (PG's) além de agredir diretamente o estômago por sua ação irritante local (GONZALEZ *et al.*, 2001). Além disso, essa substância também é capaz de aumentar a produção de leucotrienos (LTs), e o papel destes como mediadores da úlcera gástrica é bem notado na aplicação local de leucotrieno do tipo C4 (LTC₄), que leva a uma vasoconstrição na mucosa gástrica de ratos e pode induzir estase nas arteríolas e vênulas na submucosa (WHITTLE *et al.*, 1985).

A ação local na mucosa gástrica pode ser descartada já que a indometacina foi administrada por via subcutânea, evidenciando assim que os danos causados foram em consequência da inibição da COX.

A presente investigação pode demonstrar a capacidade do EHFCC em inibir os danos gástricos causados pelos DAINEs, onde utilizamos um modelo clássico de indução da lesão gástrica por indometacina, via subcutânea. O EHFCC, por via oral, nas doses testadas, foi capaz de prevenir o aparecimento de lesões gástricas em animais submetidos ao tratamento com este antiinflamatório não-esteroidal evidenciando resultados significantes, quando comparado ao controle lesionado.

Dentre os vários fatores envolvidos na manutenção da integridade da mucosa gástrica e proteção contra injúria provocada pelos agentes ulcerogênicos, dedicamos nossa atenção à contribuição do óxido nítrico endógeno, prostaglandinas, canais de potássio sensíveis a ATP (K_{ATP}) e receptores noradrenérgicos alfa₂ (ZAYACHKIVSKA *et al.*, 2004; BRZOZOWSKI *et al.*, 2005) na atividade gastroprotetora do EHFCC.

A descoberta do óxido nítrico (NO) como um agente de sinalização celular foi um dos mais importantes acontecimentos na fisiologia humana dos anos 80-90. O NO é um gás de radical livre e não carregado que tem chamado a atenção pela sua participação na transdução de sinais relacionados a diversos processos fisiológicos tais como: relaxamento do músculo liso e vasodilatação, neurotransmissão, agregação plaquetária, regulação de mecanismos pró e antiapoptóticos, controle da pressão arterial e fluxo sanguíneo regional (RANDOMSKI; MONCADA, 1993; KIM *et al.*, 2001).

Relacionado à modulação dos componentes fisiológicos de defesa do trato gastrointestinal, o NO possui um papel importante no controle da motilidade gastrintestinal

(UEKI *et al.*, 1988), do fluxo sanguíneo gástrico (WHITTLE *et al.*, 1981), na adesão de neutrófilos (KUBES *et al.*, 1991) e da secreção de muco (WALLACE; MILLER, 2000).

Na presente pesquisa a avaliação do papel do óxido nítrico no efeito gastroprotetor do EHFCC no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos, revelou que, os animais que receberam L-NAME (um inibidor não específico das enzimas NO sintetases), apresentaram uma extensa área gástrica ulcerada, após a administração do etanol absoluto, semelhante ao grupo controle veículo lesionado. O EHFCC conseguiu inibir o aparecimento das lesões gástricas e esse efeito gastroprotetor bloqueado com o pré-tratamento com L-NAME, onde o extrato nesta situação apresentou percentual de redução de úlcera não significativo. De forma semelhante, observamos que a L-arginina (um substrato da NO sintetase), reduziu o percentual de área gástrica ulcerada de forma significativa quando comparado com o grupo controle veículo lesionado. Isso nos leva a afirmar que compostos químicos presentes no extrato atuam na gastroproteção por meio da via que envolve o efeito citoprotetor do óxido nítrico. E ainda, é possível correlacionar estudos que demonstram a associação entre espécies vegetais que apresentam taninos, flavonóides e alcalóides em suas composições químicas e o efeito gastroprotetor dessas (MARTINS; LIMA; RAO, 2002; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2008), o que provavelmente também, estaria ocorrendo com a espécie *Croton campestris* A.St.–Hill.

No estômago o NO possui um importante papel na preservação e reparo de injúrias no TGI, participando no controle da produção de muco e secreção de bicarbonato, na regulação do fluxo sanguíneo capilar da parede gastrintestinal, além de atuar como agente citoprotetor antiinflamatório e como complemento dos efeitos protetores das prostaglandinas (WALLACE; GRANGER, 1996; MUSCARA; WALLACE, 1999). Estudos mostram que a presença de NO em baixas concentrações está associada aos efeitos benéficos no TGI, enquanto o NO em altas concentrações pode induzir a formação de radicais derivados do nitrogênio, que são tóxicos para as células (WALLACE; MILLER, 2000).

Nas células do endotélio vascular, na presença do oxigênio molecular, as enzimas óxido nítrico sintetases (NOS) catalisam a oxidação de cinco elétrons da L-arginina, um aminoácido endógeno, produzindo o radical livre gasoso, NO (KUO; SCHROEDER, 1995). Existem três isoformas conhecidas das NOS: uma forma induzível (iNOS) e duas formas constitutivamente expressas, sendo denominadas de NOS endotelial (eNOS) e NOS neuronal (nNOS) (PFEILSCHIFTER *et al.*, 2001).

A iNOS é induzida principalmente por estímulos pró-inflamatórios e produz uma quantidade de NO aproximadamente 10.000 vezes maior que as isoformas constitutivas. Sob

condições fisiológicas as células produzem pequenas quantidades de NO, e essa produção depende das enzimas constitutivas (eNOS e nNOS), indicando que o NO atua diretamente no controle de diversas respostas celulares. A eNOS produz NO para a manutenção da homeostase vascular normal, é encontrada, além do endotélio, nos miócitos cardíacos, nas células mesangiais renais, nos osteoblastos, plaquetas e possui uma atividade basal que é inibida por inibidores da NOS, como o N^G-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME) e N^G-monometil-L-arginina (L-NMMA) (RANG *et al.*, 2004). O NO produzido pela ação da nNOS possui função de neurotransmissão, mas também pode ser utilizado para regulação do tônus muscular do trato gastrintestinal (TGI) e músculo esquelético (EISERICH *et al.*, 1998).

O GMPc é um nucleotídeo sintetizado no interior da célula pela ação de uma enzima conhecida como guanilato ciclase. Esta enzima é ativada por NO, formando cGMP a partir do ATP (BEAVO, 1995; POLSON; STRADA, 1996). A produção do cGMP é o principal mecanismo pelo qual o NO produz muitos dos seus efeitos fisiológicos. Há evidências o NO e o cGMP podem atuar sobre diversos alvos como as proteínas quinases cGMP-dependente, as fosfodiesterases reguladas por cGMP e diferentes tipos de canais de potássio (HAN *et al.*, 2002; LEVY; STRASSMAN, 2004). A importância das proteínas quinases no trato gastrintestinal foi demonstrada pela deleção do seu gene em camundongos, que induziu disfunções gastrintestinais, incluindo dilatação do estômago e ceco, contração pilórica e distúrbios na motilidade gastrintestinal (NY *et al.*, 2000). O NO protege as células parietais da citotoxicidade provocada pelo etanol e esta citoproteção é dependente da ativação da via NO/cGMP e da abertura dos canais de cloro basolaterais (SAKAY *et al.*, 1995). Um fato curioso é que a via NO/cGMP apresenta efeitos citoprotetores ou citotóxicos, dependendo do tipo celular. Assim, em culturas de células endoteliais bovinas, a via NO/cGMP apresenta efeito citoprotetor contra injúria provocada pelo fator de necrose tumoral α (TNF- α) (POLTE *et al.*, 1997).

A ação protetora das prostaglandinas (PG's) na mucosa gástrica é mediada pelo aumento na produção de muco e secreção de bicarbonato, modulação da secreção do ácido gástrico, inibição da liberação de mediadores inflamatórios por mastócitos e na manutenção do fluxo sanguíneo durante a exposição a agentes irritantes (BATISTA *et al.*, 2004). É conhecido que a prostaglandina E2 (PGE2) possui uma ação gastroprotetora contra a lesão provocada pelo etanol e que essa proteção decorre de um aumento de guanosina-3',5'-monofosfato cíclica (GMPc) intracelular, que é mediado por um aumento da concentração de cálcio intracelular livre e pela produção de óxido nítrico (SAKAI *et al.*, 1995).

Na avaliação de uma possível participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC, utilizamos o misoprostol, um análogo das prostaglandinas do tipo E1 (PGE1), bem como a indometacina, um inibidor da síntese de PG's.

No presente trabalho o misoprostol inibiu significativamente o aparecimento das lesões gástricas quando comparado com o controle veículo lesionado. O misoprostol inibe a secreção de ácido gástrico, aumenta o fluxo sanguíneo da mucosa e a secreção de muco e bicarbonato (RANG *et al.*, 2004). O pré-tratamento com indometacina não ocasionou efetivamente a reversão do efeito citoprotetor do EHFCC, demonstrando apenas uma tendência neste sentido. A partir deste resultado não podemos afirmar que o efeito gastroprotetor do EHFCC esteja envolvido com o papel das prostaglandinas.

A modulação da atividade dos receptores α_2 periféricos, localizados nos gânglios parassimpáticos intramural, diminui a descarga vagal da acetilcolina, a qual reduz a secreção e motilidade gástrica e aumenta o fluxo sanguíneo (YELKEN *et al.*, 1999). Os receptores noradrenérgicos α_2 pré-sinápticos estão envolvidos na regulação da secreção do ácido gástrico e são efetivos na proteção contra agentes químicos, como DAINÉ's e etanol, sendo que os seus efeitos anti-secretórios podem ser mediados por esses receptores centrais e periféricos (GYIRES *et al.*, 2000).

No nosso estudo, a administração de ioimbina (10mg/Kg, i.p.), um alcalóide indólico que promove a liberação de neurotransmissores, bloqueando os receptores α_2 pré-sinápticos (HOFFMAN, 2007b), não foi capaz de reverter o efeito gastroprotetor do EHFCC. Isto indica que o EHFCC não atua via modulação da atividade dos receptores α_2 periféricos para a promoção do seu efeito gastroprotetor.

Os canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) são regulados por ligantes e seu mecanismo é definido tendo por base a sua sensibilidade ao ATP intracelular, que inibe a sua atividade. Tem sido postulado que os canais de K_{ATP} estão envolvidos em uma variedade de funções fisiopatológicas no estômago tais como: regulação do fluxo sanguíneo, secreção de ácido gástrico e contratilidade da musculatura gástrica (STANDEN *et al.*; 1989). No sistema vascular, esses canais estão relacionados com o relaxamento da musculatura lisa vascular, possuindo um papel importante no controle da pressão sanguínea (NELSON; QUAYLE, 1995). Essa vasodilatação pode ser bloqueada pela glibenclamida, uma sulfonilrêia que causa o bloqueio dos canais K_{ATP} (BEECH *et al.*, 1993). Nossos estudos evidenciaram que o EHFCC quando associado à glibenclamida, manteve o seu efeito protetor gástrico de forma significativa. Indicando que possivelmente os princípios ativos do extrato não possuem

mecanismo de ação gastroprotetora pela via da estimulação dos canais de K^+ ATP-dependentes.

A inervação da mucosa apresenta importante papel na proteção gástrica, em particular, as fibras aferentes sensíveis a capsaicina têm sido implicadas diretamente na resposta aguda à agressão na mucosa, promovendo a dilatação das arteríolas da submucosa e aumentando rapidamente o fluxo sanguíneo local. Seu efeito estaria envolvido com a ativação dos receptores TRPV1 (canal de potencial transiente tipo vanilóide subtipo 1) (SCHUBERT, 2004). A ativação dos neurônios sensoriais por compostos como a capsaicina promove também um aumento na produção de óxido nítrico através da ativação da cNOS, com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo da mucosa o que reduz a susceptibilidade do estômago à danos pelos agentes ulcerogênicos (EVANGELISTA, 2006).

Em relação à citoproteção gástrica, reconhece-se o efeito da Capsaicina, a qual consiste em uma substância obtida a partir da pimenta vermelha – “*Pipper*”, que em pequenas doses atua na proteção gástrica a partir dos receptores aferentes sensíveis à capsaicina, atuando sobre a microcirculação através do óxido nítrico (SZOLCSANYI; BARTHO, 2001). E ainda, essa substância atuaria na defesa da mucosa gástrica através das prostaglandinas, do aumento da secreção de muco e bicarbonato, da dilatação das arteríolas da submucosa e aumento da vasodilatação. Também, a Capsaicina promove o aumento na produção de óxido nítrico, via NOs (KATO *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2007).

Neste sentido, no nosso estudo procuramos avaliar a possível ação do EHFCC como potencializador do efeito gastroprotetor da capsaicina. Desta forma, o EHFCC em associação à capsaicina, ambos em baixas doses, demonstrou discreta potencialização do efeito gastroprotetor dessa substância, fato que nos leva a afirmar que o extrato pode atuar adicionalmente à Capsaicina em sua atividade citoprotetora sobre a mucosa gástrica. Esse aspecto pode também estar relacionado à interação dos componentes químicos do EHFCC com a síntese do óxido nítrico endógeno, tendo em vista que o bloqueio da síntese desses compostos, pelo emprego de antagonistas específicos, foi capaz de reverter à ação gastroprotetora do extrato, evidenciando que o mesmo é dependente desses constituintes para seu efeito protetor gástrico, e ainda, conforme já mencionado, a Capsaicina aumenta a produção de NO.

Outra via em que o EHFCC poderia estar atuando para promover a proteção da mucosa gástrica seria através do aumento da motilidade gastrintestinal, assim, o trânsito intestinal aumentado promoveria uma aceleração do esvaziamento gástrico diminuindo o efeito agressor do ácido no estômago e duodeno. A via colinérgica que inerva a camada de

músculo circular do TGI, atuando nos receptores muscarínicos M1 e M3, é a principal responsável pela motilidade gastrointestinal (HANSEN, 2003).

Neste sentido, o EHFCC não alterou de forma significativa o trânsito intestinal dos camundongos quando em comparação com o grupo veículo (carvão ativado 10%) e o grupo que recebeu atropina, que é uma droga bloqueadora da ação muscarínica da acetilcolina.

Em suma, demonstramos com este estudo pela primeira vez que o EHFCC extraído das folhas de *Croton campestris* A.St.-Hill. oferece gastroproteção contra lesão gástrica aguda induzida por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina em camundongos. Indicando assim, uma ação citoprotetora do EHFCC, a qual ocorre através da potencialização da via NO/cGMP. As folhas do *Croton campestris* A.ST.-Hill. possuem compostos (metabólitos) que possivelmente agem em sinergismo para a ativação de fatores defensores e na redução de fatores agressores da mucosa gástrica, o que torna este extrato promissor para o desenvolvimento de novas terapias no combate a gastropatias associadas à DAINE's e doença ulcerosa péptica.

6 CONCLUSÕES

Os dados obtidos, no presente estudo, com o Extrato hidroalcoólico liofilizado das folhas (EHFCC) do *Croton campestris* A.St.-Hill, nos permitiram delinear as seguintes conclusões:

- As folhas da espécie *Croton campestris* A.St.-Hill. são utilizadas pelos integrantes das comunidades tradicionais da Biorregião do Araripe para fins medicinais em distúrbios hematológicos (efeito depurativo), dermatoses, inflamação, ferimentos, gripe, gastrite e outras afecções à saúde;
- O EHFCC, na avaliação da toxicidade aguda por via oral, não apresentou morbidade e mortalidade, demonstrando uma $DL_{50\%}$ maior ou igual a 5000 mg/Kg. No entanto, o extrato ocasionou a morte, quando administrado por via intraperitoneal na dose de 5000 mg/Kg, demonstrando uma $DL_{50\%}$ via intraperitoneal de 3162,28 mg/Kg;
- O EHFCC não apresentou atividade antimicrobiana significativa pela técnica de microdiluição, com valores de CIM ≥ 1024 , no entanto, o mesmo apresentou importante ação moduladora frente às drogas antimicrobianas utilizadas no controle;
- O EHFCC apresentou importante atividade gastroprotetora em modelos experimentais de lesão gástrica aguda (etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina) demonstrando eficácia por via oral e intraperitoneal;
- O estudo dos possíveis mecanismos de ação citoprotetora do EHFCC revelou que este tem sua atividade gastroprotetora revertida na presença de L-NAME, associado ao etanol absoluto, sugerindo que a atuação do EHFCC é dependente da via do óxido nítrico;
- O EHFCC mantém significativa atividade gastroprotetora mesmo frente à administração de glibenclamida (bloqueador dos canais de K^+ dependentes de ATP) e da ioimbina (bloqueador dos receptores noradrenérgicos α_2 pré-sinápticos);

- O estudo indica que o EHFCC exerce discreta atividade de potencialização do efeito gastroprotetor da capsaicina, quando são administrados sinergicamente por via oral e em baixas doses;
- O EHFCC não alterou a motilidade intestinal (trânsito intestinal) dos camundongos, fato importante, pois alterações do trânsito intestinal provocam distúrbios do esvaziamento gástrico que podem agravar a doença ulcerosa péptica;
- Esse estudo fornece evidências para uma futura utilização terapêutica do *Croton campestris* A.St.-Hil, pois o extrato apresentou a atividade antiulcerogênica que lhe foi atribuída etnofarmacologicamente, sendo importante o desenvolvimento de outros estudos complementares que possam esclarecer sobre os princípios ativos envolvidos com as atividades bioativas desta espécie.

REFERÊNCIAS

- ABITBOL, R.A. **Doença ulcerosa péptica**. In: Medstudents: Rotinas de Clínica Médica. Disponível em: <http://www.medstudents.com.br/rotinas/clinmed/dup.htm>. Acesso em: 20 jan. 2010.
- ABNT. **NBR 6034**: Preparação de índice de publicações: procedimento. Rio de Janeiro, 1989.
- ABNT. **NBR 6024**: Numeração progressiva das seções de um documento: procedimento. Rio de Janeiro, 1989.
- ABNT. **NBR 6027**: Sumário: procedimento. Rio de Janeiro, 1989.
- ABNT. **NBR 6028**: Resumos: procedimento. Rio de Janeiro, 1990.
- ABNT. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.
- ABNT. **NBR 10520**: Informação e documentação: apresentação de citações em documentos. Rio de Janeiro, 2002.
- ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P.; CUNHA, L. V. F. C. **Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica**. Recife: Comunigraf; 2008.
- ALLEN, A.; FLEMSTROM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v. 288, p.1-19, 2005.
- ALMEIDA, A. B. A. *et al.* Antiulcerogenic effect and cytotoxic activity of semi-synthetic crotonin obtained from *Croton cajucara* Benth. **European Journal of Pharmacology**, v. 472, p. 205-212, 2003.
- ALPHIN, R. S. *et al.* Role of intragastric pressure, pH, and pepsin in gastric ulceration in the rat. **Gastroenterology**, v. 73, p. 495-500, 1977.
- ANDERSON, S., GROSSMAN, M. I. Profile of pH, pressure and potential difference at gastroduodenal junction in man. **Gastroenterology**, v. 49, p. 364-371, 1965.

- ANDREO, M. A. *et al.* Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 3, p. 431-441, 2006.
- AOI, M. *et al.* Participation of prostaglandin receptor EP₄ subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. **The American Journal of Physiology**, v. 287, p. 96-103, 2004.
- ATUMA, C. *et al.* Effects of a chronic *Helicobacter pylori* infection on the gastric mucus gel *in vivo*. **Gastroenterology**, v. 114, p. A61, 1998.
- BABILI, F. E. *et al.* Three furano diterpenes from the bark of *Croton campestris*. **Phytochemistry**, v. 48, p. 165-169, 1998.
- BABILI, F. E. *et al.* Molluscicidal activity against *Bulinus truncatus* of *Croton campestris*. **Fitoterapia**, n. 77, p. 384-387, 2006.
- BAILLON, H. **Etude générale du grupo des Euphorbiacées**. Victor Masson, Paris, 1858.
- BATISTA, L. M. *et al.* Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus asthrotrichus* Silveira. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n. 3, p. 328-332, 2004.
- BAYIR, Y. *et al.* The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. **Phytomedicine**, v. 13, p. 584-590, 2006.
- BAZZANO, F. C. O. Aspectos Éticos da Pesquisa Científica, p. 149-180. In: SILVA, J. V. da (Org.) *et al.* **Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa**. São Paulo: Iátria, 2006.
- BEAVO, J. A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. **Physiological Reviews**, v.75, p.725-745, 1995.
- BEECH, D.J.; ZHANG, H.; NAKAO, K.; BOLTON, T.B. K channel activation by nucleotide diphosphates and its inhibition by glibenclamide in vascular smooth muscle cells. **British Journal of Pharmacology**, v.110: p.573-582, 1993.
- BENTHAM, G. Note on Euphorbiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 37, p.185-267, 1880.

BERRY, P. **Croton Research Network. Madison**, University of Wisconsin Board of Regents. 2006. Disponível em: <http://www.botany.wisc.edu/croton>. Acesso em: março de 2009.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. Escola Superior de Agricultura de Mossoró. 3. ed. Fortaleza, 1976.

BRASIL. Lei Nº 11.794 de 08 de outubro de 2008 (“Lei Arouca”), regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09 out. 2008.

BREDT, D. S. *et al.* Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. **Nature**, v. 351, p. 714–18, 1991.

BRUNTON, L. L. Fármacos para o controle da acidez gástrica e tratamento de úlceras pépticas. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD L. E.; GILMAN, A.G. **Goodman and Gilman’s the pharmacological basis of therapeutics**. 9 ed. New York: McGraw-Hill, p. 663-674, 1996.

BRZozowski, T. *et al.* Grapefruit-seed extract attenuates ethanol-and stress-induced gastric lesions via activation of prostaglandin, nitric oxide and sensory nerve pathways. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 41, p. 6450-6058, 2005.

BODE, C.; BODE, J. C. Alcohol’s role in gastrointestinal tract disorders. **Alcohol Health and Research World**, v.21, n. 1, p.76-83, 1997.

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

BROWN, J. F.; HANSON, P. J.; WHITTLE, B. J. Nitric oxide donors increase mucus gel thickness in rat stomach. **European Journal of Pharmacology**, v. 223, p. 103-4, 1992.

BULUT, R.; *et al.* Nitric oxide-mediated regulation of gastric H⁺, K⁺ -ATPase and alcohol dehydrogenase following ethanolinduced injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v.7, p.1417-22, 1999.

CALATAYUD, S. *et al.* Mechanisms of gastroprotection by transdermal nitroglycerin in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 127, p.1111-18, 1999.

CALIXTO, J. B. Estudo farmacológico pré-clínico de plantas medicinais. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

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

CAMPOS, A. R. *et al.* Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. **Fitoterapia**, v.73, p.116-120, 2002.

CARNEIRO-TORRES, D. S.; CORDEIRO, I.; FRANÇA, F. A família Euphorbiaceae na flora de inselbergs da região de Milagres, Bahia, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 20: p. 31–47, 2002.

CARNEIRO-TORRES, D. S. **Diversidade de *Croton* L. (Euphorbiaceae) no bioma Caatinga**. Tese Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009. 387p.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; MYCEK, M. J. **Farmacologia Ilustrada**. 2 ed. Porto Alegre: Ed. Artes Médicas, 1998.

CHAN, F. K. L.; LEUNG, W. K. Peptic-ulcer disease. **Lancet**, v. 360, p. 933-941, 2002.

CNUBBEN, N. H. P. *et al.* The interplay of glutathione-related process in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.10, p.141-152, 2001.

COELHO-DE-SOUZA, A. N.; *et al.* Effects of the essential oil of *Croton zehntneri*, and its constituent estragole on intestinal smooth muscle. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 4, p. 273-331, 1997.

COELHO-DE-SOUZA, A. N.; CRIDDLE, D. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Selective modulatory effects of the essential oil of *Croton zehntneri* on isolated smooth muscle preparations of the guinea-pig. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 3, p. 155-223, 1998.

CORDEIRO, I. Euphorbiaceae. In: STANNARD, B. L. (ed.). Flora do Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia-Brasil. **Royal Botanic Gardens Kew**, p. 300-317, 1995.

CORDEIRO, I.; CARNEIRO-TORRES, D. **Euphorbiaceae. In: checklist das plantas do Nordeste brasileiro: angiospermas e gimnospermas.** Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, p. 71-74, 2006.

CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C. Produção de plantas medicinais, condimentares e aromáticas no Estado do Paraná. In: CORRÊA JR, C.; GRAÇA, L. R.; SCHEFFER, M. C. **Complexo Agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná – diagnóstico e perspectiva.** Curitiba: EMATER, 2004.

COSTA, J. G. M. *et al.* Chemical composition and evaluation of the antibacterial activity and toxicity of the essential oil of *Croton zehntneri* (variety estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 397-402, 2006.

COUTINHO, H. D. M.; CORDEIRO, L. N.; BRINGEL, K. P. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from the population of Juazeiro do Norte – Ceará. **Revista Brasileira de Ciência e Saúde**, v. 9, p. 127-38, 2005.

COUTINHO, H.D.M. *et al.* Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2009a, doi:10.1016/j.cimid.2009b.08.001 [in press].

COUTINHO, H.D.M. *et al.* Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, p. 9-13, 2009b.

COUTINHO, H.D.M. *et al.* *In vitro* of *Hyptis martiusii* Benth & Chlorpromazine against an aminoglycoside - resistant *Escherichia coli*. **Indian Journal Medical Research**, v. 129, p. 566-568, 2009c.

COUTINHO, H.D.M. *et al.* Potentiating effect of *Mentha arvensis* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **In Vivo**, v. 23, p.287-290, 2009d.

CRAVEIRO, A. A. *et al.* Sonderianin, a furanoid diterpene from *Croton soderianus*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 852-854, 1981.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES A. G.; ANDRADE, C. H. S. **Óleos essenciais de Plantas do Nordeste.** Edições UFC. Fortaleza, p.210, 1981.

CRAVEIRO A. A.; SILVEIRA E. R. Two cleistanthane type diterpenes from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 2571-2574, 1982.

CRUZ, G. L. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. 2. ed. EDEL, Rio de Janeiro, 1982.

DA ROCHA LAPA, F. *et al.* Gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract obtained from *Polygala paniculata* L. in rats. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 10, p. 1413-1419, 2007.

DAVIS, S. D. **Plants in dangers: What do we Know?** Gland Switzerland: IUCN, 1986.

DENNINGER, J.; MARLETTA, M. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411: 334–350.7. Stamler J, Lamas S, Fang F. Nitrosylation: the prototypic redoxbased signaling mechanism. **Cell**, v. 106, p.675–83, 2001.

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.

DING, M. *et al.* Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract. **Prostaglandins**, v.53: p.199-216, 1997.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996.

DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 4, p. 265, 1969.

DOCKRAY, G. J.; VARRO, A.; DIMALINE, R. Gastric endocrine cells: gene expression, processing and targeting of active products. **Physiological Reviews**, v. 76, n. 3, p.767-798, 1996.

DONG, M. H.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal Mucosal Defense. **Current Opinion in Pharmacology**, v.100, p. 310-313, 2006.

DOURADO, R. C. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Croton sonderianus* – Euphorbiaceae**. Tese de Doutorado, Fortaleza, UFC, 2003.

EISERICH, J. P.; PATEL, R. P.; O'DONNELL, V. B. O. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free reactions and modification of biomolecules. **Molecular Aspects of Medicine**, v.19: p.221-357, 1998.

ELVIN-LEWIS. Should we be concerned about herbal remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v.75, p. 141-164, 2001.

EVANGELISTA, S. Role of sensory neurons in restitution and healing of gastric ulcers. **Current Pharmaceutical Design**, v.12, p. 2977-2984, 2006.

EVANS, F. The gastro-intestinal Tract. Selection, **Preparation and Pharmacological Evaluation of plant Material**, p. 25-45, 1996.

FARNSWORTH N. R.; MORRIS R. W. Higher plants the sleeping giant of drug development. **American Journal of Pharmacy Sciences**, v.148, n. 2, p. 46-52, 1969.

FARNSWORTH, N. R.; SOEJARTO, D. D. Global importance of medicinal plants. **Cambridge: Cambridge University Press**, p. 25-51, 1991.

FISHER, A. A.; LE COUTEUR, D. G. Nephrotoxicity and hepatotoxicity of histamine H₂ receptor antagonists. **Drug Safety**, v.24, p.39-57, 2001.

FLEMSTROM, G. Gastric and duodenal mucosal bicarbonate secretion. In: JOHNSON, L.R.; *et al.* **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. New York: Raven Press, p. 1011-1034, 1987.

FONTE, N. N. A Complexidade das Plantas Mediciniais: Enfoque Farmacêutico. In: CORREIA JR, C.; GRAÇA, L. R.; SCEFFER, M. C. **Complexo Agroindustrial das Plantas Mediciniais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas**. Curitiba: EMATER, p. 24-45, 2004.

FORNAI, M. *et al.* Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID-induced gastric mucosal damage. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology**, v. 372, p. 79–87, 2005.

FORSELL, H. Gastric mucosal defence mechanisms. A brief review. **Gastroenterology**, p. 23-28, 1988.

FORSTNER, J .F.; FORSTNER, G. G. Gastrointestinal muçus. In: JOHNSON, L.R. **Physiology of the Gastrointestinal tract**. 3.ed. New York: Raven, p. 1255-1284, 1994.

FRANÇA, S. D. C. **Abordagens biotecnológicas para obtenção de substâncias ativas. Farmacognosia – Da Planta ao Medicamento.** Ed. da UFSC, SC, cap. 7, p. 101 - 121, 1999.

FRANSEN, A.; ANDERSEN, C. F.; SCHOUSBOE, A. Possible role of cGMP in excitatory amino acid-induced cytotoxicity in cultured cerebral cortical neurons. **Neurochemical Research**, v.17, p. 35-43, 1992.

FUNDETEC – **Plano de Gestão da APA (Área de Proteção Ambiental do Araripe)** – 1998.

GANOC, W. F. **Review of medical physiology.** San Francisco: Lange Medical Books, 21. ed., 2003.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 5.ed. São Paulo: Atlas, 1999.

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, A. P. S. **Revisão das espécies sulamericanas de *Croton* L. subgen. *Croton* sect. *Argyroglossum* Baill. (Crotonoideae-Euphorbiaceae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 124p, 2006.

GONZALEZ, A. G. *et al.* The ¹³C NMR spectra of some *ent*-18-hydroxykaur-16-enes. **Phytochemistry**, v.20, p. 846-847, 1981.

GONZALEZ, F. G. *et al.* Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **Journal Ethnopharmacology**, v.77, p. 41-47, 2001.

GONZALEZ, P. *et al.* Anaphylaxis to próton pump inhibitors. **Allergie Immunopathology**, v.30, p. 342-343, 2002.

GRACIOSO, J. S. *et al.* Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.25, p.487-491, 2002.

GRAY, H.; GOSS, C. M. **Anatomia.** 29. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia Humana e Mecanismos das Doenças**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Funções secretoras do trato alimentar In: _____. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 64, p. 686-701, 2002.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

GYIRES, K.; MÜLLNER, K.; RÓNAI, A. Z. Functional evidence that gastroprotection can be induced by activation of central α_2B -adrenoceptor subtypes in the rat. **European Journal of Pharmacology**, v.396, n. 2-3, p.131-135, 2000.

HADACEK F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. U. Tremed Spearman-Karber. Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science & Technology**, v.11, n.7, p. 714-719, 1977.

HAN, J. *et al.* ATP-sensitive K^+ channel activation by nitric oxide and protein kinase G in rabbit ventricular myocytes. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, v.283, p. 1545-1554, 2002.

HAWKEY, C. J. Nonsteroidal antiinflammatory drug gastropathy. **Gastroenterology**, v.119, p. 521-535, 2000.

HIROKAWA, M. *et al.* A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v.74, p. 241-226, 2004.

HIRSCHOWITZ, B. I. *et al.* Pharmacological aspects of acid secretion. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 40, p. 3-23, 1995.

HOFFMAN, B. B. Fármacos antagonistas dos adrenorreceptores. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**. 10 ed. São Paulo: McGraw-Hill. p.127-141, 2007.

HOGAN, D. L. *et al.* The enteric nervous system modulates mammalian duodenal mucosal bicarbonate secretion. **Gastroenterology**, v.105, p. 410-417, 1993.

- HOLETZ, F. B.; *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002
- 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.
- HOOGERWERF, W. A.; PASRICHA, P. J. Pharmacotherapy of Gastric Acidity, Peptic Ulcer, and Gastroesophageal Reflux Disease. In: GOODMAN; GILMAN'S. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. Laurence Brunton, John Lazo and Keith Parker, McGraw-Hill, United States, 11. ed., p.869-882, 2006.
- HOU, W.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p. 593–598, 2006.
- HULLEY, S. B. *et al.* **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2003.
- IBGE. **Normas de Apresentação Tabular**. 3. ed. Rio de Janeiro, 1993.
- JAFFREY, S. *et al.* Protein S-nitrosylation: a physiological signal for neuronal nitric oxide. **Nature Cell Biology**, v 3, p. 193-97, 2001.
- JAMAL, A. *et al.* Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 149-153, 2006.
- JAVADPOUR, M. M. *et al.* Antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 3107-3113, 1996.
- KATO, S. *et al.* Expression of vanilloid receptors in rat gastric epithelial cells: role in cellular protection. **Biochemical Pharmacology**, v. 66, p. 1115-1121, 2003.
- KINGHORN, A. D. The role of pharmacognosy in modern medicine. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 3, n. 2, p. 77-79, 2002.
- KONTUREK, J. W.; THOR, P.; DOMSCHKE, W. Effects of nitric oxide on antral motility and gastric emptying in humans. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 7, p. 97–102, 1995.

KONTUREK, S. J. *et al.* From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, n. 4, p. 507-530, 2005.

KAWANO, S., TSUJI, S. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **Journal Gastrointestinal & Hepatology**, v. 15, p. 1-6, 2000.

KIM, P. K. M. *et al.* The regulatory role of nitric oxide in apoptosis. **International Immunopharmacology**, v.1, p.1421-1441, 2001.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D. N. Nitric oxide: an endogenous modulator of eukocyte adhesion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.88, p. 4651-4655, 1991.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 7. ed., Elsevier, 2005.

KUO, P. C.; SCHROEDER, R. A. The emerging multifaced roles of nitric oxide. **Annals of Surgery**, v.221, n. 3, p.230-235, 1995.

KUSAYAMA, T.; YAMAZAKI, J.; NAGAO, T. Flow dependence of nitric oxidemediated pressure change in rat mesenteric beds with different tonus. **European Journal of Pharmacology**, v. 312, p. 301–07, 1996.

KUTCHAI, H. C. Gastrointestinal secretions. In: **Principles of Physiology**. Ed. By BERNE, R. M.; LEVY, M. N. 2^a Edition, Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, p. 516-589, 1996.

LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J. H.; MAGALHÃES, P. J. C. Essential Oil of *Croton nepetaefolius* Decreases Blood Pressure through an Action upon Vascular Smooth Muscle: Studies in DOCA-Salt Hypertensive Rats. **Planta Médica**, v. 66, p. 138-143, 2000.

LAPA, A. J. *et al.* **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Campinas, São Paulo: Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, 2008.

LEVY, D.; STRASSMAN, A. M. Modulation of dural nociceptor mechanosensitivity by the nitric oxide-cyclic GMP signaling cascade. **Journal of Neurophysiology**, v.92, p.766-772, 2004.

- LEWIS, D. A., HANSON, P. J. Anti-ulcer drugs of plant origin In: G. P. Ellis; G. B. West. **Progress Medicinal Chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, v. 28, p. 201-231, 1991.
- LI, Y.; OHIZUMI, Y. Search for constituents with neurotrophic factor-potentiating activity from the medicinal plants of Paraguay and Thailand. **Yakugaku Zasshi**, v. 124, n. 7, p.417-424, 2004.
- LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Revisão taxonômica de *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s). **Biota Neotrópica**, v. 8, p. 177-231, 2008.
- LIU, C.; CRAWFORD, J. M. O trato gastrointestinal. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia: bases patológicas das doenças**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 17, p. 837-918, 2005.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum, 2002.
- LOWETH, A. C. *et al.* Evidence for the involvement of cGMP and protein kinase G in nitric oxide-induced apoptosis in the pancreatic B-cell line, HIT-T15. **FEBS Letters**, v.400, p. 285-288, 1997.
- LUCENA, M. F. A. **Estudos taxonômicos do gênero *Croton* L. (Crotonoideae – Euphorbiaceae) nas Zonas do Litoral e da Mata do estado de Pernambuco – Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 136p, 2001.
- MACHADO, J. G. S.; PINHEIRO, M. S.; MARÇAL, S. H. *et al.* Análise bioética da legislação brasileira aplicável ao uso de animais não-humanos em experimentos científicos, p. 45-62. In: GARRAFA, V.; CORDÓN, J. (Orgs.). **Pesquisas em bioética no Brasil de hoje**. São Paulo: Gaia, 2006.
- MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e aproveitamento de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: IOCE, 1989.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Editora UFC, 1997.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. **Pharmacology Letters**, v. 65, n. 2, p. 27-32, 1999.

MAYER, B. **Mecanismos envolvidos nas ações antiúlcera e antissecretora ácida dos extratos da *Salvia officinalis* L.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

MCCHESENEY, J. D.; CLARK, A. M.; SILVEIRA, E. R. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*. II. ent-Beyer-15-en-18-oic acid. **Pharmacology Research**, v.8, p. 1243-1247, 1991.

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

MILLER, M. J. *et al.* Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine *sangre de grado*. **The American Journal of Physiology**, v. 279, p. 192-200, 2000.

MIZUI T.; SHIMONO N.; DOTEUCHI M. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 43-50, 1987.

MUELLER, J. **Euphorbiaceae. Linnaea**, v.34, p. 77-142, 1865.

MUELLER, J. *Croton*. In CANDOLLE, A. P. **Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis**, v. 15, Victor Masson, Paris: p. 511-708, 1866.

MUELLER, J. *Croton*. In MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A. G. (eds.). **Flora brasiliensis**, v. 11, F. Fleischer, Lipsiae: p. 81-274, 1873.

MORIMOTO, Y. *et al.* Effects of Kb-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, p. 495-505, 1991.

MUSCARA, M. N.; WALLACE, J. L. Nitric oxide. V. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors. **The American Journal of Physiology**, v.276, p.1313-1316, 1999.

- NARAYAN, S. *et al.* *Pterocarpus santalinus*: a traditional herbal drug as a protectant against ibuprofen induced gastric ulcers. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 11, p. 958-962, 2005.
- NARDI, G. M. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* Bark. **Phytomedicine**, v.10, p.176-184, 2003.
- NAVARRETE, A. *et al.* Gastroprotection and effect of the simultaneous administration of Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) of the pharmacokinetics and antiinflammatory activity of diclofenac in rats. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 12, p. 1629-1636, 2005.
- NELSON, M. T.; QUAYLE, J. M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. **The American Journal of Physiology**, v.268, n. 4, p.799-822, 1995.
- NEWTON, J. N. *et al.* *Helicobacter pylori* *in vivo* causes structural changes in the adherent gastric mucus layer but barrier function is not compromised. **Gut**, v.43, p. 470-475, 1998.
- NY, L. *et al.* Impaired relaxation of stomach smooth muscle in mice lacking cyclic GMP-dependent protein kinase I. **British Journal of Pharmacology**, v.129, p.395-401, 2000.
- NODARI, R. O; GUERRA, M. P. Biodiversidade: Aspectos Biológicos, Geográficos, Legais e Éticos. In: SIMÕES, M .O, *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2a Edição. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2000.
- OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanolinduced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v.94, p.10-21, 1988.
- OECD. GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS. Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP), 2008.
- OLBE, L., CARLSSON, E., LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: The case histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 2, p.132-139, 2003.
- PALMER, R. M.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, p.524-26, 1987.

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

PAX, F.; HOFFMAN, H. Die Nturlichen pflanzenfamilien. 2.ed. In: ENGLER, A.; PRANTIL, K. **Leipzig: Engelmann**, p.208, 1931.

PAYO, H. A. *et al.* Tamizaje fitoquímico preliminar de espécies del género *Croton* L. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 35, p.203-206, 2001.

PETERSON, W. L. The role of acid in upper gastrointestinal hemorrhage due to ulcer and stress-related mucosal damage. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 9, n. 1, p. 43-46, 1995.

PETROVICK, P. R. New rules for phythopharmaceutical drug registration in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 51-55, 1999.

PFEILSCHFTER, J.; EBERHARDT, W.; HUWILER, A. Nitric oxide and mechanisms of redox signaling: matrix and matrix-metabolizing enzymes as prime nitric oxide targets. **European Journal of Pharmacology**, v.429, p.279-286, 2001.

PLOTKIN, M. J. Traditional Knowledge of medicinal plants: the search for new jungle medicines. In: AKERELE, O.; HEYWOOD, V.; SYNGE, H. **Conservation of medicinal plants. Cambridge: Cambridge University Press**, p. 53-64, 1991.

POLIT, D. F.; BECK, C. T.; HUNGLER, B. P. **Fundamentos da pesquisa em enfermagem: métodos, avaliação e utilização**. Porto Alegre: Artmed; 2004.

POLSON, J. B.; STRADA, S.J. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and vascular smooth muscle. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v.36: p.403-427, 1996.

POLTE, T.; OBERLE, S.; SCHRODER, H. Nitric oxide protects endothelial cells from tumor necrosis factor-a-mediated cytotoxicity: possible involvement of cyclic GMP. **FEBS Letters**, v.409, p.46-48, 1997.

PORTH, C. M.; KUNERT, M. P. **Fisiopatologia**. 6. ed. Ed: Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004.

PUEBLA, P. *et al.* Neo-clerodane diterpenoids from *Croton schiedeanus*. **Phytochemistry**, v. 62, p. 551-555, 2003.

RADOMSKI, M.W.; MONCADA, S. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. **Thrombosis and Haemostasis**, v.70, p.36-41, 1993.

RAHGOZAR, M. *et al.* Diazoxide, a K(ATP) opener, accelerates restitution of ethanol or indomethacin-induced gastric ulceration in rats independent of polyamines. **Journal Gastrointestinal & Hepatology**, v.16, n. 3, p. 290-296, 2001.

RANG, H.P. *et al.* **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora. Tradução da 5ª edição americana, 2004.

RATES, S. M. Plants as source of drugs. **Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology**, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. L. 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 PRATA, E. M.; PAULO, M. Q.; SOUZA BRITO, A. R. M. Isolamento do princípio ativo de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacologia**, 74, n. 2, p.36-41, 1993.

RIZSK, A.F. The chemical constituents and economic plants of the Euphorbiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 94, p.293-326, 1987.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia – Biotecnologia**. Ed. Premier, 1997.

ROBERT, A. *et al.* 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.

ROBERTS, II L. J.; MORROW, J. D. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. editores. **Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10. ed. New York: McGraw-Hill, p. 687-731, 2001.

ROENGSUMRAM, S. *et al.* Labdane diterpenoids from *Croton oblongifolius*. **Phytochemistry**, v. 50, p. 449-453, 1999.

RUBIN, E.; PALAZZO, J. P. Trato gastrointestinal. In: RUBIN, E. *et al.* **Patologia: bases clinicopatológicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 13, p. 673-750, 2006.

RUJJANAWATE, C. *et al.* Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, p. 120-122, 2005.

SAKAI, H. *et al.* A gastric housekeeping Cl channel activated via prostaglandin EP3 receptor-mediated Ca²⁺ nitric oxide/cGMP pathway. **The Journal of Biological Chemistry**, v.270, p.18781-18785, 1995.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of croton espécies (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18, n. 1, p.11-33, 2007.

SAMONINA, G. E.; *et al.* Antiulcer affects of amylin: a review. **Pathophysiology**, v.11, p.1-6, 2004.

SANTOS, P. M. L.; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R. M. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15, n. 4, p. 321-325, out/dez, 2005.

SCHADE, C.; FLEMSTROM, G.; HOLM, L. Hydrogen-ion concentration in the mucus layer on top of acid-stimulated and acid inhibited rat gastric mucosa. **Gastroenterology**, v.107: p. 180-188, 1994.

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

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Currente Opinion in Gastroenterology**, v. 20, p. 519-525, 2007.

SCHULTES, R. E.; REIS, S. V. **Ethnobotany – Evolution of a Discipline. Part 8**, p. 285 - 288, 1995.

SESSA, W. C. *et al.* Molecular cloning and expression of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide synthase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 267, p. 15274–15276, 1992.

- SHAH, V.; KAMATH, P.; DE GROEN, P. Physiology of the splanchnic circulation. In: Topol E, Lanzer F, eds. **Theory and practice of vascular diseases**. Germany: Springer Verlag, p.1688-1694, 2002.
- SHAH, V.; LYFORD, G.; GORES, G.; FARRUGIA, G.. Nitric Oxide in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, v.126, p.903–13, 2004.
- SILVA, R.M. *et al.* Blood glucose and triglyceride-lowering effect of trans-dehydrocrotonin, a diterpene from *Croton cajucara* Benth., in rats. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, v.3, p.452-456, 2001.
- SILVA, J. S. *et al.* O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 4, p.879-901. 2009.
- SILVEIRA, E. R. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas nativas do Nordeste – *Croton sonderianus* Muell. Arg.** Dissertação de Mestrado, Fortaleza, 1979.
- SOCORRO, S. R. M. S. *et al.* Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.47, p.1895-901, 2003.
- SOUZA BRITO, A. R. M. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 54, p. 131-138, 1996.
- SOUZA BRITO, A. R. M., NUNES, D.S. Ethnopharmacology and sustainable development of new plant-derived drugs. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 5-6, p. 402-408, 1997.
- STANDEN, N. B. *et al.* Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. **Science**, v.14, p.177-180, 1989.
- STAMLER, J.; LAMAS, S.; FANG, F. Nitrosylation: the prototypic redoxbased signaling mechanism. **Cell**, v. 106, p. 675–83, 2001.
- STRUGALA, V. *et al.* The colonic mucus barrier and changes in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v.114, 1998.
- SUAREZ, A.I. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* Bark aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88: p.11-14, 2003.

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

TACK, J. *et al.* Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. **Gut**, v.51, p.219–24, 2002.

TAKEUCHI, K. *et al.* Role of endogenous prostacyclin in gastric ulcerogenic and healing responses – a study using IP-receptor knockout mice. **Journal of Physiology**, v. 95, p.75-80, 2001

TAKEUCHI, K. *et al.* Involvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin E₂ and EP₁ receptors in acid-induced HCO³⁻ secretion in stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.57, p. 661-676, 2006.

TARDIO, J.; PARDO-DE-SANTAYANA, M. Cultural importance indices: a comparative analysis based on the useful wild plants of Southern Cantabria (Northern Spain). **Economic Botany**, v. 62, n.1, p. 24-39, 2008.

TAYLOR, A. B.; REHM, J. When risk factors combine: The interaction between alcohol and smoking for aerodigestive cancer, coronary heart disease, and traffic and fire injury. **Addictive Behaviors**, *In press*, 2006.

THONGTAN, J. *et al.* New antimycobacterial and antimalarial 8,9-secokaurane diterpenes from *Croton kongensis*. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 868-870, 2003.

TOMA, W. *et al.* Antiulcerogenic activity of four extracts from the barks Wood of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n. 9, p. 1151-1155, 2002.

TOLEDO, A .C. O. *et al.* Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Lecta**. Bragança Paulista, v. 21, n. 1-2, p. 7-13, jan/dez, 2003.

TSUKIMI, Y.; OKABE, S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 1, p. 1-9, 2001.

TWARDOWSCHY, A. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae)**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia): Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

UEKI, S.; TAKEUCHI, K.; OKABE, S. Gastric motility is an important factor in the pathogenesis of indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. **Digestive Diseases and Science**, v.33: p. 209-216, 1988.

VIGOR, C. *et al.* Three clerodane diterpenoids from *Croton eluteria* Bennett. **Phytochemistry**, v. 57, p. 1209-1212, 2001.

XIE, Q.W. *et al.* Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. **Science**, v. 256, p. 225–28, 1992.

WAGNER; WISENAUER. **Fitoterapia: fitofármacos, farmacologia e aplicações clínicas**. São Paulo – SP: Ed. Pharmabooks, 2006.

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

WALLACE, J.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: the second hundred years. **Gastroenterology**, v. 112, p. 1000-1016, 1997.

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

WALLACE, J. L. Recent advances in gastric ulcer therapeutics. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, p.573-577, 2005.

WEBSTER, G.L. The genera of the Euphorbiaceae in the South-Eastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum. Arnold Arboretum**, v. 48, p.303, 1967.

WEBSTER, G. L. A provisional synopsis of the section of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). **Taxon**, v. 42, p. 793-823, 1993.

WHITTLE, B. J. R.; KAUFFMAN, G. L.; MONCADA, S. Vasoconstriction with thromboxane A₂ induces ulceration of the gastric mucosa. **Nature**, v. 292, p. 472-474, 1981.

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

WHITTLE, B. J. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 17, p. 301-313, 2003.

WILSON, S. R. The chemistry of the Euphorbiaceae. A new diterpene from *Croton californicus*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 98, n. 12, p. 3669-3374, 1976.

YELKEN, B. *et al.* Clonidine pretreatment inhibits stress-induced gastric ulcer in rats. **Anesthesia & Analgesia**, v. 89, p. 159-162, 1999.

YUAN, Y.; PADOL, I. T.; HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, v.3, n. 2, 2006.

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

ZAYACHKIVSKA, O.S. *et al.* Influence of plant-originated gastroprotective and antiulcer substances on gastric mucosal repair. **Fiziologicheskii Zhurnal**, v.50, p.118-127, 2004.

ZLABEK, J. A.; ANDERSON, C. G. Lansoprazole-induced thrombocytopenia. **Annals of Pharmacotherapy**, v.36, p.809-811, 2002.

ANEXOS

ANEXO A – Tabelas de resultados sobre os testes de gastroproteção com os dados dos percentuais de área ulcerada e de redução de lesão gástrica.

ANEXO B – Figuras dos aspectos macroscópicos da mucosa gástrica dos estômagos de roedores

ANEXO A - Tabelas de resultados sobre os testes de gastroproteção com os dados dos percentuais de área ulcerada e de redução de lesão gástrica.

Tabela 7. Efeito do EHFCC (via oral) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	18,57±1,87	-
Controle positivo (Omeprazol)	30,v.o.	0,78±0,34***	95,79
EHFCC	50,v.o.	1,34±0,66***	92,78
	75,v.o.	1,11±0,67***	94,02
	125,v.o.	0,93±0,43***	94,99
	250,v.o.	0,87±0,54***	95,31
	500,v.o.	0,82±0,31***	95,58
	750,v.o.	0,53±0,16***	97,14

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC, o omeprazol ou o veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado), por via oral, 30 minutos antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 6 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 8. Efeito do EHFCC (via intraperitoneal) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	26,60±3,43	-
EHFCC	75,i.p.	4,17±1,05***	65,03
EHFCC	75,v.o.	1,11±0,67***	94,02

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC (i.p. e v.o.) ou o veículo (0,1ml/10g, i.p., para o grupo controle lesionado), 30 minutos antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 6 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle lesionado (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 9. Efeito do EHFCC no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	23,19±3,09	-
Controle positivo (Omeprazol)	30,v.o.	3,58±0,56***	84,56
EHFCC	50,v.o.	3,04±0,80***	86,89
	75,v.o.	1,94±0,70***	91,63
	125,v.o.	1,67±0,75***	92,79
	250,v.o.	2,40±0,99***	89,65
	500,v.o.	0,52±0,30***	97,75
	750,v.o.	0,59±0,26***	97,45

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC, o omeprazol ou o veículo (0,1ml/10 g para o grupo controle lesionado), por via oral, 30 minutos antes da administração oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 6 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 10. Efeito do EHFCC no modelo de lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina) em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	12,61±3,27	-
Controle positivo (Omeprazol)	30,v.o.	0,40±0,24***	96,82
EHFCC	250,v.o.	0,63±0,11***	95,00
	500,v.o.	0,33±0,08***	97,38
	750,v.o.	0,47±0,17***	96,27

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC, o omeprazol ou o veículo (0,1 ml/10 g para o grupo controle lesionado). Após uma hora foi administrado subcutaneamente a indometacina (10 mg/Kg) e após três horas, foram repetidos os tratamentos com o veículo, o extrato e o omeprazol. Seis horas após a administração da indometacina, os animais foram sacrificados. Foram utilizados 6 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 11. Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	20,52±2,29	-
Controle Lesionado + L-NAME	10,i.p.	28,73±3,83	-
Controle Lesionado + L-ARGININA	600,v.o.	1,47±0,38***	92,83
EHFCC	75,v.o.	1,11±0,67***	94,59
EHFCC + L-NAME	75,v.o. + 10,i.p.	30,65±6,55	-

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC ou veículo (0,1ml/10 g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, do L-NAME por via intraperitoneal, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 12. Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	18,57±1,87	-
Controle Lesionado + indometacina	10,v.o.	13,09±1,92	-
Controle Lesionado + misoprostol	0,016,v.o.	0,57±0,25***	96,95
EHFCC	75,v.o.	1,11±0,67***	94,02
EHFCC + indometacina	75,v.o. + 10,v.o.	3,95±1.15***	78,72

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da Indometacina por via oral, 2 horas antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle lesionado, **p<0,01 vs controle (CL) (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 13. Papel dos receptores noradrenérgicos α_2 no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	23,22±2,08	-
Controle Lesionado + ioimbina	2,i.p.	30,34±4,96	-
EHFCC	75,v.o.	0,91±0,63***	96,34
EHFCC + ioimbina	75,v.o. + 2,i.p.	9,30±0,59**	59,94

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da Ioimbina por via intraperitoneal, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle lesionado, **p<0,01 vs controle lesionado (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 14. Papel dos Canais de K⁺ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHFCC em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	17,17±2,44	-
Controle Lesionado + glibenclamida	5,i.p.	13,30±2,25	-
EHFCC	75,v.o.	1,11±0,67***	91,65
EHFCC + glibenclamida	75,v.o. + 5,i.p.	1,23±0,53***	90,75

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC ou veículo (0,1 ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da glibenclamida por via intraperitoneal, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle lesionado (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 15. Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHFCC em associação à capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

GRUPOS	DOSE (mg/kg;via)	ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)	PERCENTUAL DE REDUÇÃO
Controle Lesionado (veículo)	-	23,80±3,80	-
Controle Lesionado + capsaicina	4,v.o.	1,60±0,49***	93,27
Controle Lesionado + capsaicina	0,2,v.o.	6,94±0,96***	73,78
EHFCC	7,5,v.o.	13,19±1,81***	50,17
EHFCC + capsaicina	7,5,v.o. + 0,2,v.o.	2,84±1,04***	89,27

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHFCC ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, da capsaicina por via oral, 1 hora antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHFCC, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. ***p<0,001 vs controle lesionado (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

Tabela 16. Efeito do EHFCC sobre a motilidade intestinal em camundongos.

GRUPOS	DOSE/VIA	DISTÂNCIA PERCORRIDA PELO MARCADOR (%)
Controle (veículo)	-	82,77±4,29
EHFCC	75mg/kg,v.o.	84,20±3,94
Atropina	0,01g/kg,v.o.	63,21±2,05**

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da distância percorrida pelo marcador. Administrou-se tratamento com o EHFCC, atropina ou o veículo (0,1ml/10g, para o grupo controle lesionado), 1 hora antes da administração oral de carvão ativado 10% (0,1 mL/10g, v.o.). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do marcador. Foram utilizados 10 animais por grupo. **p<0,01 vs controle (veículo) (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

ANEXO B - Figuras dos aspectos macroscópicos da mucosa gástrica dos estômagos de roedores

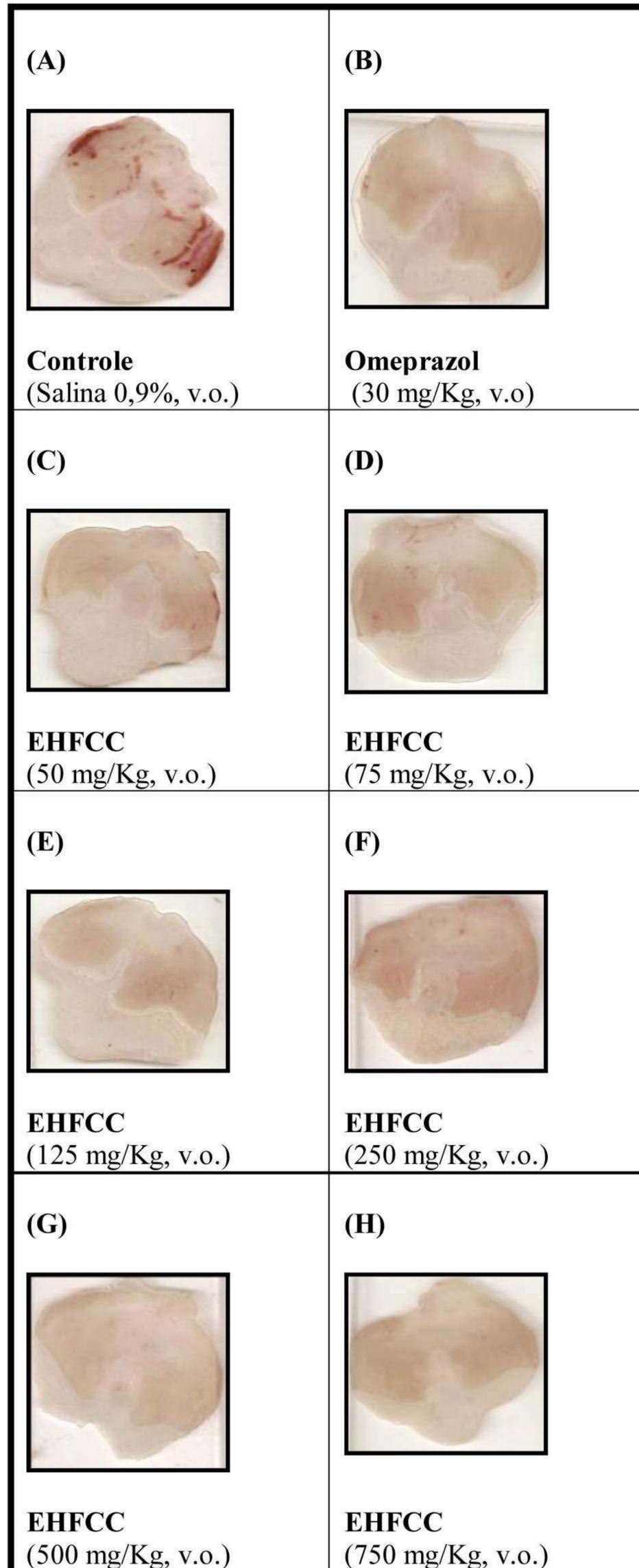


Figura 20. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G) e (H) observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

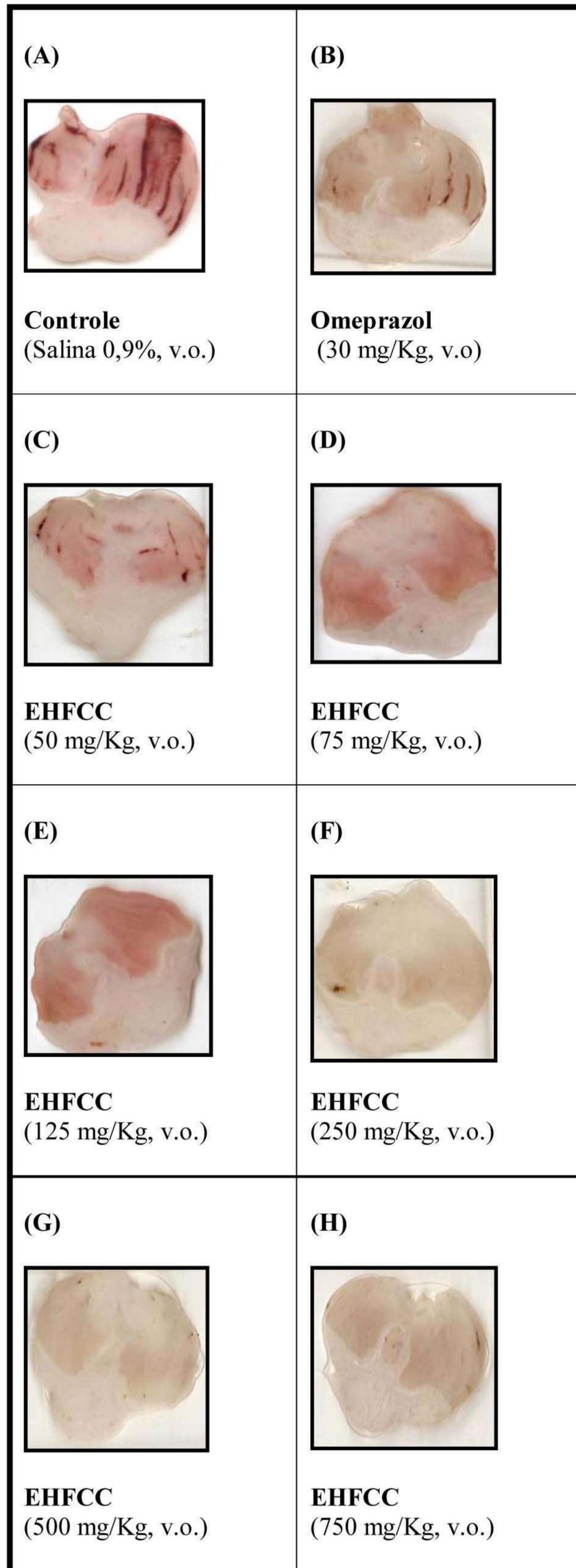


Figura 21. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G) e (H) observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

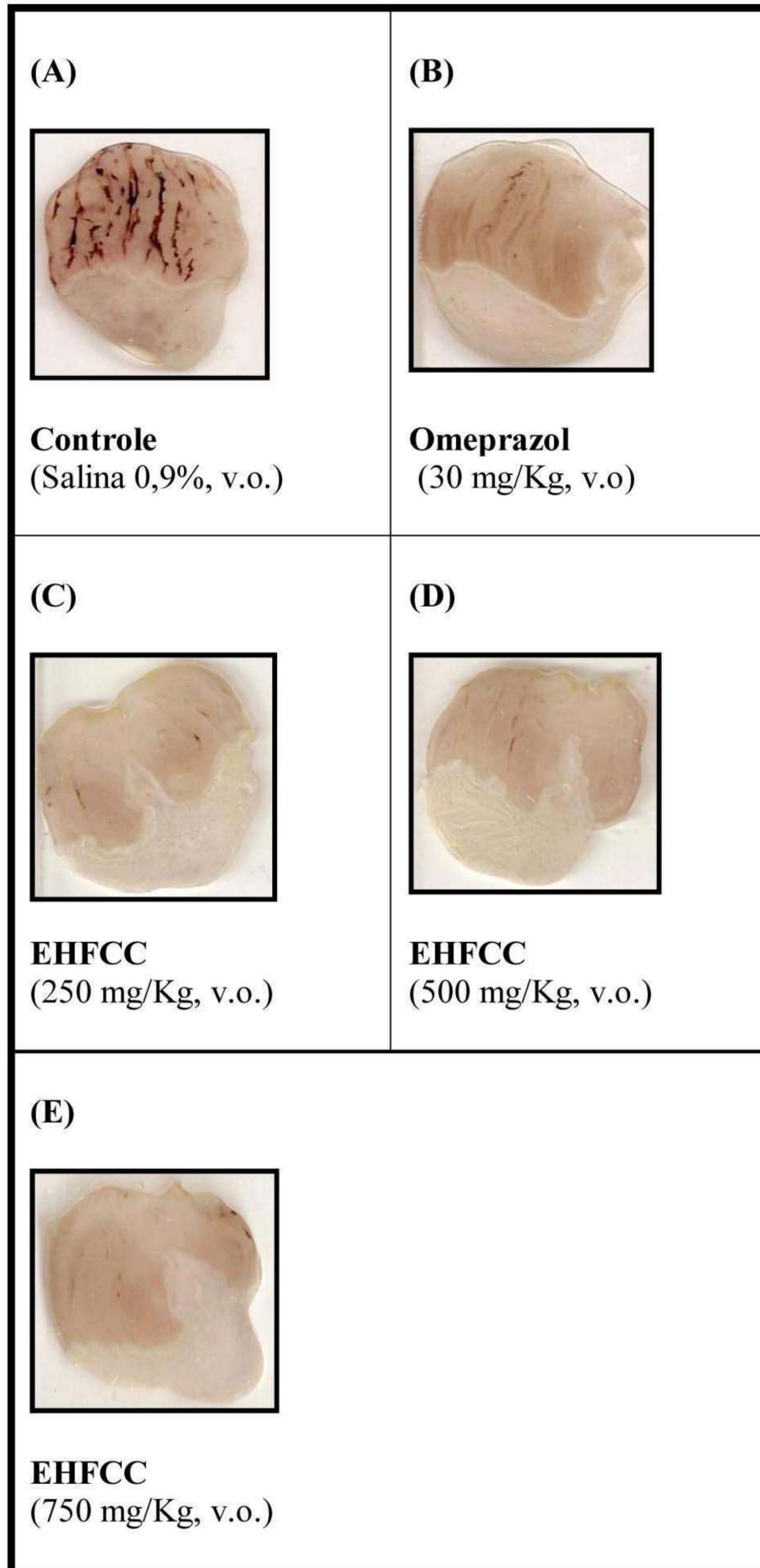


Figura 22. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores em modelo de lesões gástricas induzidas por DAINES (indometacina). Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D) e (E), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

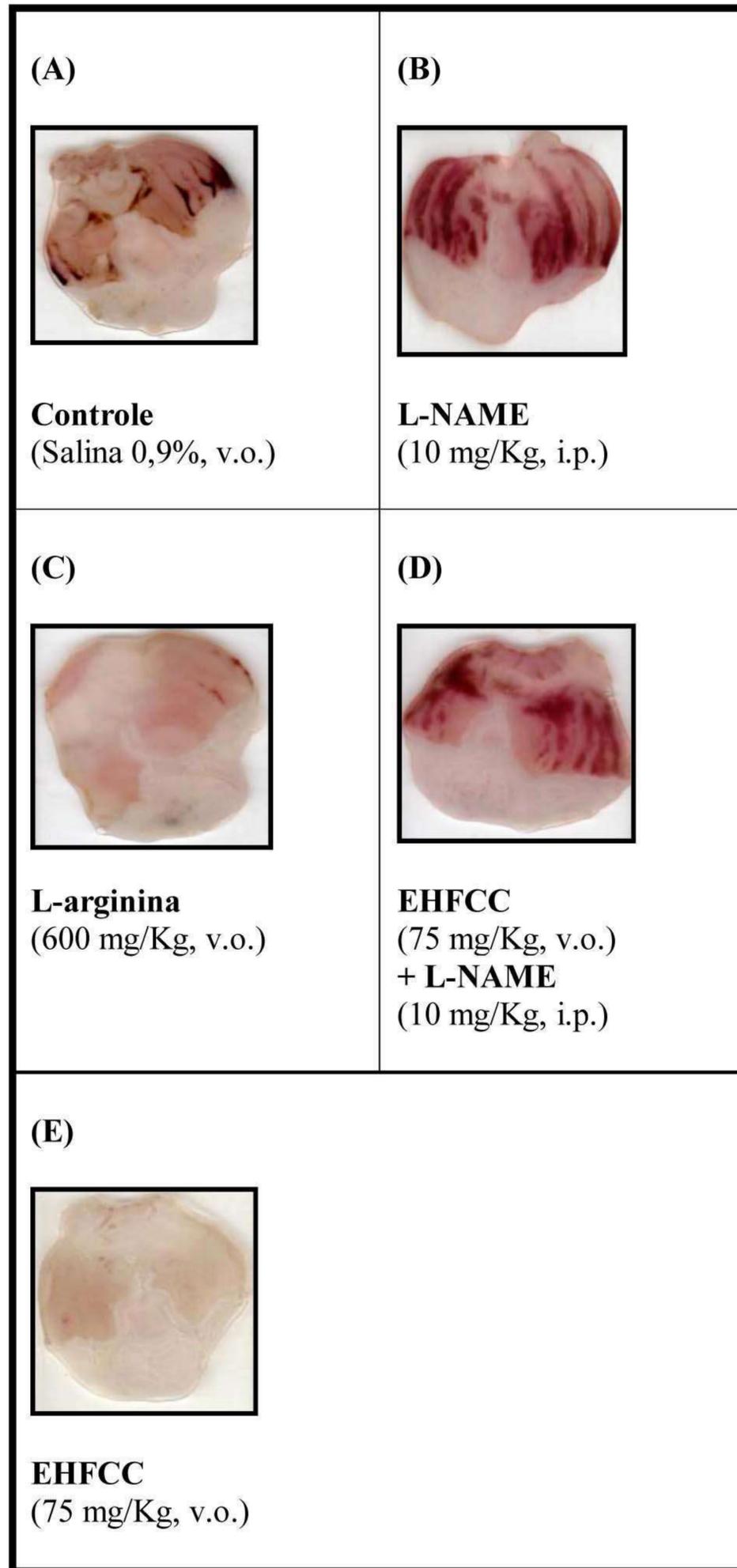


Figura 23. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento do óxido nítrico. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D) e (E), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

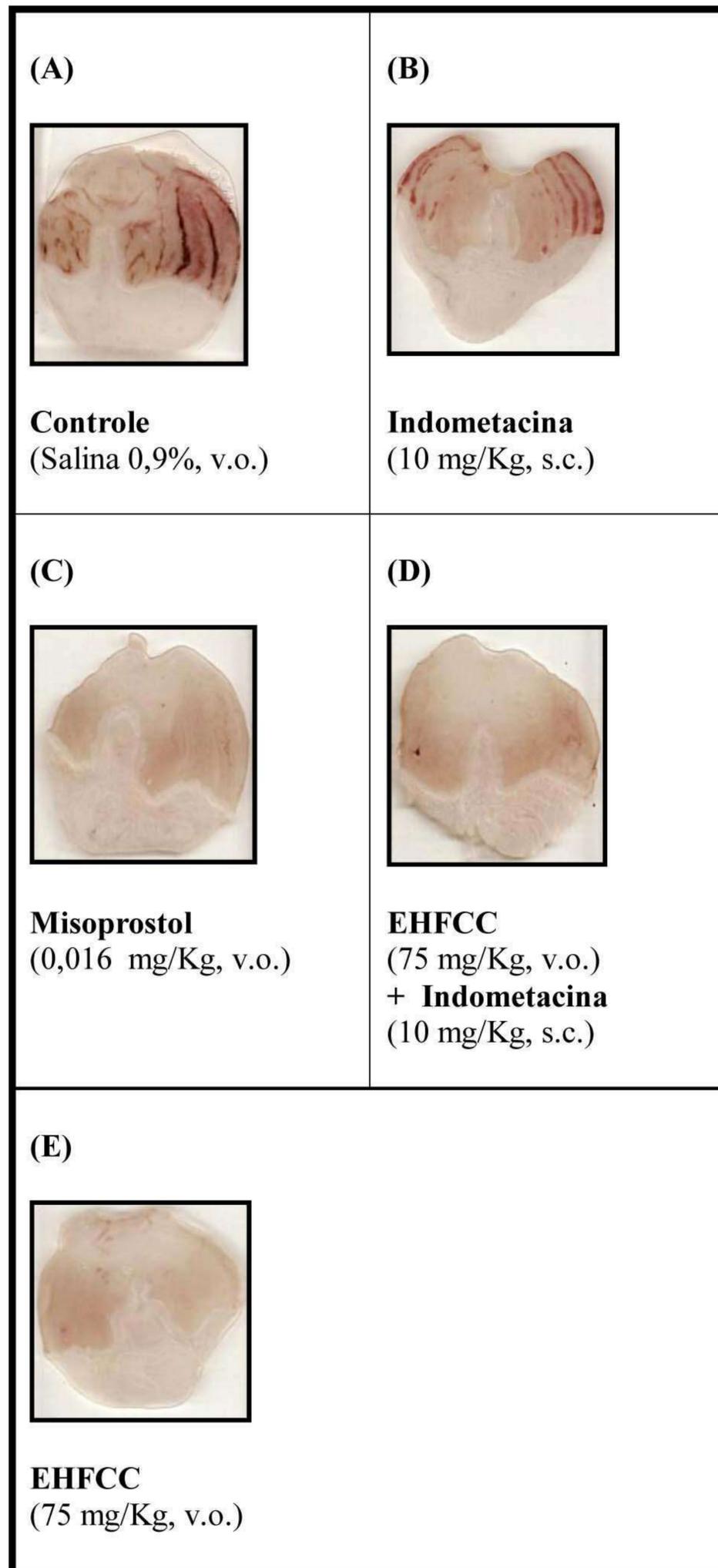


Figura 24. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento das prostaglandinas. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D) e (E), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

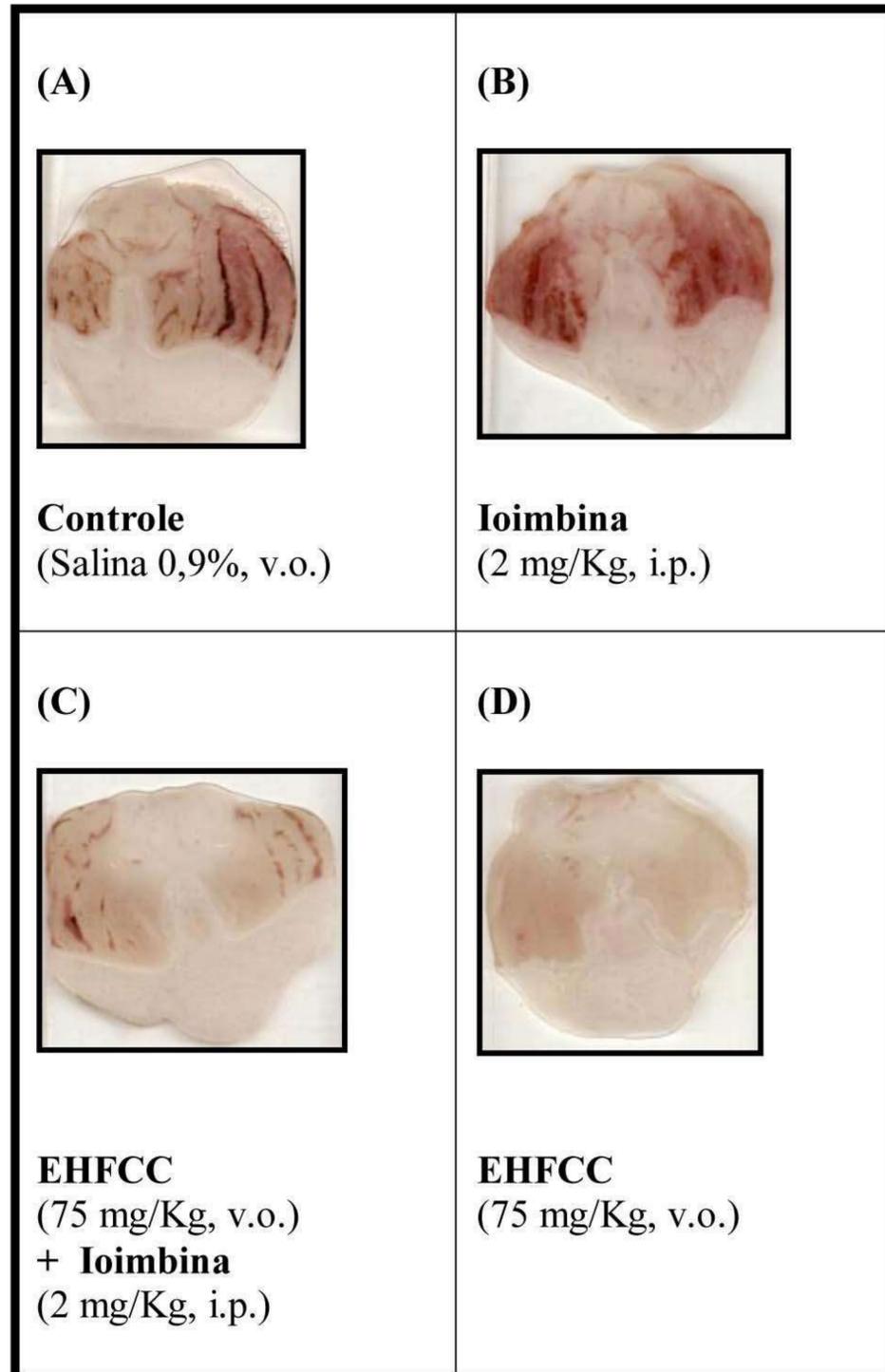


Figura 25. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento dos receptores noradrenérgicos α_2 . Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C) e (D), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

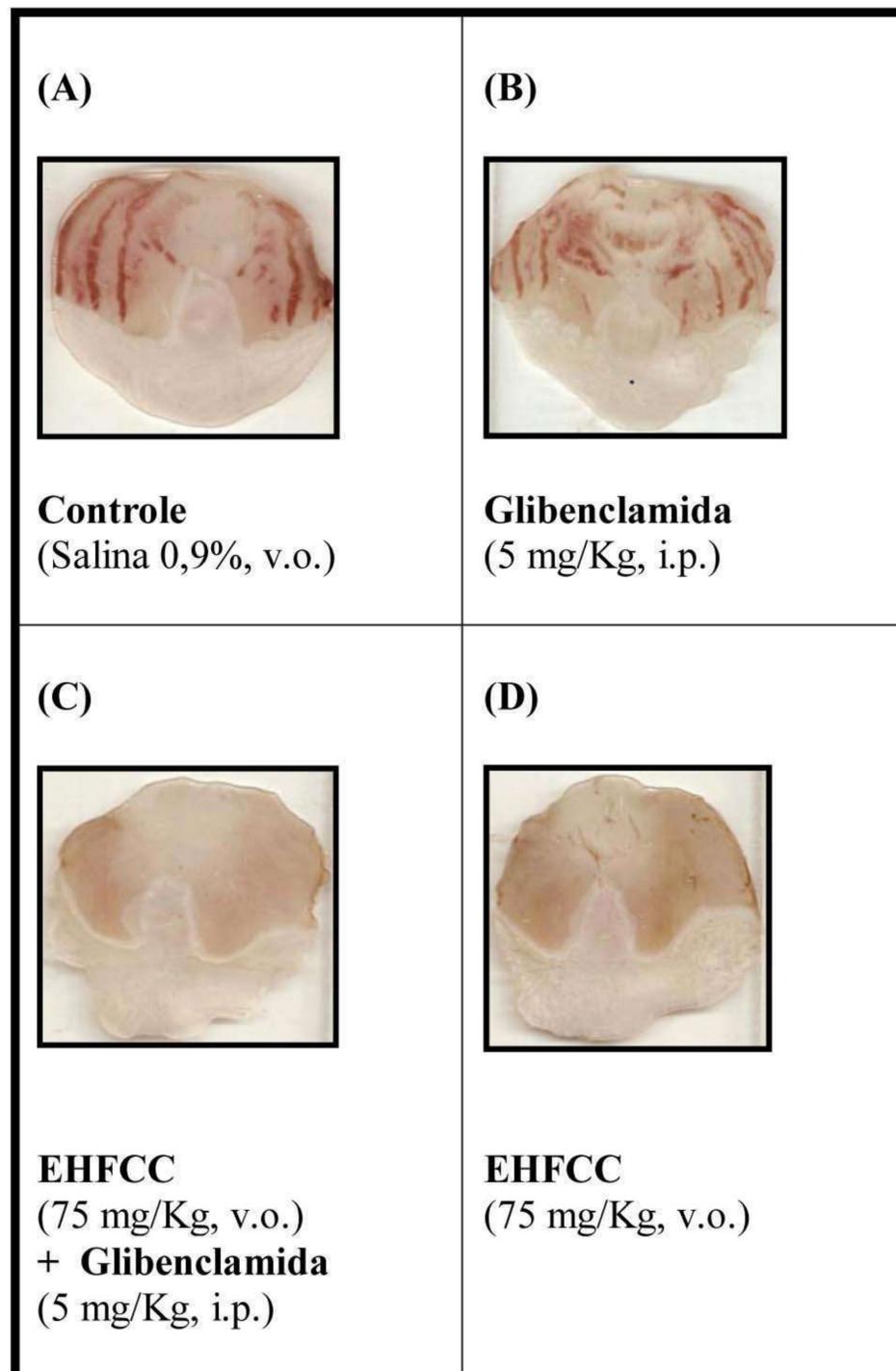


Figura 26. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores no mecanismo de envolvimento dos canais de K^+ dependentes de ATP. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C) e (D), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

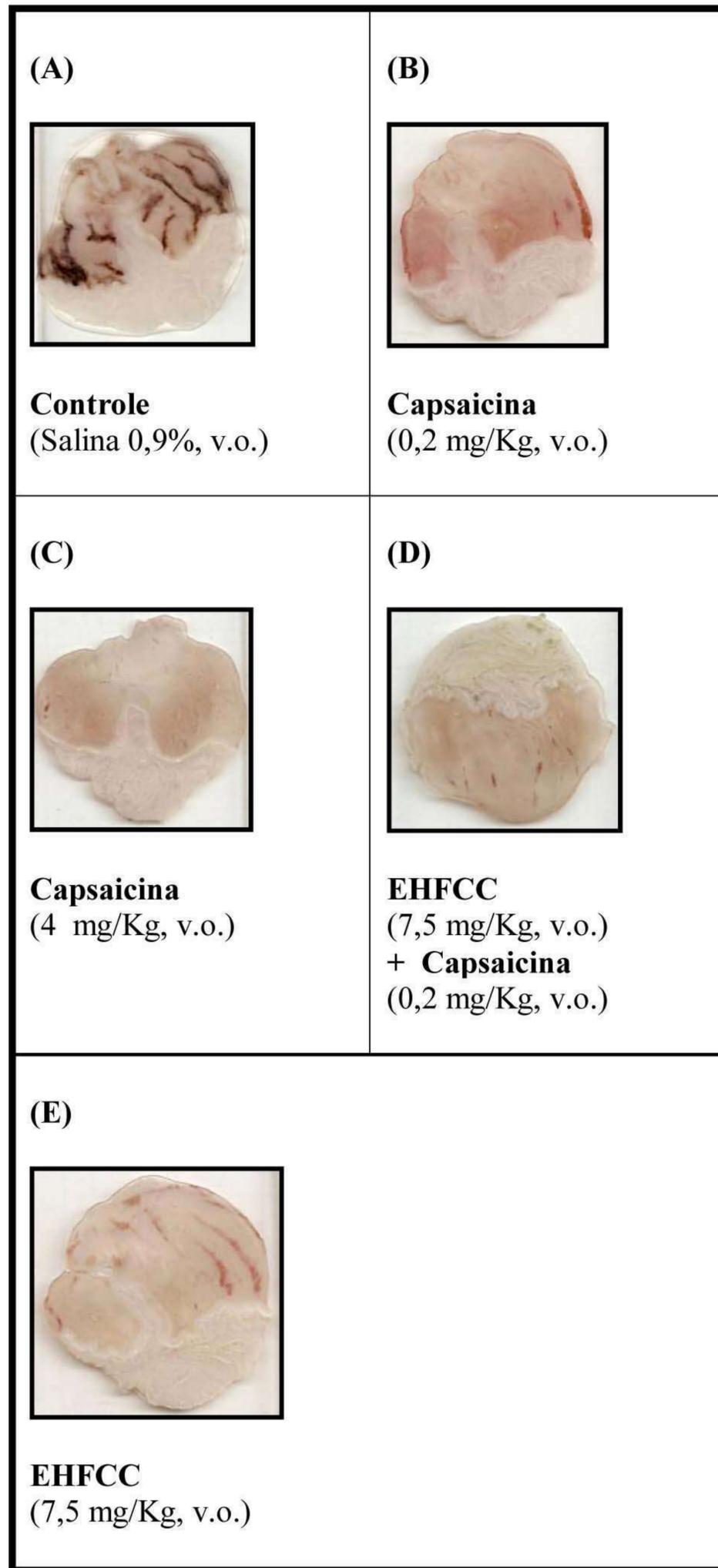


Figura 27. Aspectos macroscópicos da mucosa estomacal de roedores na associação do EHFCC com a capsaicina. Os estômagos foram abertos pela grande curvatura, (A), (B), (C), (D) e (E), observando-se as drogas e substâncias utilizadas (doses e vias de administração).

APÊNDICES

APÊNDICE A – Formulário da pesquisa etnofarmacológica.

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido

**APÊNDICE A - MODELO DE FORMULÁRIO PARA PESQUISA
ETNOFARMACOLÓGICA SOBRE O VELAME DO CAMPO**

1. LOCAL DE COLETA DAS INFORMAÇÕES:

MUNICÍPIO: _____ UF: _____

LOCALIDADE: _____

2. DADOS DO INFORMANTE:

NOME: _____

IDADE: _____ SEXO: F () M () NATURALIDADE: _____

TEMPO QUE RESIDE NA ÁREA: _____ OCUPAÇÃO: _____

3. DADOS SOBRE A PLANTA E SEU USO:

NOME(S) POPULAR (ES) DA PLANTA: _____

PARTE UTILIZADA: _____ VIA: _____

TEMPO EM QUE SE UTILIZA A PLANTA: _____

MODO DE PREPARO:

INDICAÇÕES GERAIS PARA USO:

MODO GERAL DE UTILIZAÇÃO:

VARIAÇÃO NO MODO DE UTILIZAÇÃO *versus* INDICAÇÃO:

FREQUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO *versus* INDICAÇÃO:

DURAÇÃO DO TRATAMENTO *versus* INDICAÇÃO:

RESTRICÇÕES AO USO:

QUEM MAIS UTILIZA? HOMEM? _____ MULHER? _____

CRIANÇA? _____ IDOSO? _____

FAIXA DE IDADE QUE MAIS UTILIZA: _____

RESULTADOS GERAIS OBTIDOS COM O USO?

¹ Modelo de formulário adaptado de Matos (1998).

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e esclarecido

Eu, _____, declaro estar ciente da pesquisa sob o título: **BIOPROSPECÇÃO FARMACOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS DO NORDESTE BRASILEIRO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA E ANTIMICROBIANA DO *Croton Campestris* A.St.-Hill. (VELAME DO CAMPO)** a qual tem como objetivo realizar o estudo das atividades biológicas do extrato hidroalcoólico liofilizados das folhas do *Croton campestris* St. Hill – Euphorbiaceae (velame do campo).

Estou ciente, também, de que tenho direito a esclarecimentos a qualquer momento e que os mesmos se fizerem necessários, de que tenho plena liberdade de recusar a participar desta pesquisa, ou, mesmo tendo aceitado e assinado este termo, de excluir meu consentimento, no todo ou em parte dos dados em qualquer fase do processo, sem que disso resulte algum prejuízo, e que os dados são confidenciais e serão mantidos em sigilo, conforme assegura a resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde.

Estou ciente de que não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação.

Tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando ciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, da isenção de despesas, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO e permito que os pesquisadores utilizem os resultados da análise do formulário com confidencialidade, inclusive para publicação.

Assinatura do sujeito do estudo

Francisco Elizaudo de B. Junior
Pesquisador

Profª Drª Marta Regina Kerntopf
Orientadora

Data: ____/____/____

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](#)