



UNIVALI

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

JOSÉ ROBERTO SANTIN

**CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE
GASTROPROTETORA DE *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. –
MARCELA (ASTERACEAE).**

Itajaí, Julho de 2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ
PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS BIOATIVAS

JOSÉ ROBERTO SANTIN

CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE
GASTROPROTETORA DE *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. –
MARCELA (ASTERACEAE).

Dissertação submetida ao Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, da Universidade do Vale do Itajaí, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Faloni de Andrade

Co-orientador: Prof. Dr. Rivaldo Niero

Itajaí, Julho de 2010

**CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE
GASTROPROTETORA DE *Achyrocline satureoides* (Lam.)
D.C. – MARCELA (ASTERACEAE).**

José Roberto Santin

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Produtos Naturais e Substâncias Bioativas e aprovada em sua forma ideal pelo Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí.

Sérgio Faloni de Andrade, Doutor
Orientador

Tânia Mari Bellé Bresolin, Doutora
Coordenadora do Programa Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Apresentado perante a Banca Examinadora composta pelos Professores:

Doutor Sérgio Faloni de Andrade (UNIVALI)
Presidente

Doutor Rivaldo Niero (UNIVALI)
Co-orientador

Doutora Márcia Maria de Souza (UNIVALI)
Membro Interno

Doutora Elfriede Marianne Bacchi (FCF-USP)
Membro Externo

Dedicatória

*Aos meus pais Eloi e Antonia, pelo
esforço, dedicação e compreensão, em
todos os momentos desta e de outras
caminhadas*

AGRADECIMENTOS

Embora uma dissertação seja, pela sua finalidade acadêmica, um trabalho individual, há contributos de natureza diversa que não podem nem devem deixar de ser realçados. Por essa razão, desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:

Primeiramente a Deus, que sempre guiou meus passos;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Faloni de Andrade, os maiores e mais sinceros agradecimentos. Sua confiança, amizade e orientação foram capazes de me fazer trilhar por um crescimento profissional que julgava impossível em tão pouco tempo;

Ao co-orientador, prof. Dr. Rivaldo Niero, que com sua experiência e conhecimentos acrescentou muito a meu trabalho;

A professora, Dra. Márcia Maria de Souza, pela sua amizade, carinho e ensinamentos;

Aos docentes do programa de mestrado que, em maior ou menor grau, contribuíram para minha formação profissional e que sempre estiveram abertos às minhas indagações.

À minha família pela minha formação pessoal e principalmente por respeitar e acreditar nas minhas decisões. Amo vocês;

À minha namorada, Isabel. Pelos dias maravilhosos em sua convivência, pelo seu bom humor, sorrisos, sonhos e amor. Acredito que com você ao meu lado tudo é possível. Te amo;

A funcionária do laboratório de farmacologia, Maria Angélica (Maggie), pelo carinho, atenção e auxílios prestados para realização desse trabalho.

A funcionária do biotério de odontologia, Mária, pela ajuda no cuidado dos animais;

Ao funcionário do laboratório de fitoquímica, Joel, pela ajuda e amizade;

Ao apoio, amizade e companheirismo dos meus amigos, Luiz, Philipe, Marivane, Ana Paula, Juliana e Alessandro;

Aos muitos que não citei, amigos que direta ou indiretamente, foram importantes não só na elaboração desta dissertação, mas que fizeram parte desta grande escola que molda o caráter e a personalidade do ser humano, a "vida".

"O mal de quase todos nós é que preferimos ser arruinados pelo elogio a ser salvos pela crítica".

Norman Vincent Peale

CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. – MARCELA (ASTERACEAE).

JOSÉ ROBERTO SANTIN

Julho, 2010

Orientador: Sérgio Faloni de Andrade, Doutor.

Co-orientador: Rivaldo Niero, Doutor.

Área de Concentração: Produtos naturais e substâncias bioativas.

Número de Páginas: 71

Achyrocline satureoides é uma planta medicinal conhecida como “marcela”. A infusão das inflorescências é utilizada na medicina popular como antiespasmódica, anti-inflamatória, hipoglicemiante, hipocolesterolêmico e para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, tais como úlceras gástricas. No entanto, a atividade antiúlcera não foi estudada. Este estudo foi realizado para avaliar a atividade antiúlcera do extrato hidroalcoólico, fração hexânica e metanólica das inflorescências de *A. satureoides*. Para determinação da atividade foram empregados os ensaios de: úlcera induzida por etanol, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), ácido acético, ligadura de piloro (pH, volume e acidez total), dosagem de muco e avaliação do mecanismo de ação utilizando inibidor da óxido nítrico sintase (L-NAME) e quelante de grupamentos sulfidríla (NEM). No modelo do etanol o tratamento com o extrato e frações reduziu o índice de lesões $34,83 \pm 6,17$; $17,00 \pm 4,75$; $5,66 \pm 5,07$ para os grupos tratados com 100, 250 e 500 mg/kg e $4,0 \pm 1,75$; $4,2 \pm 1,80$ para os grupos tratados com 500 mg/kg de fração hexânica e metanólica respectivamente quando comparados ao grupo controle ($41,33 \pm 3,73$). Significante inibição foi observada no índice de lesão no modelo de úlcera induzida por AINEs, com decréscimo $16,83 \pm 4,71$; $13,40 \pm 3,61$; $10,16 \pm 2,22$ para os grupos tratados com 100, 250 e 500 mg/kg de extrato, e $2,16 \pm 0,87$; $9,83 \pm 0,79$ para os grupos tratados com 500 mg/kg de fração hexânica e metabólica respectivamente quando comparados ao grupo controle ($32,66 \pm 6,88$). Na úlcera crônica induzida por ácido acético o extrato e as frações na dose de 500 mg/kg reduziram significativamente ($p < 0,01$) a % de área lesada quando comparados ao controle. O pH, volume e acidez total, não foram observadas diferenças significativas. Na avaliação da produção de muco observou-se aumento significativo ($p < 0,01$) do muco nos animais tratados com 100, 250 e 500 mg/kg de extrato e 500 mg/kg de fração hexânica e metanólica. No modelo utilizando L-NAME observou-se que o extrato perdeu levemente a gastroproteção, já a fração metanólica perdeu a gastroproteção quando comparada ao grupo controle. No modelo utilizando NEM, não foi observada perda da gastroproteção em nenhum dos grupos. No ensaio de toxicidade nenhum sinal foi observado. Os resultados do estudo mostram que o extrato hidroalcoólico de *A. satureoides* e as frações exibem atividade antiúlcera. A atividade aparentemente não é relacionada a mecanismos anti-secretores. O provável mecanismo de ação esta ligado ao aumento da produção de muco, bem como influência da via do óxido nítrico. Além disso, este trabalho corrobora o uso popular de preparações de *A. satureoides* contribuindo para a validação de uso popular.

Palavras-chave: *Achyrocline satureoides*; antiúlcera; gastroproteção; marcela.

CONTRIBUTION TO THE VALIDATION OF GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. - MARCELA (Asteraceae).

JOSÉ ROBERTO SANTIN

July, 2010

Supervisor: Sérgio Faloni de Andrade, Doctor.

Co-supervisor: Rivaldo Niero, Doctor.

Area of Concentration: Natural Products and Bioactive Synthetic Substances

Number of Pages: 71

Achyrocline satureoides is a medicinal plant known as "marcela" in Brazil. An infusion of the flowers is used in folk medicine as an antispasmodic, anti-inflammatory, hypoglycemic, and hypocholesterolemic, and for the treatment of gastrointestinal disorders such as gastric ulcers. However, the antiulcer activity has not been studied. This study was carried out to evaluate the antiulcer activity of hydroalcohol extract and methanol and hexane fraction of the inflorescences of *A. satureoides*. The following assays were used to determine the activity: ethanol-induced ulcers, non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs), acetic acid, pylorus ligation (pH, volume and total acidity), mucus levels, and evaluation of the mechanism of action using nitric oxide synthase inhibition (L-NAME) and chelating sulfhydryl group (NEM). In the model of ethanol treatment with the extract and fractions, the rate of lesions was reduced by 34.83 ± 6.17 , 17.00 ± 4.75 , 5.66 ± 5.07 for the groups treated with 100, 250 and 500 mg/kg and by 4.0 ± 1.75 , 4.2 ± 1.80 for the groups treated with 500 mg/kg of hexane and methanol fractions respectively, compared with the control group (41.33 ± 3.73). Significant inhibition was observed in the lesion index in the model of NSAID induced ulcers, and a decrease of 16.83 ± 4.71 , 13.40 ± 3.61 , 10.16 ± 2.22 for the groups treated with 100, 250 and 500 mg/kg of extract, and 2.16 ± 0.87 , 9.83 ± 0.79 for the groups treated with 500 mg/kg of the hexane and methanol fractions, respectively, compared with the control group (32.66 ± 6.88). In the acetic acid induced chronic ulcer induced by acetic acid, the extract and fractions at a dose of 500 mg/kg significantly reduced ($p < 0.01$) the percentage of damaged area, compared with the control. No significant differences were observed in pH, volume or total acidity. In the evaluation of mucus production, a significant increase ($p < 0.01$) was observed in mucus levels in the animals treated with 100, 250 and 500 mg/kg of extract and 500 mg/kg of hexane and methanol fractions. In the model using L-NAME, a slight loss of gastroprotection was observed with the extract, as the methanol fraction lost gastroprotection compared with the control group. In the model using NEM, no loss of gastroprotection was observed in either group, and in the toxicity assay, no signal was observed. The results of the study show that the extract of *A. satureoides* and fractions exhibit antiulcer activity. This activity is apparently not related to anti-secretory mechanisms. The likely mechanism of action is linked to the increased production of mucus, as well as the influence of the nitric oxide pathway. Furthermore, this study corroborates the popular use of preparations of *A. satureoides*, contributing to the validation of its popular use.

Keywords: *Achyrocline satureoides*; antiulcerogenic; gastroprotection; marcela.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Fotografia das inflorescências de <i>A. saturooides</i> (Lam.) D.C.....	20
Figura 02	Visualização anatômica do estômago.....	23
Figura 03	Processo de partição liquido-liquido para obtenção das frações hexânica e metanólica.....	30
Figura 04	A) Perfil cromatográfico: 1) Fração hexânica; 2) Fração metanólica; 3) Extrato hidroalcoólico; 4) Quercetina. B) 1) Extrato hidroalcoólico; 2) Co-CCD (extrato/quercetina); 3) Quercetina.....	38
Figura 05	A) perfil cromatográfico: 1) Friedelina; 2) α,β -amirina; 3) FH B) 1) FH; 2) Co-CCD (FH/espinasterol); 3) Espinasterol C) 1) FH; 2) Co-CCD (FH/estigmasterol); 3) Estigmasterol D) 1) FH; 2) Co-CCD (FH/lupeol) 3) Lupeol E) 1) FH; 2) Co-CCD (FH/ácido betulinico); 3) Ácido betulinico.....	39
Figura 06	Índice de cura do extrato de <i>A. saturooides</i> , frações e omeprazol em lesões induzidas por etanol em ratos.....	41
Figura 07	Imagens de estômagos de ratos Wistar após indução de úlcera com etanol.....	41
Figura 08	Índice de cura do extrato de <i>A. saturooides</i> , frações e cimetidina em lesões induzidas indometacina em ratos.....	43
Figura 09	Imagens de estômagos de ratos Wistar após indução de úlcera por AINEs.....	43
Figura 10	Índice de cura do extrato de <i>A. saturooides</i> , frações e cimetidina em lesões induzidas por ácido acético em camundongos.....	45
Figura 11	Efeitos do extrato de <i>A. saturooides</i> , frações e carbenoxolona em lesões induzidas por etanol em ratos pré-tratados com L-NAME.....	48
Figura 12	Efeitos do extrato de <i>A. saturooides</i> , frações e carbenoxolona em lesões induzidas por etanol em ratos pré-tratados com NEM.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de <i>A. satureoides</i> e omeprazol no teste de úlcera induzida por etanol em ratos.....	40
Tabela 02	Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de <i>A. satureoides</i> e cimetidina no teste de úlcera induzida por AINEs.....	42
Tabela 03	Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de <i>A. satureoides</i> e cimetidina no teste de úlcera crônica induzida por ácido acético.....	44
Tabela 04	Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de <i>A. satureoides</i> e cimetidina, administrados intraduodenal, avaliando os parâmetros obtidos no suco gástrico, através de ligadura de piloro.....	46
Tabela 05	Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de <i>A. satureoides</i> e carbenoxolona na dosagem de muco em mucosa gástrica.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

- AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
CDB – Convenção da Diversidade Biológica
ECL – Células enterocromafins
FH – Fração hexânica
FM – Fração metanólica
H₂-Ras – Antagonistas de receptores de histamina-2
IC – Índice de Cura
L-NAME – N_g-Nitro-Arginina-Metil Ester
NEM – N-etilmaleimida
NO – Óxido nítrico
NOS – Óxido nítrico-sintase
OMS – Organização Mundial da Saúde
PGE₂ – Prostaglandina E₂
PGI₂ – Prostaglandina I₂
PGs – Prostaglandinas
SHs – Composto sulfidril
TGI – Trato Gastrointestinal
ULI – Índice de Lesões Ulcerativas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos.....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Plantas medicinais.....	16
3.2 Família Asteraceae.....	18
3.3 <i>Achyrocline satureoides</i> (Lam.) D. C.....	19
3.3.1 <i>Composição química de A. satureoides</i>	20
3.3.2 <i>Atividade biológica</i>	21
3.4 Fisiologia do estômago e secreção ácida gástrica.....	22
3.5 Úlcera.....	24
3.5.1 <i>Epidemiologia e conceito geral</i>	24
3.5.2 <i>Agentes agressores da mucosa</i>	24
3.5.3 <i>Agentes defensivos da mucosa</i>	25
3.6 Terapia antiúlcera.....	27
4 MATERIAL E METÓDOS	29
4.1 Drogas, reagentes e solventes.....	29
4.2 Obtenção do extrato.....	29
4.2.1 <i>Coleta e preparo do material vegetal</i>	29
4.2.2 <i>Preparação do extrato hidroalcoólico das inflorescências</i>	29
4.2.3 <i>Obtenção das frações</i>	30
4.3 Análise fitoquímica preliminar.....	30
4.4 Ensaios farmacológicos e toxicológicos.....	31
4.4.1 <i>Animais</i>	31
4.5 Avaliação da atividade antiúlcera.....	31
4.5.1 <i>Modelo de úlcera induzida por etanol</i>	32
4.5.2 <i>Úlcera induzida por antiinflamatório não esteroidal</i>	33
4.5.3 <i>Modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético</i>	33
4.6 Avaliações da secreção gástrica e muco.....	34
4.6.1 <i>Ligadura de piloro</i>	34

4.6.2 Doseamento de muco em mucosa gástrica.....	34
4.7 Mecanismos de ação antiúlcera.....	35
4.7.1 Participação do óxido nítrico endogeno envolvido na gastroproteção.....	35
4.7.2 Participação dos grupamentos sulfidrila endógenos envolvidos na gastroproteção.....	35
4.8 Avaliação toxicológica aguda - dose fixa.....	36
4.9 Análise estatística.....	36
5 RESULTADOS.....	38
5.1 Extrato e frações de <i>A. saturoides</i>.....	38
5.1.1 Análise fitoquímica preliminar.....	38
5.2 Avaliação da atividade antiúlcera.....	39
5.2.1 Modelo de úlcera induzida por etanol.....	39
5.2.2 Modelo de úlcera induzida antiinflamatório não esteroideal.....	42
5.2.3 Úlcera crônica induzida por ácido acético.....	44
5.3 Avaliação da secreção gástrica e muco.....	45
5.3.1 Ligadura de piloro.....	45
5.3.2 Doseamento de muco em mucosa gástrica.....	46
5.4 Mecanismos de ação antiúlcera.....	47
5.4.1 Participação do óxido nítrico endogeno envolvido na gastroproteção.....	47
5.4.2 Participação dos grupamentos sulfidrila endógenos envolvidos na gastroproteção.....	48
5.5 Avaliação toxicológica aguda - dose fixa.....	49
6 DISCUSSÃO.....	50
7 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	60
ANEXOS.....	70

1 INTRODUÇÃO

Dentre as várias doenças que acometem a população na atualidade, ligada principalmente ao modo de vida adotado pelas pessoas, uma delas ganha destaque: a úlcera gástrica. Até o momento a etiologia desta doença não foi completamente elucidada, porém é fato conhecido que ela se desencadeia de um desequilíbrio entre os agentes protetores (secreção de bicarbonato, muco e produção de prostaglandinas) e agentes agressores (secreção de ácido e pepsina) vinculados ao processo de digestão além de outros fatores como excesso de bebidas alcoólicas, consumo de anti-inflamatórios não esteroidais, estresse, doenças como a síndrome de Zollinger-Ellison e infecção causada por *Helicobacter pylori*, bactéria esta que está presente em até 50% da população (ANDRADE et al. 2006; RODRIGUES et al. 2008; TOLEDO DIAS et al. 2009).

O tratamento das úlceras é diversificado sendo utilizados na terapia diversos tipos de medicamentos, como por exemplo, os antiácidos, inibidores de receptores de histamina do tipo H₂, inibidores da bomba de prótons e em casos de infecção por *H. pylori* acrescenta-se o uso de agentes antibióticos, com o intuito de erradicação da bactéria (NAIK et al. 2007).

Entretanto, todos os medicamentos acima mencionados são providos de efeitos colaterais e/ou adversos, levando muitas vezes a não adesão do tratamento. (BIGHETTI et al. 2005; MASSIGNANI et al. 2009). Além disso, há casos de processos ulcerativos refratários ao tratamento tendo o paciente que recorrer a procedimentos cirúrgicos.

Durante décadas o uso de plantas para o tratamento dos males do trato gastrointestinal (TGI) foi se firmando na população (KLEIN JUNIOR et al. 2010). Muitas dessas plantas, entretanto, carecem de confirmação científica quanto aos seus efeitos gastroprotetores. Há relatos populares, que indicam o uso das inflorescências de *Achyrocline satureoides* (marcela), sob a forma de chá, produza um alívio para os sintomas das úlceras gástricas. Há estudos experimentais que têm demonstrado e comprovado sua atividade antinociceptiva e antiinflamatória (SIMÕES et al. 1984; FALCÃO et al. 2005), antimicrobiana (POZO, 1997; CALVO et al. 2006), anti-herpética (GARCIA et al. 1995; BETTEGA et al. 2004), colerética e

hepatoprotetora (KADARIAN et al. 2002), ação antioxidante (POLYDORO, 2004) e imunomodulatória (COSENTINO et al. 2008).

No entanto, observa-se que os efeitos das inflorescências de *A. saturoides*, usadas comumente para alívio e cura de problemas gástricos pela população, ainda não foram cientificamente estudados. Visando a necessidade da descoberta de novas terapias, a proposta do presente estudo foi a de estudar a atividade antiúlcera do extrato e frações obtidas das inflorescências de *A. saturoides* (Lam.) DC – (marcela) em diferentes modelos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Contribuir com a validação da atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico e frações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. (Asteraceae) – marcela.

2.2 Objetivos Específicos:

- a) Obter o extrato hidroalcoólico e as frações hexânica e metanólica das inflorescências de *A. satureoides*
- b) Avaliar atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico e das frações hexânica e metanólica através de modelos animais (etanol, AINEs e ácido acético).
- c) Avaliar a existência de relação dose-resposta do extrato hidroalcoólico na atividade antiúlcera, nos diferentes modelos.
- d) Avaliar a atividade do extrato e frações sobre a secreção gástrica e produção de muco.
- e) Estudar possíveis mecanismos de ação antiúlcera (participação do sistema do óxido nítrico e grupamentos sulfidríla).
- f) Comparar a atividade gastroprotetora do extrato e frações com fármacos utilizados na terapia antiúlcera (omeprazol, cimetidina e carbenoxolona).
- g) Avaliar a toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico através do modelo de dose fixa.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Plantas medicinais

O emprego de produtos naturais para tratamento, cura e ou prevenção de patologias, foi predominante durante muitos séculos. Essa prática foi suplantada pela medicina químico-experimental no século XIX, porém, a partir da metade do século XX, ressurgiu com novo enfoque: química das plantas. As plantas têm sido fonte imensurável de novos fármacos e ou protótipos experimentalmente comprovados e seguros para uso humano e veterinário (YUE-ZHONG, 1998, YUNES; CECHINEL FILHO, 2001; VIEGAS JR, BARREIRO, BOLZANI, 2006; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

O oneroso custo para síntese de fármacos inovadores e o sucesso de vendas de alguns fitoterápicos e fitofármacos, ampliou o interesse da indústria farmacêutica, para a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos a partir de drogas vegetais (BALUNAS; KINGHORN, 2005; VIEGAS JR; BARREIRO, BOLZANI, 2006; SANTOS et al. 2007).

De acordo Bighetti et al. (2005) as plantas desempenham um papel de extrema importância no tratamento de várias patologias, atualmente cerca de 25% dos medicamentos prescritos foram identificados inicialmente em plantas superiores. Um exemplo claro deste crescimento e da importância dos compostos naturais são os medicamentos utilizados no tratamento do câncer e os antibióticos, dos quais aproximadamente 70% são moléculas oriundas ou derivados destes (McCHESNEY; SYLESH; HENRI, 2007).

Aliado a isso, ocorreu em nosso país à implementação de programas nacionais de saúde, como o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos adotado pelo Ministério da Saúde, seguindo uma tendência da Organização Mundial da Saúde (OMS), a qual incentiva o uso de biodiversidade de países em desenvolvimento para assegurar maior acesso e cuidados à saúde básica das populações. Além disso, há o propósito de estimular a pesquisa e o desenvolvimento de fitoterápicos, especialmente para o tratamento de doenças endêmicas e negligenciadas pela indústria farmacêutica mundial, tais como: malária, doença de Chagas, esquistossomose, e outras (FUNARI; FERRO, 2006).

O Brasil, segundo a Convenção da Diversidade Biológica (CDB) ostenta cerca de 20% da biodiversidade mundial, aproximadamente 55 mil espécies de plantas. Sendo assim, nosso país é considerado um local propício na busca por novos produtos terapêuticos, entretanto, este potencial foi pouco explorado nas últimas décadas, diferente do que acontece atualmente. Hoje com a ampla busca da fitoterapia pela população, grandes indústrias farmacêuticas estão investindo nesta área, a fim de buscar novos medicamentos com eficácia, qualidade e segurança comprovadas (SOUZA et al. 2008; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

No período entre 1983 a 2006 cerca de 40% dos novos compostos introduzidos no mercado tiveram sua origem em compostos naturais. Atualmente, as pesquisas nesta área estão baseadas fortemente na comprovação da eficácia e também da segurança no uso de medicamentos provindos de plantas. No Brasil, este ramo cresce acentuadamente, na ordem de 15% ao ano (SIMÕES et al. 2003; LIU; WANG, 2008; McCHESNEY; SYLESH; HENRI, 2007).

Considerando que são vários os efeitos adversos causados pelos medicamentos alopáticos usados no tratamento das úlceras, como por exemplo: ginecomastia, impotência, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, entre outros, a pesquisa de novos fármacos e o desenvolvimento de terapias alternativas é de extrema importância. No caso dos distúrbios do TGI, os extratos vegetais estão entre os mais promissores no tratamento de úlceras gástricas (SANNOMIYA et al. 2005; BONACORSI et al. 2009; DONATINI et al. 2009; KLEIN-JR et al. 2010).

Os fitoterápicos representam, de acordo com pesquisas, uma significativa parcela do mercado farmacêutico. Mundialmente este setor movimenta cerca de 21,7 bilhões de dólares por ano, sendo que no Brasil o valor estimado gira em torno de 160 milhões de dólares. Estes valores tendem a aumentar, pois a venda de fitoterápicos cresce anualmente cerca de 15%, contra somente 4% do setor de medicamentos sintéticos (CARVALHO et al. 2008).

Vários compostos têm sido isolados a partir de plantas medicinais e tem apresentado atividade gastroprotetora. Isso vem motivando os pesquisadores para a descoberta de novas terapias para o tratamento de úlceras (HIRUMA-LIMA et al. 2006). Ressalta-se que este grande crescimento na utilização de plantas medicinais em nosso país é promovido pelo difícil acesso da população aos medicamentos convencionais, os quais possuem um custo bastante elevado, a deficiência na assistência médica e devido à decorrente consciência da utilização do “natural”. O

uso de extratos vegetais brutos, infusões ou emplastos é uma prática muito empregada e generalizada, sendo observada em todo território (SILVEIRA et al. 2008).

Outro fator que desencadeia o uso de produtos fitoterápicos pela população, é a crença de que estes medicamentos são isentos ou possuem poucos efeitos colaterais, e que apresentam aparente eficácia nos casos nos quais a medicina convencional não obteve resultados satisfatórios. O problema é que a grande maioria das plantas medicinais não foi avaliada quanto à segurança e eficácia (SOUZA et al. 2008).

3.2 Família Asteraceae

A família Asteraceae foi descrita por Teofrasto 300 anos a.C, Esta família foi primeiramente denominada de Compositae por Giseke em 1792, porém o código internacional de nomenclatura botânica permite denominar a família com o nome Asteraceae, nome este empregado em 1822. Fazem parte desta família plantas bastante conhecidas como os crisântemos, margaridas e girassóis (KATINAS et al. 2007).

A família compreende cerca de, 1.535 gêneros e aproximadamente 23.000 mil espécies, distribuídas em três subfamílias e 17 tribos, sendo considerada a maior família das dicotiledôneas. Encontra-se distribuída principalmente nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas, freqüentemente em habitats abertos e matas nebulares. As plantas pertencentes a esta família podem ser de pequeno ou grande porte, podendo atingir cerca de 30 metros (HEIDEN et al. 2007; KATINAS et al. 2007; BERETTA et al. 2008; PANERO; FUNK, 2008).

Os três estados que compõem a região sul do Brasil possuem a maior biodiversidade desta família. Nestes estados, as plantas apresentam alto poder de adaptação a diferentes ambientes e condições climáticas (PANERO; FUNK, 2008).

As espécies pertencentes ao gênero *Achyrocline*, membro da família Asteraceae, possuem também elevado valor sócio-econômico, com ampla dispersão nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Rio Grande do Sul, entre outras regiões do país. São utilizadas principalmente na forma de chás com indicações populares para males do estômago, como úlceras gástricas, fígado,

anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (AGOSTINI, 2005).

3.3 *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C.

Achyrocline satureoides (Lam) D.C. (Fig. 1) apresenta sinonímia como *Achyrocline candicans* (Kunth) DC., *Achyrocline Flaccid* DC., *Gnaphalium satureoides* Lam., *Gnaphalium candicans* Kunth. Popularmente é conhecida como marcela, macelinha, camomila-nacional, marcela-do-campo ou macela, sendo muito empregada na medicina caseira na região sul do Brasil e em países como Uruguai, Argentina e Paraguai (LORENZI e MATOS, 2002; RIVERA et al. 2004; PETROVICK, 2006; COSENTINO et al. 2008).

A infusão de marcela é comumente utilizada para alívio de problemas digestivos, espasmos gastrointestinais, redução de colesterol, problemas respiratórios, inflamação, infecções do trato respiratório superior, infecções virais, calmante e sedativa, estando ela entre as dez plantas medicinais mais utilizadas no estado do Rio Grande do Sul (FACHINETTO et al. 2007).

A. satureoides é descrita farmacobotanicamente como uma planta herbácea perene, ereta, muito ramificada, podendo atingir até 120 cm de altura, possui folhas simples alternadas, inteiras, sésseis lineares lanceoladas com revestimento alvotomentoso. As inflorescências são axilares e terminais do tipo capítulos reunidas em panículas corimbosas apresentando coloração amarelo-dourado, possuindo odor característico (LORENZI; MATOS, 2002; FACHINETTO et al. 2007).



Figura 1: Fotografia das inflorescências de *A. saturoides* (Lam.) D.C.

3.3.1 Composição química de *A. saturoides*

Em geral, os estudos fitoquímicos com *A. saturoides* são efetuados com as inflorescências. Fitoquimicamente, a planta mostra-se como uma rica fonte de flavonóides, tendo também em sua composição sesquiterpenos, monoterpenos e esteróides (GUGLIUCCI; MENINI, 2002).

Os componentes até agora identificados são flavonóides sob a forma de agliconas livres: isognafalina; gnafalina; quercetina; 3-metoxi-quercetina; galangina e seus 3-O-metiléteres; luteolina; 7,4'-dihidroxi-5-O-metiléter; quercetagenina; tamarixitina; 3,7-dimetoxiquercetina; 5-hidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona (almustina); 7-hidro-3,5,8-trimetoxiflavona; 3,5,7,8-tetrametoxiflavona; 5,7,8-trimetoxiflavona; 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona e 3,5-dihidro-7,8-dimetoxiflavona (SIMÕES, 1984). Outros compostos também foram isolados como: ácido e ésteres cafeico, clorogênico e isoclorogênico (VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), éster de calerianina, ácido protocatéuico (SIMÕES, 1984). Derivados da fenilpirona, kawapirona (SIMÕES, 1984; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005).

Os flavonóides quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina são os principais constituintes extraídos por etanol das inflorescências. A literatura aponta que estes

compostos estão amplamente relacionados com algumas das atividades farmacológicas (DE SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2002; DE SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2007).

3.3.2 Atividade biológica

São relatadas várias atividades biológicas para as inflorescências de *A. saturoides* (Lam.) D.C. Sua infusão é utilizada amplamente em processos de inflamações gastrointestinais e espasmos, problemas respiratórios incluindo asma e bronquite, infecções do trato respiratório superior, transtornos hepáticos, infecções virais, atividade anti-colesterolêmica e sedativa (COSENTINO et al. 2008).

Estudos realizados por Simões (1984) e seus colaboradores com o extrato aquoso obtido por maceração e por decocção e o macerado etanólico, apresentaram efeito antiinflamatório significativo no teste de edema de pata induzido por carragenina e efeito analgésico no teste de contorções abdominais induzido por ácido acético.

Pozo et al. (1997) avaliaram a atividade inibitória de *A. saturoides* contra o agente causador de colite pseudomembrana, a bactéria *Clostridium difficile*, tendo como resultado uma significativa inibição no crescimento deste patógeno. Estudos realizados por Calvo (2006) demonstraram que o decocto de inflorescências de *Achyrocline saturoides*, tem forte atividade antimicrobiana, onde foram inibidos *Stafilococcus ssp.*, ocorrendo ainda, um estímulo na produção linfocitária.

Estudos indicam que o extrato aquoso e hidroalcoólico de *A. saturoides* possui atividade frente aos vírus herpes simplex tipo 1 e 2, tendo o extrato inibido a replicação do vírus entre a segunda e nona hora do ciclo (GARCIA et al. 1995; BETTEGA et al. 2004).

Kadarian (2002) e seus colaboradores comprovaram a eficácia de *A. saturoides* como agente hepatoprotetor e colerético, justificando assim seu emprego etnofarmacológico por diversas populações. Já estudos realizados por Polydoro (2004) confirmam a atividade antioxidante de *A. saturoides*. Em seus experimentos cinco diferentes extratos foram avaliados, e todos exerceram atividade, sobretudo o extrato hidroalcoólico. Os autores justificam esse resultado pela forte presença de flavonóides nos extratos, destacando a quercetina e luteolina.

Cosentino (2008) e colaboradores avaliaram o efeito imunomodulatório da infusão de *A. saturooides*, e os resultados obtidos fornecem evidências que a infusão afeta profundamente as respostas funcionais das células polimorfonucleares, apoiando assim seu uso como anti-inflamatório.

Quanto à toxicidade da planta, estudos descritos na literatura, sobre a atividade tóxica do extrato aquoso e etanólico de *A. saturooides*, descrevem que a mesma é isenta de toxicidade (SIMÕES et al. 2003). Rivera et al. (2004) avaliou a toxicidade aguda do extrato aquoso, tendo como resultado uma DL₅₀ de 5 g/Kg, comprovando então a segurança no uso do extrato aquoso de *A. saturooides* para o uso no tratamento das patologias gastrointestinais.

3.4 Fisiologias do estômago e secreção ácida gástrica

O trato gastrointestinal (TGI) possui um ambiente bastante peculiar, devido a alta concentração de ácido clorídrico, o que mantém seu pH oscilando entre 0,9 e 2,0, apresenta uma grande área de absorção e várias glândulas que secretam os sucos digestivos, ocorrendo assim a conversão de grandes partículas sólidas em partículas menores, para posterior absorção no intestino delgado (MERCHANT, 2007. CARVALHO, 2006).

O estômago é revestido por várias camadas de músculo liso e possui um revestimento de muco. Anatomicamente este órgão é dividido em três regiões topográficas (fundo, corpo e antro) (Fig. 2) e duas áreas funcionais (glândulas parietais e pilóricas) (CARVALHO, 2006; SCHUBERT e PEURA, 2008).

O corpo principal do estômago apresenta várias pregas longitudinais. A mucosa gástrica apresenta glândulas secretoras (células parietais). Estas glândulas estão localizadas no fundo e no corpo e são as responsáveis pela secreção do muco e dos íons HCO₃⁻, que são os responsáveis pela proteção do lúmen estomacal contra a ação ácida promovida pelo estímulo de agonistas endógenos sobre as células parietais (CARVALHO, 2006).

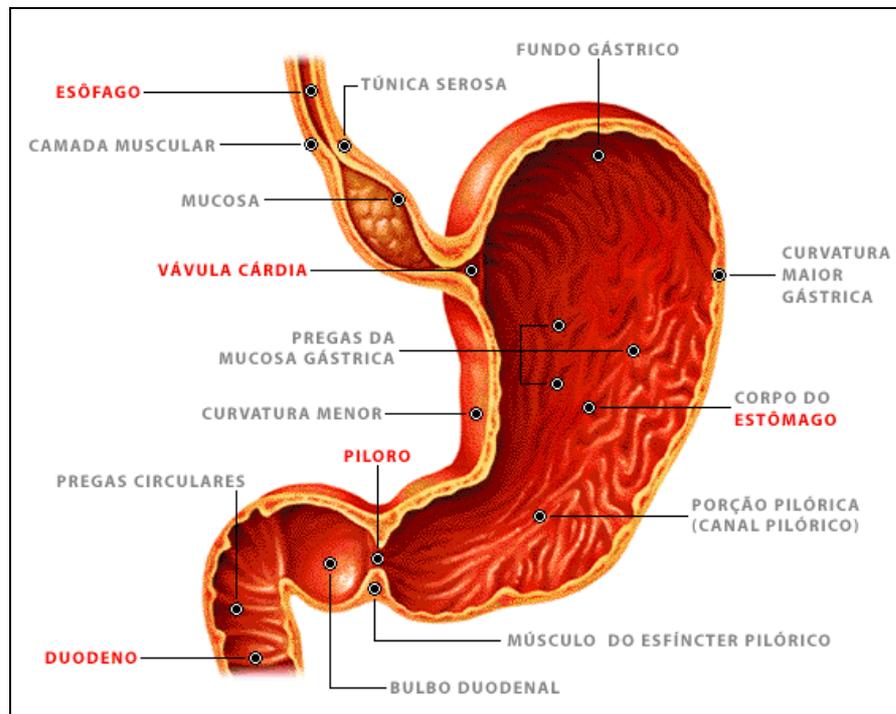


Figura 2 - Visualização anatômica do estômago.
Fonte: Enciclopédia multimídia do corpo humano (2000)

A liberação do ácido na luz do estômago pelas células parietais é desencadeada por três diferentes vias:

Paracrina: estimula a secreção de histamina, que é liberada por células enterocromafins (ECL), semelhantes aos mastócitos existentes no estômago e dispostas em íntimo contato com as células parietais, atuando em receptores H₂, promove o aumento da secreção ácida gástrica por elevar os níveis intracelulares de AMP_c (MERCHANT, 2007. CARVALHO, 2006).

Endócrina: estimula a liberação de gastrina a qual incita receptores da célula parietal, provocando aumento dos níveis intracelulares de Ca²⁺, levando desta forma a uma excreção aumentada de ácido gástrico (CARVALHO, 2006).

Neuronal: estimula a liberação de acetilcolina a qual atua em receptores muscarínicos, estimulando a secreção ácida por elevar os níveis intracelulares de Ca²⁺. Esta excitabilidade está associada a estímulos olfativos, visão, paladar e mastigação e por neurônios locais da parede gástrica os quais são estimulados pela distensão das paredes do estômago (CARVALHO, 2006; TULASSAY e HERSZENYI, 2010).

O estômago a fim de manter sua função primordial de efetuar a digestão, apresenta barreiras que evitam a lesão das células pelo ácido gástrico, sendo a camada de muco a principal barreira (TULASSAY e HERSZENYI, 2010).

Atualmente muitas patologias do trato digestivo estão sendo estudadas, dentre elas as úlceras gástricas tem ganhado destaque em virtude de sua alta prevalência na população.

3.5 Úlcera

3.5.1 Epidemiologia e conceito geral

A úlcera gástrica corresponde a uma perda circunscrita de tecido da mucosa, ocorrendo nas regiões do trato digestivo que entram em contato com o suco gástrico secretado no estomago (TOLEDO DIAS et al. 2009).

Trata-se de uma patologia que se torna cada vez mais comum na população mundial (KLOPELL et al. 2007; BARROS et al. 2008). Cerca de 10% da população dos países industrializados é afetada, sendo que só no continente americano mais de dois milhões de adultos sofrem deste mal em alguma fase da vida. Este distúrbio afeta aproximadamente 11 a 20% dos homens e 8 a 11% das mulheres (FERREIRA, 2005). As úlceras gástricas costumam ser freqüentemente uma doença crônica, a qual pode persistir por até 20 anos, ela se caracteriza por episódios repetidos de cura e re-exacerbação (NAIK et al. 2007).

Quando a mucosa perde a capacidade de proteger-se através das secreções de bicarbonato e muco, ocorrem lesões, que são desencadeadas devido a um desequilíbrio entre os agentes ofensivos (secreção de ácido e pepsina) e defensivos (secreção de bicarbonato, muco e produção de prostaglandinas) acarretando no surgimento de úlceras (ANDRADE et al. 2006).

3.5.2 Agentes agressores da mucosa

A úlcera gástrica pode ser provocada, por diversos fatores, muitos estão relacionados com maus hábitos alimentares, estresse, tabagismo, uso abusivo de AINEs e bebidas alcoólicas (BARROS et al. 2008; KLEIN-JR et al. 2010). A seguir estão descritos os principais agentes agressores:

Etanol: é considerado um dos agentes que induz mais intensamente a úlcera gástrica, ele promove sérios distúrbios na mucosa gástrica como, isquemia e aparecimento de radicais livres, degranulação de mastócitos, inibição da produção de prostaglandinas e diminuição na produção do muco gástrico (HIRUMA-LIMA et al. 2009).

AINEs: O uso abusivo de AINEs é um dos maiores causadores de úlceras, estes medicamentos inibem a produção de prostaglandinas, com conseqüente aumento na liberação de ácido gástrico e diminuição na produção do muco citoprotetor, acarretando assim no surgimento de lesões (HIRUMA-LIMA et al. 2009).

Estresse: As úlceras provocadas por estresse são ocasionadas por um aumento na peroxidação lipídica, a principal conseqüência deste aumento, é a formação de espécies reativas de oxigênio, levando assim a formação de lesões no lúmen gástrico (RODRIGUES et al. 2008).

Infecção por Helicobacter pylori: É fato conhecido que a úlcera pode ser ocasionada por uma elevação na liberação de ácido clorídrico e pepsina, porém ocorrem casos em que o paciente apresenta úlcera sem ter esta liberação aumentada de fatores ofensivos. Nestes casos, o provável agente etiológico é o *H. pylori*, uma bactéria gram-negativa, que é considerada o agente de infecção crônica mais comum em seres humanos, tendo como habitat específico a mucosa gástrica e em função disto, acredita-se que contribua para a destruição das células gástricas (SIQUEIRA et al. 2007; FALCÃO et al. 2008).

Considera-se esta bactéria o principal agente etiológico da úlcera péptica em humanos, apresenta uma alta taxa de prevalência a nível mundial, em países desenvolvidos chega a 40% e em países em desenvolvimento a taxa é maior de 80% (SOUZA et al. 2009).

3.5.3 Agentes defensivos da mucosa

Os mecanismos de defesa da mucosa gástrica permitem que esta mucosa suporte a exposição freqüente de agentes agressores. Os mecanismos de defesa podem agir localmente bem como a partir de mecanismos neuro-hormonais. A defesa da mucosa gástrica é um processo dinâmico.

Os principais fatores protetores da mucosa gástrica são:

Fatores luminiais: São vários os componentes de defesa da mucosa na porção luminal do epitélio gástrico. O suco gástrico apresenta em sua composição substâncias capazes de reduzir a colonização bacteriana. A secreção de ácido clorídrico, imunoglobulinas e lactoferrina, contribuem na formação de um ambiente peculiar, onde poucas substâncias conseguem se desenvolver (TULASSAY e HERSZENYI, 2010)

Barreira de muco e bicarbonato: Esta é a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, sendo a única barreira entre o epitélio e a luz. Esta barreira é composta por um gel de muco, bicarbonato e fosfolípídios surfactantes, possuindo característica elástica, viscosa e aderente. O muco desempenha um papel estrutural importante na criação de uma camada que retém o bicarbonato secretado pelas células epiteliais, proporcionando um ambiente com pH próximo a neutralidade, bem como atuando como uma barreira física contra a ação da pepsina e ácido clorídrico do processo de digestão (ALQASOUMI et al. 2009).

Epitélio: No epitélio as células da superfície são as responsáveis pela secreção de muco, bicarbonato, proteínas de choque térmico e geração de PGs, formando uma barreira que impede a difusão de ácido gástrico e pepsina. Proteínas de choque térmico tem como função a manutenção da homeostase celular, são formadas pelas células epiteliais gástricas em resposta ao estresse oxidativo, agentes citotóxicos, e aumento da temperatura, evitando assim a desnaturação de proteínas e protegendo as células contra lesões (TULASSAY e HERSZENYI, 2010).

Fluxo sanguíneo da mucosa: Uma perfusão sanguínea adequada evita danos epiteliais as camadas mais profundas da mucosa. A principal função da microcirculação da mucosa é abastecer as células com nutrientes e com oxigênio. Quando a mucosa gástrica é exposta a agentes irritantes, as células endoteliais produzem potentes vasodilatadores, como óxido nítrico (NO) e prostaciclina I₂ (PGI₂), que agem protegendo a mucosa de lesões causadas por substâncias vasoconstritoras como leucotrienos, tromboxanos e endotelina. O NO age ainda inibindo a secreção de ácido gástrico pelas células parietais (GRANGER et al. 1994; WALLACE e MILLER, 2000).

Renovação celular: O epitélio gástrico é reconstruído a cada 2-4 dias, esta contínua renovação das células progenitoras da mucosa, é uma característica muito importante, que colabora na manutenção da integridade estrutural da mucosa,

acarretando em maior resistência na formação de lesões (TULASSAY e HERSZENYI, 2010)

Prostaglandinas: Facilitam e estimulam a maioria dos mecanismos de gastroproteção da mucosa. Responsável pela geração contínua de PGI₂ e principalmente de PGE₂, que são essenciais na manutenção da integridade gástrica e na proteção contra agentes necrotizantes e ulcerosos. As PGs inibem a liberação de ácido gástrico, aumentam o fluxo sanguíneo da mucosa, estimulam a produção de muco e bicarbonato, aceleram o reparo e a cicatrização tecidual (BRZOZOWSKI, 2003; TULASSAY e HERSZENYI, 2010).

3.6 Terapia antiúlcera

A terapia para cura de úlceras tem por objetivo a redução da dor, promover a cicatrização e prevenir prováveis úlceras recorrentes. A terapia farmacológica baseia-se em re-estabelecer o equilíbrio entre os fatores ofensivos e defensivos, ou seja, proteger a mucosa da ação do suco gástrico (AIHARA et al. 2003)

Porém, durante muitos séculos o tratamento das úlceras gástricas era realizado utilizando-se antiácidos para neutralizar a secreção gástrica, restrições alimentares eram utilizadas e os procedimentos cirúrgicos eram corriqueiros. Na década de 70 uma revolução na terapêutica das úlceras gástricas aconteceu com o surgimento dos antagonistas dos receptores de Histamina H₂ (cimetidina e ranitidina) os quais agem diretamente sobre as células parietais provocando uma diminuição na liberação de secreção gástrica (YUHONG et al. 2006)

Na década de 80, outra classe de medicamentos para o tratamento de úlceras é lançado no mercado, os inibidores da bomba de prótons, sendo o omeprazol o fármaco padrão. Essa classe de fármacos atua inibindo a secreção de ácido gástrico através da inativação da bomba, a partir da formação de ligações dissulfeto entre as moléculas reagentes do omeprazol com a estrutura da bomba de prótons (AIHARA et al. 2003)

Logo após, surgem os fármacos citoprotetores, como o misoprostol, um análogo da prostaglandina E₂, que atua no estômago inibindo a secreção ácida, enquanto estimula a secreção de muco e bicarbonato (Hawkey, 2000). Outro fármaco utilizado no tratamento de úlceras gástricas é a carbenoxolona, um terpenóide, isolado a partir de um extrato da *Glycyrriza glabra* (alcaçuz). Entretanto,

devido aos graves efeitos colaterais ambos os tratamentos foram retirados do mercado (SATO et al. 2004).

Desta forma o arsenal terapêutico atualmente utilizado para o tratamento das úlceras gástricas se baseia no uso de: antagonistas de receptores H₂ para histamina e inibidores da bomba de próton, sendo o uso de antibióticos necessário somente nos casos confirmado de infecção por *H. pylori* sendo raramente empregados procedimentos cirúrgicos (WALLACE e MILLER, 2000; SUNG, 2006).]

Porém, ainda não há um fármaco que produza 100% de cura das úlceras gástricas e devido ao fato da úlcera gástrica ser considerada agravo a saúde, a pesquisa de novos fármacos e o desenvolvimento de terapias alternativas é de extrema importância. Neste aspecto os extratos vegetais estão entre os mais promissores no tratamento de úlceras gástricas (SANNOMIYA et al. 2005; BONACORSI et al. 2009; DONATINI et al. 2009).

Um exemplo disto é o estudo realizado por Andrade e colaboradores (2007), os quais comprovaram a atividade antiúlcera do extrato hidroalcoólico de *Maytenus robusta*. O extrato hidroalcoólico produziu efetiva diminuição na secreção gástrica, mostrando assim ter um alto potencial como futuro fitoterápico antiúlcera. Outra planta que apresentou atividade gastroprotetora foi a *Equisetum palustre* L. que demonstrou através de diferentes ensaios farmacológicos uma inibição significativa na formação de lesões ulcerativas (GURBUZ; YESILADA; ITO, 2009)

Estes são apenas alguns exemplos de plantas com potencial atividade antiúlcera. Atualmente vários grupos de pesquisa atuam nesta área a fim de promover a descoberta de novas terapias para esta patologia que afeta considerável número de pessoas no mundo (HIRUMA-LIMA et al. 2006; BONACORSI et al. 2009).

Diante do exposto, este trabalho visa colaborar na elucidação da atividade gastroprotetora das inflorescências de *A. satureoides*, planta amplamente utilizada pela população para cura e alívio de distúrbios gástricos, tais como: úlceras, gastrites, dispepsias, entre outras.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Fármacos, reagentes e solventes

Indometacina, cimetidina, omeprazol, carbenoxolona, L-NAME e NEM foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MD, USA). Todos os outros reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico.

4.2 Obtenção do extrato

4.2.1 *Coleta e preparo do material vegetal*

As inflorescências de *A. satureoides* (Lam.) D.C. (Marcela) foram coletadas no município de Fraiburgo (Latitude 27°01'34"S e longitude 50°55'17"W), estado de Santa Catarina, Brasil, em maio de 2009 pelo biólogo Gilberto Schneiker (CRBio: 63266-03D).

As inflorescências foram identificadas por comparação com uma exsicata depositada no Herbário Barbosa Rodrigues (Itajaí/SC), sob o número 50130.

O material vegetal foi submetido à secagem em estufa de ar circulante a 40°C. Após a secagem, as inflorescências foram submetidas à moagem em triturador, resultando em 2 kg de material seco.

4.2.2 *Preparação do extrato hidroalcoólico das inflorescências*

As inflorescências de *A. satureoides* (2 kg) foram submetidas à maceração em solução hidroalcoólica a 70%, durante sete dias. Após filtração, a solução obtida foi submetida à redução e evaporação do solvente em rota evaporador à pressão reduzida, obtendo-se 192,6 g (9,6%).

4.2.3 Obtenção das frações

As frações foram obtidas a partir do processo de partição líquido-líquido do extrato bruto hidroalcoólico com o intuito de obter duas frações (Fig. 3). Neste aspecto, o extrato bruto (20 g) foi solubilizado em metanol: água (9:1), e o processo de extração líquido/líquido foi realizado utilizando hexano (5x300 mL) como solvente extrator.

As frações apresentaram rendimentos de 1,57 g (15,74%) para a fração hexânica (rica em terpenos e esteróides) e 8,83 g (88,3%) para a fração metanólica (rica em compostos fenólicos).

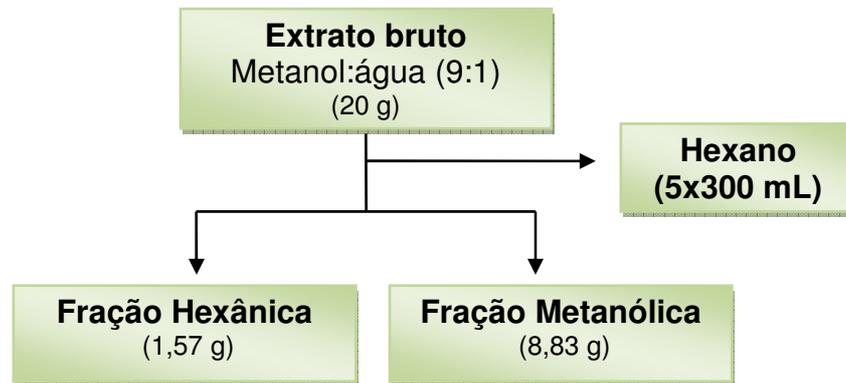


Figura 3. Processo de partição líquido-líquido para obtenção das frações hexânica e metanólica.

4.3 Análise fitoquímica preliminar

O perfil cromatográfico em camada delgada do extrato bruto hidroalcoólico, das frações hexânica e metanólica foi determinado de acordo com Hostettmann (1998).

Para a execução da cromatografia em camada delgada (CCD), o extrato bruto hidroalcoólico e cada fração obtida foram diluídos nos seus respectivos líquidos extratores. Como padrões foram utilizados quercetina, friedelina, α,β -amirina, lupeol, espinasterol, estigmasterol e ácido betulínico, em função de constar no banco de padrões do laboratório.

Para realização das CCDs foram utilizados os sistemas eluentes abaixo descritos em função de apresentar a melhor resolução cromatográfica, utilizando como fase estacionária Sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck).

Sistema 1:

Fase móvel: clorofórmio:metanol (8:2)

Amostra: extrato bruto hidroalcoólico, fração hexânica e fração metanólica.

Padrão: quercetina

Revelador: Cloreto férrico

Sistema 2

Fase móvel: hexano:acetona (8:2)

Amostra: fração hexânica
Padrões: friedelina, α,β -amirina, lupeol, espinasterol, estigmasterol e ácido betulínico

Revelador: anisaldeído sulfúrico à 110°C

4.4 Ensaios farmacológicos e toxicológicos

4.4.1 Animais

Nos ensaios biológicos foram utilizados ratos machos Wistar, pesando entre 150-250 g e camundongos machos Swiss pesando entre 15 e 25 g provenientes do Biotério Central da Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, em sala com controle de temperatura (25°C), umidade e ciclos controlados (claro/escuro 12 horas cada), tendo ração (Purina Labina) e água *ad libitum*.

Doze horas anteriores aos experimentos os animais foram mantidos em jejum e uma grade foi adicionada para inibir a coprofagia tendo livre acesso a água.

Quanto aos aspectos éticos da experimentação animal, foram respeitadas as normas preconizadas pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Itajaí (Protocolo 301/09a) – Anexo A.

4.5 Avaliação da atividade antiúlcera

Para avaliação da atividade gastroprotetora do extrato e frações de *A. saturooides*, foram utilizados diferentes modelos experimentais, todos baseados em fatores etiológicos da doença, como: uso abusivo de álcool, antiinflamatórios não esteroidais e aumento da secreção gástrica.

4.5.1 Modelo de úlcera induzida por etanol

O método empregado foi descrito por Morimoto et al. (1991), com algumas modificações. Os ratos foram divididos em diferentes grupos (n=6) que foram pré-tratados por via oral com omeprazol na dose de 30 mg/kg (Controle positivo), veículo (controle negativo), extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* nas doses de 100, 250 e 500 mg/kg, e frações hexânica e metanólica na dose de 500 mg/kg.

Após uma hora e meia, foi administrado aos animais 1 mL de Álcool etílico 96 % (agente lesivo) por via oral, e uma hora e meia após a administração do agente lesivo, os mesmos foram sacrificados por deslocamento cervical. Em seguida, os estômagos foram retirados e abertos ao longo da curvatura maior, sendo esticados em placas de parafina, e através de *Scanner*, as imagens obtidas foram captadas e analisadas por *software* de análise de imagens EARP, a fim de determinar-se o número de lesões e o tamanho destas. Posteriormente foi realizada a determinação da área total de lesão, porcentagem de área lesada e índice de lesões ulcerativas (ULI) calculado através da severidade das lesões da mucosa gástrica, classificadas como:

- a) tipo 1 (T1): área da ulcera < 1 mm²;
- b) tipo 2 (T2): área da ulcera de 1-3 mm²;
- c) tipo 3 (T3): área da ulcera > 3 mm².

O índice de lesão ulcerativa (ULI) foi determinado como:

$$\text{ULI} = 1 \times (\text{T1}) + 2 \times (\text{T2}) + 3 \times (\text{T3})$$

O índice de cura (%) foi determinado como:

$$IC = 100 - (ULI_{\text{TRATADO}} \times 100 \div ULI_{\text{CONTROLE}})$$

Os resultados foram expressos em porcentagem de área (%), quantidade total de área lesada (mm²), índice de lesões ulcerativas (ULI) e índice de cura (%) (IC).

4.5.2 Úlcera aguda induzida por anti-inflamatório não esteroideal

Foi empregada a metodologia descrita por Nwafor et al. (2000), com algumas modificações. Os ratos foram divididos em diferentes grupos (n=6) que foram pré-tratados por via oral com cimetidina na dose de 100 mg/kg (controle positivo), veículo (controle negativo), extrato hidroalcoólico de *A. saturoides* nas doses de 100, 250 e 500 mg/kg, fração hexânica e metanólica na dose de 500 mg/kg. Após uma hora e meia, os animais receberam 100 mg/kg de indometacina (v.o).

Após doze horas da administração de indometacina os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura maior, esticados e através de *Scanner*, as imagens foram captadas e analisadas por *software* de análise de imagens EARP, a fim de determinar-se o número de lesões e o tamanho destas.

Posteriormente foi realizada a determinação da área total de lesão, porcentagem da área lesada e índice de úlceras (ULI), conforme descrito anteriormente.

4.5.3 Modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético

Foi utilizada a metodologia descrita por Takagi et al. (1969), com algumas modificações. Os camundongos foram divididos em diferentes grupos (n=6). Em seguida foram anestesiados e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo ao processo apófise xifóide. Após a exposição do estômago, foi injetado na camada sub-serosa da parede externa do órgão 50 µL de solução de ácido acético 20%, na face posterior.

O local foi pressionado por 30 segundos para evitar o extravasamento do líquido injetado. Cuidadosamente o estômago foi lavado com salina e então feito a sutura da parede abdominal. Dois dias após a cirurgia e com os animais já recuperados, foi realizado o tratamento que teve duração de sete dias. Os animais

receberam por via oral cimetidina na dose de 100 mg/kg (controle positivo), veículo (água), extrato hidroalcoólico de *A. saturoides*, fração hexânica e metanólica na dose 500 mg/kg.

Após sete dias de tratamento os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura; esticados e através de *Scanner*, as imagens foram captadas e analisadas por *software* de análise de imagens EARP, a fim de determinar se ocorreu regressão da lesão nos tratamentos quando comparados com o controle positivo e negativo. Foi realizada a determinação da área total de lesão e a porcentagem de área lesada.

4.6 Avaliações da secreção gástrica e muco

4.6.1 Ligadura de piloro

Este experimento foi realizado conforme o método descrito por Shay et al. (1945), com algumas modificações. Os ratos foram divididos em diferentes grupos (n=6). Em seguida foram anestesiados e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo ao processo apófise xifóide, para amarração do piloro e a administração por via intraduodenal dos diferentes tratamentos: cimetidina na dose de 100 mg/kg (controle positivo), veículo (controle negativo), extrato hidroalcoólico de *A. saturoides* nas doses de 100, 250 e 500 mg/kg, fração hexânica e metanólica na dose de 500 mg/kg. Após os tratamentos, as incisões foram suturadas e quatro horas após a cirurgia os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. As incisões foram reabertas e após pinçamento da válvula cárdia (para evitar-se a perda do conteúdo gástrico) o estômago foi retirado.

O conteúdo estomacal foi coletado e foram analisados os parâmetros: volume, pH e concentração de íons hidrogênio. Após a determinação do volume e de pH, foi adicionado 10 mL de água destilada à amostra e esta foi centrifugada por 10 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,01 N, utilizando-se fenolftaleína como indicador.

Os resultados foram expressos em g (volume), pH e mEq/L/4h (Concentração de íons hidrogênio).

4.6.2 Doseamento de muco em mucosa gástrica

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Sun et al. (1991) com algumas modificações. Os ratos foram separados em grupos (n=6). Após 24 horas de jejum, sob anestesia, foi realizada uma incisão no abdômen e a ligadura do piloro foi realizada. Imediatamente, após a ligadura do piloro, o extrato de *A. satureoides* (100, 250 e 500 mg/kg) e as frações hêxanica e metanólica (500 mg/kg) foram administradas via intraduodenal. Carbenoxolona (250 mg/kg) foi utilizado como controle positivo, e 1 mL de veículo foi administrado como controle negativo. Os animais foram sacrificados 4 horas após os tratamentos. O conteúdo estomacal foi imerso em 10 mL de 0,02% de sacarose 0,16 M Alcian blue/0,05 M, solução de acetato de sódio, pH 5,8, e incubados por 24 h à 20°C. Após, centrifugou-se a 3.000 × 10 min. A absorção do sobrenadante foi determinado por espectrofotometria em 615 nm. O muco livre do conteúdo gástrico foi calculado a partir da quantidade de Alcian blue ligado ao tecido (tecido/mg de peso (g)).

4.7 Mecanismos de ação antiúlcera

4.7.1 Participação do óxido nítrico endógeno envolvido na gastroproteção

O método empregado neste experimento foi descrito primeiramente por Arrieta et al. 2003, com algumas modificações. Os ratos foram separados em dez grupos (n=6), onde cinco grupos receberam pré-tratamento com L-NAME (N-nitro-L-Arginina metil éster), um inibidor da enzima óxido nítrico sintase, na dose de 70 mg/kg, i.p. e os cinco grupos restantes foram pré-tratados com salina, i.p. Após 30 minutos dos pré-tratamentos, aplicou-se o teste de indução de úlcera por etanol, utilizando como tratamento extrato *A. satureoides*, fração hexânica e metanólica na dose de 500 mg/kg, controle positivo (carbenoxolona 200 mg/kg) e controle negativo (veículo). Passado o tempo do teste, os animais foram sacrificados e os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, esticados e através de *Scanner*, as imagens foram captadas e analisadas por software de análise de imagens EARP, a fim de determinar-se a % de área lesada.

4.7.2 Participação dos grupamentos sulfidríla endógenos envolvidos na gastroproteção

Para a avaliação dos grupamentos sulfidríla na gastroproteção foi adotado o modelo de Matsuda e Yoshikawa (1999). Os ratos foram separados em dez grupos (n=6), onde cinco grupos receberam o pré-tratamento com NEM (N-etilmaleimida), um quelante de grupamentos sulfidríla, na dose de 10 mg/kg, i.p. e os cinco grupos restante foram pré-tratados com salina, i.p. Após 30 minutos dos pré-tratamentos, aplicou-se o teste de indução de úlcera por etanol, utilizando como tratamento extrato *A. saturoides*, fração hexânica e metanólica na dose de 500 mg/kg, controle positivo (carbenoxolona 200 mg/kg) e controle negativo (veículo). Passado o tempo do teste, os animais foram sacrificados e os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, esticados e através de *Scanner*, as imagens foram captadas e analisadas por software de análise de imagens EARP, a fim de determinar-se a % de área lesada.

4.8 Avaliação toxicológica aguda – dose fixa

O estudo de toxicidade aguda foi realizado conforme descrito em "Guidelines for Testing of Chemicals – Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Pro-Cedure" (OECD 420, 2001). O extrato hidroalcoólico das inflorescências de *A. saturoides*, foi administrado por via oral, a um grupo de 05 ratos (fêmeas) em jejum por 12 horas, na dose de 2000 mg/kg. O grupo controle (05 fêmeas) receberam salina. Após a administração, durante as primeiras 12 horas, nos períodos de 15, 30 e 60 minutos e a cada 4 horas foram observados sinais tóxicos de caráter geral, sendo avaliados os seguintes parâmetros: atividade geral, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, aperto da cauda, contorção, trem posterior, tônus corporal, força de agarrar, ataxia, tremores convulsões, estimulações, cauda em Straub, hipnose, anestesia, lacrimação, ptoses, piloereção, respiração, cianose.

A partir da 4^a hora até 14 dias após a administração da dose, no sétimo e décimo quarto dia a variação de peso foi mensurada. Ao fim do período de observação, foi contabilizado o número de óbitos e todos os animais sobreviventes foram eutanasiados e autopsiados, sendo observadas as características macroscópicas dos pulmões, rins, intestinos, fígado, útero, baço e coração.

4.9 Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e para comparação das médias dos grupos testados foi utilizado o teste de Dunnet e/ou Tukey, sendo os valores com $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos (SOKAL; ROHLF, 1995).

5 RESULTADOS

5.1 Extrato e frações de *A. saturoides*

5.1.1 Análise fitoquímica pré-liminar

Na tentativa de verificar a presença de flavonóides, terpenóides e esteróides no extrato bruto hidroalcoólico, fração hexânica e metanólica de *A. saturoides*, diferentes sistemas eluentes e reveladores específicos foram utilizados.

No perfil cromatográfico realizado para identificação de flavonóides, utilizando o padrão quercetina e revelador cloreto férrico, com fase móvel clorofórmio:metanol (8:2), sugere-se a presença de quercetina no extrato hidroalcoólico e na fração metanólica (Figura 4-A). A provável presença de quercetina no extrato hidroalcoólico foi confirmada através de Co-CCD (Co-eluição do extrato hidroalcoólico/quercetina) (Figura 4-B).

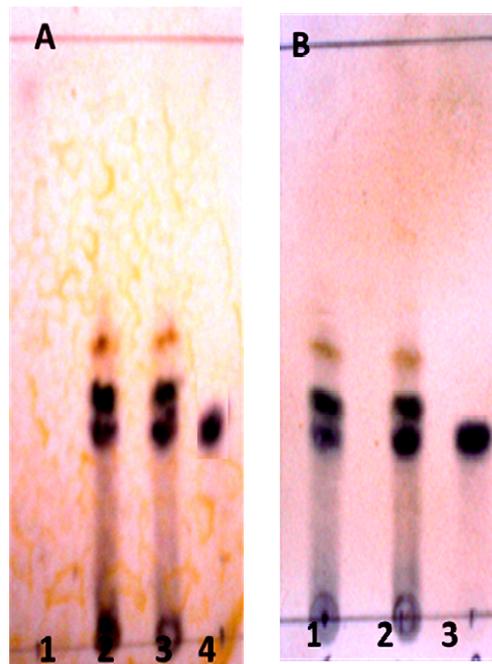


Figura 4 – Perfil cromatográfico: **A)** 1) Fração hexânica; 2) Fração metanólica; 3) Extrato hidroalcoólico; 4) Quercetina. **B)** 1) Extrato hidroalcoólico; 2) Co-CCD (extrato/quercetina); 3) Quercetina. Revelador: Cloreto férrico, Fase móvel: Clorofórmio:Metanol (8:2).

Por outro lado, na fração hexânica quando se utilizou fase móvel hexano:acetona (8:2), verificou-se a provável presença de α,β -amirina, estigmasterol e lupeol. Além destes, foi possível observar a presença de outros compostos terpenos e esteróides tendo em vista a coloração específica observada quando foi utilizado anisaldeído sulfúrico como revelador (UGAZ, 1994). Os resultados podem ser observados na figura 5.

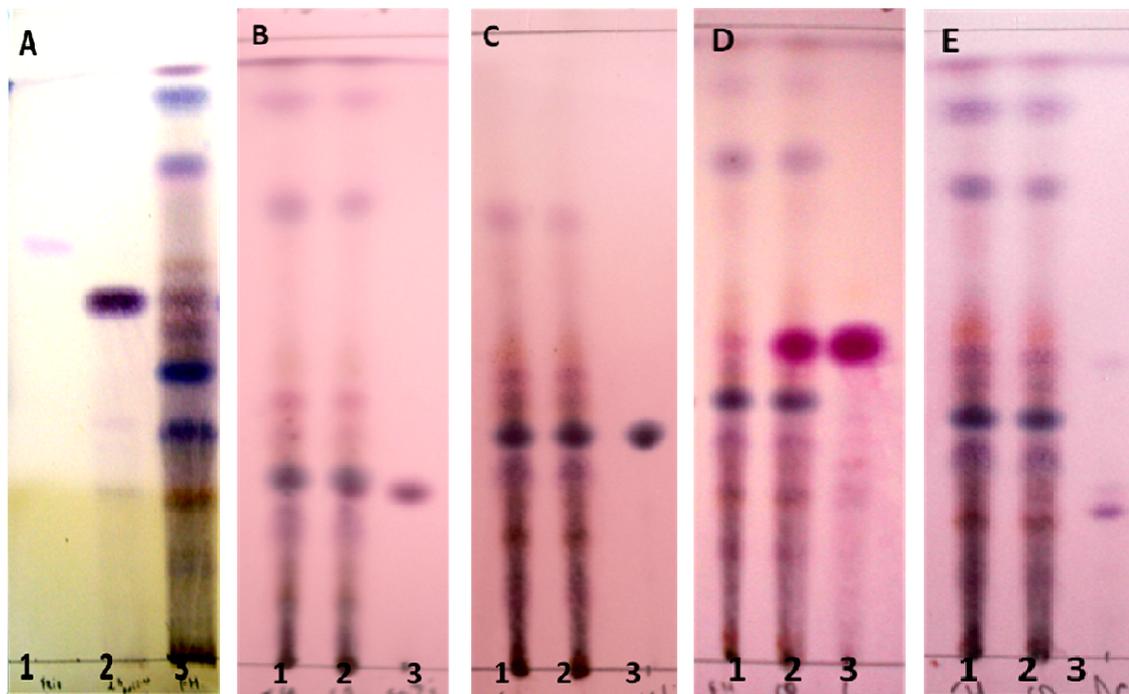


Figura 5 – Perfil cromatográfico: **A**) 1) Friedelina; 2) α,β -amirina; 3) Fração Hexânica **B**) 1) Fração Hexânica; 2) Co-CCD (Fração hexânica/spinasterol); 3) Espinasterol **C**) 1) Fração Hexânica; 2) Co-CCD (fração hexânica/ estigmasterol); 3) Estigmasterol **D**) 1) Fração Hexânica; 2) Co-CCD (fração hexânica/lupeol) 3) Lupeol **E**) 1) Fração Hexânica; 2) Co-CCD (fração hexânica/ácido betulinico); 3) Ácido betulinico. Revelador: Anisaldeído sulfúrico a 110°C. Fase móvel: hexano:acetona (8:2).

5.2 Avaliação da atividade antiúlcera

5.2.1 Modelo de úlcera induzida por etanol

Neste modelo, observou-se que o tratamento com extrato hidroalcoólico de *A. satureoides* (100, 250 e 500 mg/kg) e omeprazol (30 mg/kg) reduziu significativamente a área total da lesão, porcentagem de área lesada e o índice de lesões em comparação com o grupo controle negativo (tabela 1). Apresentando

índice de cura de $15,71 \pm 14,93$, $58,86 \pm 11,50$, $86,28 \pm 12,24$ e $42,89\% \pm 6,60\%$, respectivamente. As frações também apresentaram redução significativa em todos os parâmetros analisados, apresentando índice de cura de $90,32\% \pm 5,24\%$ para a fração hexânica (FH) e $89,83 \pm 4,35$ para a fração metanólica (FM) (figura 6).

A figura 7 apresenta imagens, de caráter ilustrativo, de alguns estômagos dos animais submetidos ao ensaio e utilizados nos cálculos dos parâmetros avaliados no experimento.

Tabela 1. Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de *A. saturoides* e omeprazol no teste de úlcera induzida por etanol em ratos.

Tratamento v.o	Dose (mg/kg)	Área total da lesão (mm ²)	% de área lesada	Índice de Lesões	Índice de Cura (%)
Controle	-	361,20± 51,32	27,25±3,58	41,33±3,73	-
Omeprazol	30	43,23±10,48**	3,76±1,02**	23,60±2,73	42,89±6,60
Extrato	100	145,22±42,74**	12,98±4,07**	34,83±6,17	15,71±14,93
	250	25,94 ±8,50**	2,27±0,77**	17,00±4,75**	58,86±11,50
	500	9,36±8,36**	0,67±1,02**	5,66 ±5,07**	86,28±12,28
FH	500	4,10±2,87**	0,45±0,28**	4,0±1,75**	90,32±5,24
FM	500	4,07± 2,75**	0,36±0,16**	4,2±1,80**	89,83±4,35

Resultados expressos como Média ± Erro Padrão da Média (EPM) de seis ratos. Comparação estatística foi realizada utilizando ANOVA seguida pelo teste de Dunnet. *p < 0,05, **p < 0,01 quando comparado ao grupo controle.

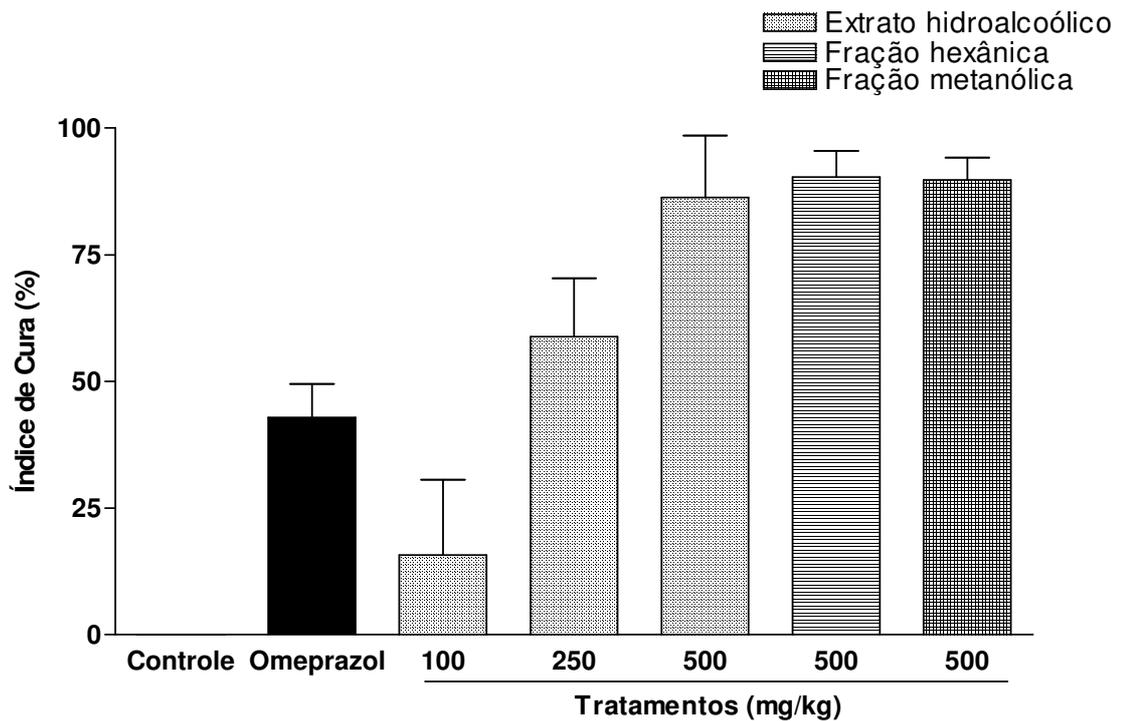


Figura 6 – Índice de cura do extrato hidroalcoólico e frações de *A. saturoides* e omeprazol em lesões induzidas por etanol. Resultados expressos como Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) de seis animais.

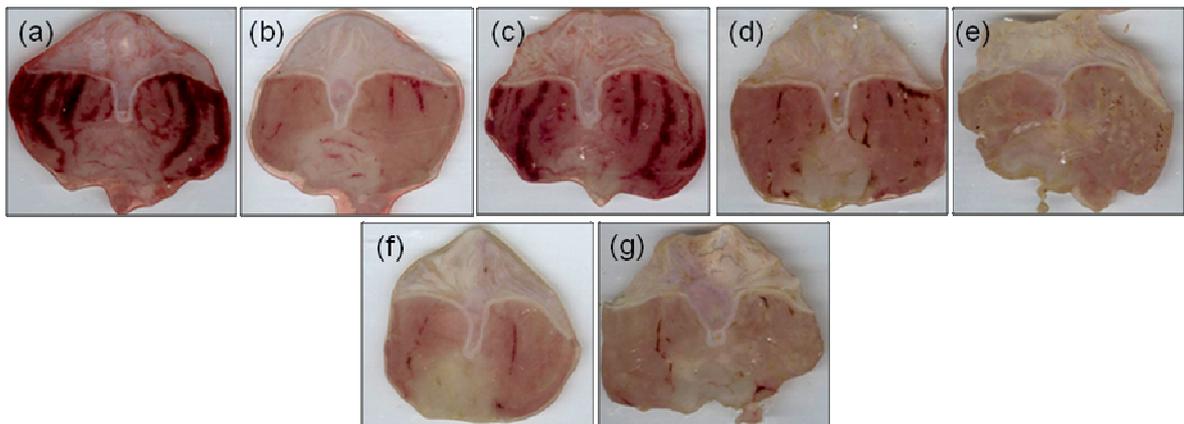


Figura 7 – Imagens de estômagos Bapós indução de úlcera com etanol: a- controle negativo; b- controle positivo (omeprazol 30 mg/kg); c- extrato hidroalcoólico 100 mg/kg; d- extrato hidroalcoólico 250 mg/kg; e- extrato hidroalcoólico 500 mg/kg; f-fração hexânica 500 mg/kg; g-fração metanólica 500 mg/kg.

5.2.2 Modelo de úlcera induzida por antiinflamatório não esteroidal

Neste modelo o tratamento com extrato de *A. saturoides* (100, 250 e 500 mg/kg) e cimetidina (100 mg/kg) reduziram significativamente todos os parâmetros avaliados em comparação com o grupo controle (Tabela 2). O índice de cura apresentado foi de 48,48±14,43, 58,97±11,06, 68,87±6,81 e 52,54% ± 8,61% respectivamente.

Do mesmo modo as frações hexânica e metanólica (500 mg/kg) reduziram significativamente todos os parâmetros analisados. Apresentando índice de cura de 93,36±2,67 e 69,89% ± 2,42%, respectivamente (Figura 8)

A figura 9 apresenta imagens ilustrativas dos estômagos dos animais submetidos ao ensaio.

Tabela 2. Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de *A. saturoides* e cimetidina no teste de úlcera induzida por AINEs.

Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Área total da lesão (mm ²)	% de área lesionada	Índice de lesões	Índice de cura (%)
Controle	-	21,65 ± 6,14	1,97 ± 0,42	32,66 ± 6,88	-
Cimetidina	100	7,49 ± 2,30**	0,70 ± 0,20**	15,50 ± 2,81*	52,54 ± 8,61
Extrato	100	7,00 ± 2,11**	0,77 ± 0,21*	16,83 ± 4,71*	48,45 ± 14,43
	250	5,95 ± 1,60**	0,70 ± 0,21**	13,40 ± 3,61*	58,97 ± 11,06
	500	3,35 ± 2,30**	0,43 ± 0,10**	10,16 ± 2,22**	68,87 ± 6,81
FH	500	0,35 ± 0,18**	0,06 ± 0,03**	2,16 ± 0,87**	93,36 ± 2,67
FM	500	2,69 ± 0,58**	0,33 ± 0,05**	9,83 ± 0,79**	69,89 ± 2,42

Resultados expressos como Média ± Erro Padrão da Média (EPM) de seis ratos. Comparação estatística realizada utilizando ANOVA seguida pelo pós-teste de Dunnet. *p < 0,05, **p < 0,01 quando comparado ao grupo controle.

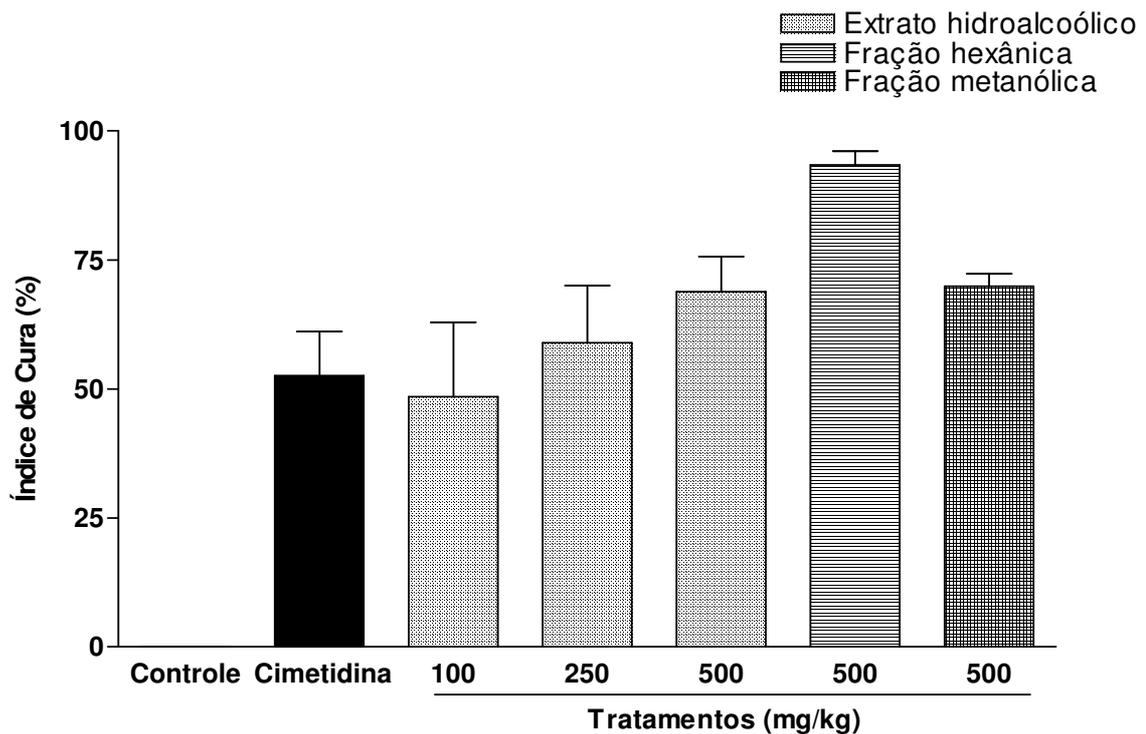


Figura 8 Índice de cura do extrato hidroalcoólico e frações de *A. saturooides* e cimetidina em lesões induzidas por indometacina. Resultados expressos como Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) de seis animais.

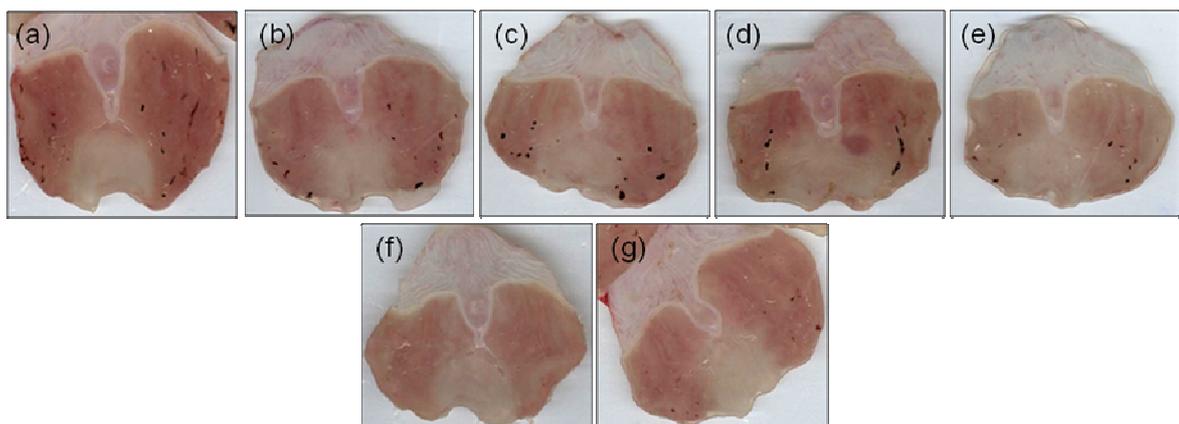


Figura 9 – Imagens de estômagos após indução de úlcera por indometacina. a- controle negativo; b- controle positivo (cimetidina 100 mg/kg); c- extrato hidroalcoólico 100 mg/kg; d- extrato hidroalcoólico 250 mg/kg; e- extrato hidroalcoólico 500 mg/kg; f-fração hexânica 500 mg/kg; g-fração metanólica 500 mg/kg.

5.2.3 Úlcera crônica induzida por ácido acético

Os resultados obtidos neste experimento mostram diferença estatística significativa na área total lesada e % de área lesada entre os grupos tratados e o grupo controle ao final do sétimo dia de tratamento (Tabela 3). O índice de cura obtido foi de $70,34 \pm 8,48$, $69,70 \pm 5,59$, $65,42 \% \pm 13,00\%$, para os grupos tratados com extrato hidroalcoólico (500 mg/kg), fração hexânica e metanólica (500 mg/kg), respectivamente e $61,35 \pm 11,88$ para o grupo controle (cimetidina) (Figura 10).

Tabela 3. Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de *A. saturoides* e cimetidina no teste de úlcera crônica induzida por ácido acético.

Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Área total da lesão (mm ²)	% de área lesionada	Índice de cura (%)
Controle	-	$9,19 \pm 1,18$	$3,47 \pm 0,47$	-
Cimetidina	100	$4,09 \pm 0,94^{**}$	$1,34 \pm 0,41^{**}$	$61,35 \pm 11,88$
Extrato	500	$4,45 \pm 0,99^{**}$	$1,39 \pm 0,34^{**}$	$70,34 \pm 8,48$
FH	500	$4,49 \pm 1,52^{**}$	$1,38 \pm 0,25^{**}$	$69,70 \pm 5,59$
FM	500	$4,54 \pm 0,84^{**}$	$1,58 \pm 0,59^{**}$	$65,42 \pm 13,00$

Resultados expressos como Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) de seis camundongos. Comparação estatística foi realizada utilizando ANOVA seguida pelo teste de Dunnet. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e quando comparado ao grupo controle

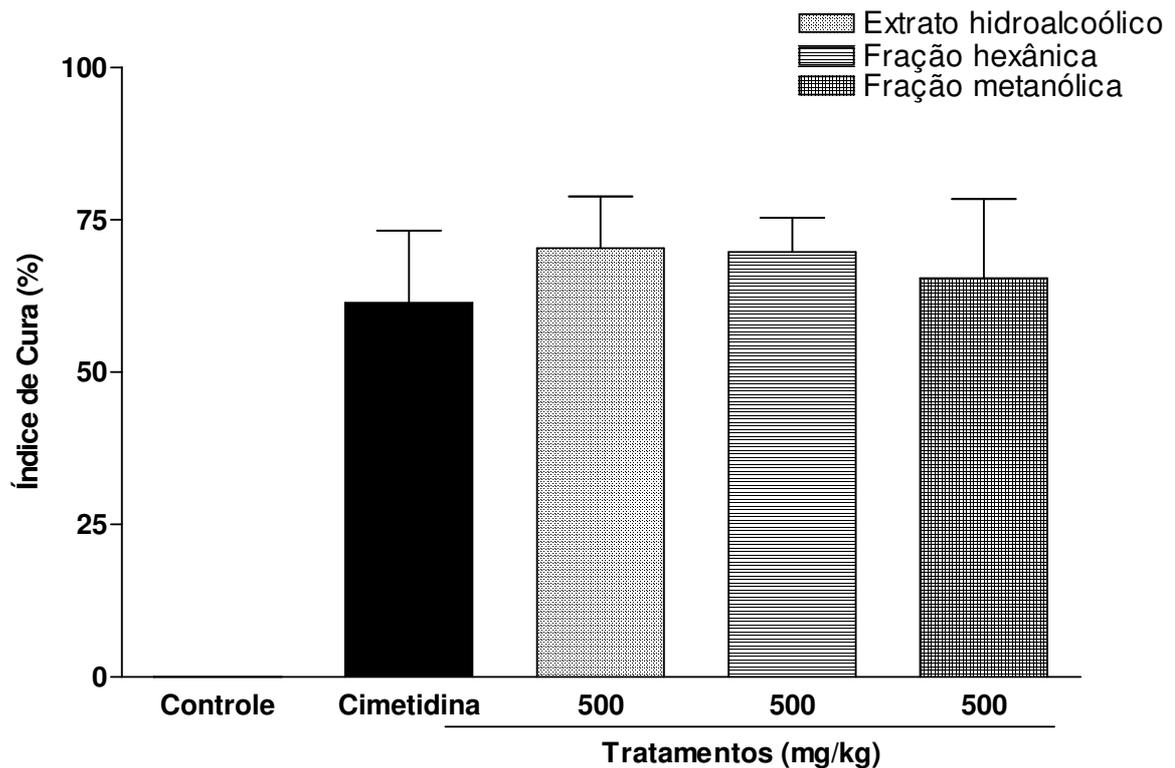


Figura 10 - Índice de cura do extrato hidroalcoólico e frações de *A. saturoides* e cimetidina em lesões induzidas por ácido acético em camundongos. Resultados expressos como Média \pm Erro Padrão da Média (EPM).

5.3 Avaliação da secreção gástrica e muco

5.3.1 Ligadura de piloro

Neste modelo observou-se redução significativa no volume de suco gástrico no grupo que recebeu extrato de *A. saturoides* (250 mg/kg) ($0,27 \pm 0,06$) quando comparado ao controle negativo ($0,77 \pm 0,15$). Na avaliação do pH somente o grupo tratado com cimetidina (100 mg/kg) ($3,92 \pm 0,20$) foi capaz de diminuir significativamente a acidez quando comparado ao controle ($2,76 \pm 0,13$). Os demais tratamentos não obtiveram diferença estatística significativa quando comparados ao controle. Os resultados estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de *A. saturoides* e cimetidina, administrados intraduodenal, avaliando os parâmetros obtidos no suco gástrico, através de ligadura de piloro.

Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Volume (mL)	pH	[H+] mEq/l/4h
Controle	-	0,77 ± 0,15	2,76 ± 0,13	65,87 ± 2,23
Cimetidina	100	0,70 ± 0,12	3,92 ± 0,20*	46,91 ± 4,38
Extrato	100	0,67 ± 0,11	3,09 ± 0,05	77,33 ± 12,74
	250	0,27 ± 0,06*	3,66 ± 0,50	72,90 ± 13,75
	500	0,59 ± 0,14	3,03 ± 0,03	79,24 ± 7,66
FH	500	0,74 ± 0,09	3,01 ± 0,06	73,54 ± 4,66
FM	500	0,86 ± 0,04	3,03 ± 0,11	76,51 ± 3,55

Resultados apresentados como média ± Erro Padrão da Média (EPM) de seis ratos. Comparação estatística realizada utilizando ANOVA seguida pelo teste de Dunnet. *p<0,05, quando comparado ao grupo controle.

5.3.2 Doseamento de muco em mucosa gástrica

Após o tratamento com o extrato hidroalcoólico de *A. saturoides* nas doses de 100 (1,68±0,07), 250 (1,71±0,07) e 500 mg/kg (1,76±0,04), fração hexânica (1,74±0,02) e metanólica (1,69±0,04) utilizando a dose de 500 mg/kg, houve um aumento significativo na produção de muco quando comparados ao grupo controle (1,41 ± 0,04). O grupo tratado com cimetidina 100 mg/kg (1,49±0,02) não apresentou diferença estatística significativa quando comparado ao grupo controle negativo. Os valores estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Efeitos do extrato hidroalcoólico, frações hexânica e metanólica de *A. saturoides* e carbenoxolona na dosagem de muco em mucosa gástrica

Tratamento (v.o)	Dose (mg/kg)	Alcian blue ligado (mg/g tecido (g))
Controle	-	1,41 ± 0,04
Carbenoxolona	250	1,73 ± 0,02**
Cimetidina	100	1,49 ± 0,02
Extrato	100	1,68 ± 0,07**
	250	1,71 ± 0,07**
	500	1,76 ± 0,04**
FH	500	1,74 ± 0,02**
FM	500	1,69 ± 0,04**

Resultados apresentados como média ± Erro Padrão da Média (EPM) de seis ratos. Comparação estatística realizada utilizando ANOVA seguida pelo teste de Dunnet. **p<0,01, quando comparado ao grupo controle.

5.4 Mecanismos de ação antiúlcera

5.4.1 Participação do óxido nítrico endógeno envolvido na gastroproteção

Os resultados obtidos para o extrato e frações de *A. saturoides* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em ratos pré-tratados com L-NAME (70 mg/kg, i.p.) são apresentados na figura 11.

A fração metanólica administrada em ratos pré-tratados com L-NAME (21,34±3,47) apresentou diferença significativa na % de área lesada quando comparada ao grupo fração metanólica que recebeu pré-tratamento com salina (0,45±0,28), o mesmo grupo não apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo controle (27,25±3,58).

Os demais grupos apresentaram diferença significativa quando comparados com o grupo controle e grupo L-NAME.

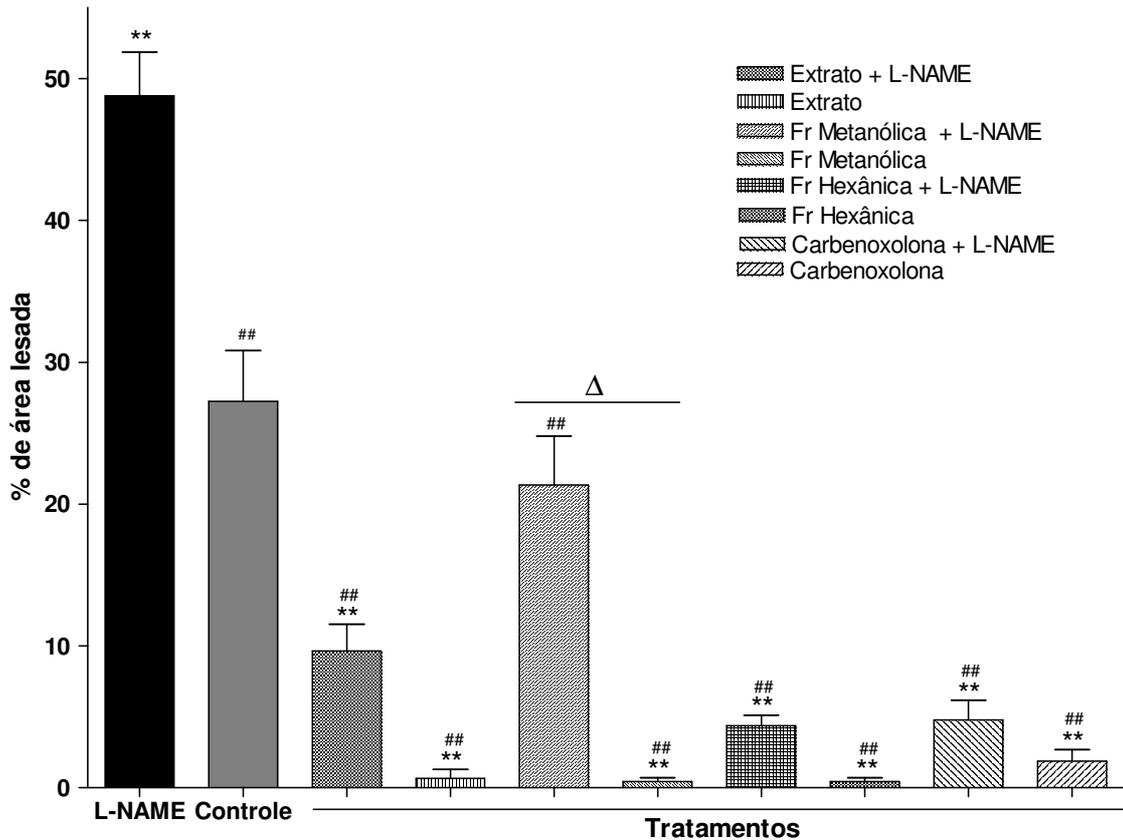


Figura 11 – Efeitos do extrato hidroalcoólico de *A. saturoides*, frações e carbenoxolona em lesões induzidas por etanol em ratos pré-tratados com L-NAME. Resultados são Média±EPM de seis ratos. Estatística foi feita por comparação usando ANOVA e pós teste de Tukey. ** $p < 0.01$ quando comparados com o grupo controle, ## $p < 0.01$ quando comparado ao grupo L-NAME. Δ mostra diferença estatística entre os grupos pré-tratados com L-NAME e pré-tratados com salina ($p < 0,01$).

5.4.2 Participação dos grupamentos sulfidril endógenos envolvidos na gastroproteção.

Os resultados obtidos para o extrato e frações de *A. saturoides* no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em ratos pré-tratados com NEM (10 mg/kg, i.p.) são apresentados na figura 12.

Neste experimento todos os grupos apresentaram diferença estatística significativa na % de área lesada quando comparados ao grupo controle e grupo NEM. Não se observou diferença estatística significativa quando a comparação foi realizada entre os grupos pré-tratados com NEM e os grupos pré-tratados com salina.

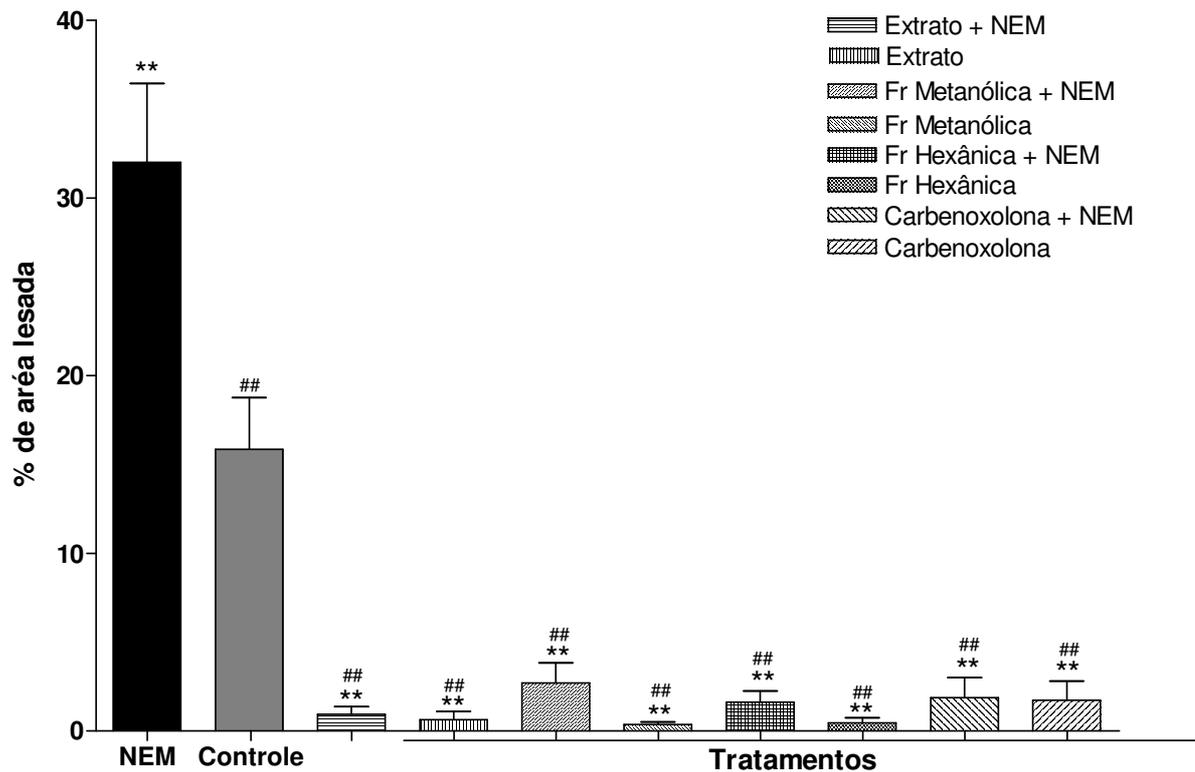


Figura 12 – Efeitos do extrato hidroalcoólico de *A. saturoides*, frações e carbenoxolona em lesões induzidas por etanol em ratos pré-tratados com NEM. Resultados são Média±EPM de seis ratos. Estatística foi feita por comparação usando ANOVA e pós teste de Tukey. **p<0.01 quando comparados com o grupo controle, ##p<0.01 quando comparado ao grupo NEM.

5.5 Avaliação toxicológica aguda – dose fixa

No teste de toxicidade aguda com o extrato hidroalcoólico de *A. saturoides*, o comportamento dos animais foi observado no período inicial, 30' 60' 2h 3h e 4h. Sendo observados os parâmetros: agitação, irritabilidade, resposta ao toque, aperto de cauda, contorção, força de agarrar, tremores, respiração, convulsão, alteração dos pêlos, pele e mucosa e número de mortos. Não sendo observadas alterações aparentes em nenhum dos períodos de observação.

A massa corpórea dos animais foi determinada no primeiro dia, sétimo dia e décimo quarto dia, não havendo alteração estatística significativa em relação ao controle durante toda a extensão do ensaio. Ao final de 14 dias foi realizada a autopsia e a análise macroscópica dos órgãos, não tendo sido observada nenhuma alteração aparente quando comparado ao grupo controle.

6 DISCUSSÃO

A úlcera gástrica é uma patologia que acomete considerável número de pessoas no mundo. O uso abusivo de álcool e AINEs, o estresse, a hereditariedade, o tabagismo e a infecção causada por *Helicobacter pylori* tem sido considerados os principais fatores de risco responsáveis pela lesão da mucosa gástrica (BABU et al. 2010; KLEIN-JR et al. 2010)

Quando a mucosa perde a capacidade de proteger-se através das secreções de bicarbonato e muco, ocorrem lesões, que são desencadeadas devido a um desequilíbrio entre os agentes agressivos e defensivos, acarretando o surgimento de úlceras (LAM et al. 2007; KLEIN-JR et al. 2010).

Atualmente, as opções de tratamento para pacientes que sofrem de úlceras gástricas incluem os fármacos antiácidos e principalmente os antagonistas de receptores de histamina-2 (H₂-Ras) e os inibidores da bomba de prótons. No entanto, foi observado que o uso em longo prazo dos H₂-Ras e dos inibidores da bomba de prótons provocam hiperplasia em células enterocromafins, o que pode levar à recidiva da doença e indução de câncer gástrico (BABU et al. 2010). Estes tratamentos terapêuticos provocam ainda outros efeitos colaterais, tais como: hipersensibilidade, arritmia, impotência, ginecomastia e distúrbios hematopoiéticos (LAKSMI et al. 2009). Portanto, há uma necessidade de busca por novos agentes antiúlcera mais eficazes e com maior segurança, e que provoquem menos efeitos colaterais.

Por estes motivos, a busca por novos fármacos é muito relevante. As plantas medicinais e os produtos naturais, dia após dia, ganham grande importância neste sentido, já que muitos extratos e compostos isolados têm apresentado resultados promissores no tratamento e prevenção das úlceras gástricas, processos inflamatórios e dolorosos (SANNOMIYA et al. 2005; MASSIGNANI et al. 2009).

A. satureoides, popularmente conhecida na região sul do Brasil como marcela, é amplamente empregada na medicina popular (etnofarmacologia). Há relatos, que indicam que o uso das inflorescências de marcela, sob a forma de chá, produza alívio para os sintomas das úlceras gástricas (KADARIAN et al. 2002; COSENTINO et al. 2008; FERARRO et al. 2008). Algumas de suas ações já foram comprovadas cientificamente, no entanto, observa-se que seu uso para alívio e cura

de problemas gástricos pela população, ainda não foi estudado, e aliado à necessidade da descoberta de novas terapias, o objetivo deste trabalho foi avaliar, a partir de metodologias padronizadas e validadas, a ação do extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* na proteção gástrica.

A atividade protetora gástrica de *A. saturooides* foi monitorada em modelos *in vivo* primeiramente, através da indução de lesões agudas por etanol. O etanol é considerado um dos agentes que induz com maior intensidade a úlcera gástrica. A administração de etanol ocasiona uma redução no fluxo sanguíneo gástrico, contribuindo para o desenvolvimento de hemorragia e necrose. Bioquimicamente, induz estresse oxidativo, aumenta a atividade da xantina oxidase e os níveis de malondialdeído, e diminui o conteúdo de glutathione total em células da mucosa gástrica (MAROTTA et al. 1999; HIRUMA-LIMA et al. 2009; MASSIGNANI et al. 2009).

No presente estudo, o grupo controle tratado com etanol, apresentou lesões abundantes e com característica necrotizante. Diferente deste grupo, os animais tratados com o extrato de *A. saturooides* apresentaram diminuição na área total lesada e % de área lesada da mucosa gástrica quando comparados ao grupo controle. A análise estatística apontou uma diminuição significativa ($p < 0,01$) indicando assim possuir um efeito gastroprotetor, inclusive superior ao omeprazol. Ainda neste experimento, foi possível constatar que quanto maior a concentração de extrato, melhor o efeito gastroprotetor, obtendo-se assim um efeito dose-resposta.

Outro fator que leva ao desequilíbrio dos fatores protetores da mucosa gástrica são os AINEs. A indometacina e outros AINEs atuam inibindo a síntese das prostaglandinas através da inibição da enzima ciclooxigenase-1, fornecendo forte evidencia de que o efeito ulcerogênico destes fármacos esta intimamente correlacionado com a supressão da síntese de prostaglandinas (KUSHIMA et al. 2009).

No estômago, as prostaglandinas desempenham um importante papel de proteção, estimulando a secreção de bicarbonato e muco, mantendo o fluxo sanguíneo, sendo também responsável pela regulação da renovação das células da mucosa. (MALFERTHEINER; CHAN; McCOLLI, 2009). Deste modo, a inibição da síntese das prostaglandinas enfraquece os fatores protetores da mucosa, diminuindo a sua capacidade de resistir aos agentes agressores (KLEIN-JR et al. 2010).

No experimento utilizando como agente indutor indometacina, verificou-se que os animais tratados com o extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* apresentaram diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,01$) na área lesada e % de área lesada da mucosa gástrica, em comparação ao grupo controle. Apresentando inclusive efeito superior ao fármaco cimetidina. Neste ensaio, o efeito dose-resposta também foi verificado.

Considerando que o extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* foi capaz de proteger a mucosa gástrica contra lesões induzidas por etanol e AINEs, passou-se a estudar se este extrato estaria interferindo de alguma maneira sobre a secreção ácida gástrica, já que este efeito (redução da secreção ácida) é o mecanismo de ação da maioria dos fármacos hoje disponíveis para o tratamento de processos ulcerativos. Neste sentido, o modelo de ligadura de piloro foi realizado. A ligadura de piloro fornece parâmetros importantes para avaliar o envolvimento de compostos sobre a secreção gástrica (LAKSHMI et al. 2009).

O estiramento da mucosa causado pela obstrução do piloro ocasiona um aumento na liberação do neurotransmissor acetilcolina, a qual atuará diretamente sobre as células parietais, induzindo a secreção de ácido clorídrico (SHAY et al. 1945; LEWIS e HANSON, 1991).

Neste modelo o extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* não alterou significativamente o volume de suco gástrico, pH e concentração de íons H^+ quando comparado ao grupo controle. Estes resultados sugerem que o extrato não possui atividade anti-secretora, sendo provável que a gastroproteção mediada pelo extrato ocorra por outra via.

O fato de algumas plantas não agirem inibindo a secreção de ácido gástrico é desejável e interessante farmacologicamente para o tratamento de úlceras gástricas, uma vez que, previne o crescimento microbiano e a hipergastrinemia (LAMBERTS et al. 1993). O não envolvimento do extrato com a secreção gástrica nos levou a investigar os mecanismos protetores da mucosa gástrica, pois, estes mecanismos protegem a mucosa contra inúmeros agentes agressores.

O primeiro mecanismo protetor investigado foi a produção de muco gástrico. Quando a barreira de muco é afetada, o epitélio gástrico torna-se mais sensível ao ataque de ácido produzido pelo estômago e, conseqüentemente, leva à formação de úlceras gástricas.

Há tempos já esta disponível um fármaco capaz de promover a produção de muco. O misoprostol (Citotec[®]), um análogo sintético da prostaglandina E₁, atua inibindo a secreção gástrica e estimulando a produção de muco, protegendo o epitélio gástrico de lesões, principalmente as causadas por AINEs. Porém este fármaco apresenta sérios efeitos adversos que limitam seu uso, como por exemplo, promover severas contrações uterinas, o que levou ao uso como abortivo, sendo usado indiscriminadamente pela população, e devido a isto, foi retirado do mercado, sendo proibida sua comercialização (ARONSSON et al. 2007).

Por isto, a busca por um novo tratamento que tenha ação semelhante, porém, com menores efeitos colaterais seria interessante farmacologicamente uma vez que, o muco aderido à superfície da mucosa gástrica protege o epitélio subjacente contra o ácido, pepsina e agentes necrotizantes como etanol e indometacina. O revestimento de muco gástrico é considerado importante, pois facilita a reparação de danos causados ao epitélio (ALQASOUMI et al. 2009).

No experimento de doseamento de muco na mucosa gástrica, foi observado que o extrato em suas diferentes doses e o controle positivo (carbenoxolona 200 mg/kg) apresentaram aumento estatisticamente significativo na produção de muco ($p < 0,01$) quando comparados ao controle negativo, assim, pode-se sugerir que os compostos presentes no extrato de alguma forma estejam atuando de maneira similar ao efeito produzido pelo fármaco misoprostol (SULEYMAN et al. 2009).

Ressalta-se, que a administração do extrato vegetal no modelo de ligadura de piloro e doseamento de muco foi realizado pela via intraduodenal para que o mesmo não entrasse em contato direto com a mucosa e suco gástrico, avaliando assim seu efeito sistêmico.

Ainda em busca por possíveis mecanismos protetores envolvidos na atividade antiúlcera do extrato de *A. saturoides*, foram realizados experimentos para verificar o envolvimento do NO e dos compostos sulfídrilas (SHs).

O NO é um importante transmissor endógeno, liberado pelas células endoteliais quando a mucosa é exposta a agentes lesivos. A principal função do NO na mucosa gástrica é proteger a mucosa de agentes vasoconstritores e inibir a secreção gástrica das células parietais (GRANGER et al. 1994). Portanto, o NO participa no mecanismo de defesa gástrica regulando o fluxo sangüíneo e a secreção de muco.

Para verificar a participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor do extrato, ratos foram pré-tratados com um inibidor da óxido nítrico-sintase (NOS), o N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), um análogo da L-arginina. O mesmo é hidrolisado em L-nitroarginina produzindo inibição da atividade da NOS. Isto faz com que as úlceras induzidas pelo etanol sejam agravadas levando a formação de severas lesões com característica necrotizante (GRANGER et al. 1994; KHALIFA et al. 2002; HEEBA; HASSAN; AMIN, 2009; ZANATTA et al. 2009). Os resultados obtidos neste experimento demonstraram que a atividade antiúlcera do extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* apresenta baixa correlação com a atividade do NO, uma vez que, não foi observada uma perda estatisticamente significativa da proteção após a administração do L-NAME.

Os compostos sulfidríla (SHs) são importantes protetores da mucosa gástrica, principalmente quando espécies reativas de oxigênio estão envolvidas no processo de lesão gástrica. Estudos afirmam que as lesões causadas pelo etanol estão fortemente associadas com uma redução nos níveis de SHs na mucosa (BARBASTEFANO et al. 2007)

Neste estudo, o pré-tratamento com NEM (um quelante de SHs) não aboliu de maneira estatisticamente significativa a gastroproteção do extrato hidroalcoólico de *A. saturooides*, indicando desta forma que os compostos SHs não estão envolvidos no mecanismo de proteção gástrica desenvolvido pelo extrato.

Todos os modelos até aqui empregados na avaliação da atividade antiúlcera causam erosões na mucosa, porém estas erosões são diferentes quando comparadas histologicamente com a úlcera gástrica crônica humana (BRZOZOWSKI, 2003). O modelo ideal e que reproduz com maior confiabilidade e realidade a úlcera gástrica é o ensaio introduzido por TAKAGI et al. (1969), o qual corresponde à aplicação de uma injeção na camada sub-serosa da parede externa do estômago contendo ácido acético provocando desta forma uma lesão profunda e necrótica, similar a úlcera crônica humana (DE PAULA et al. 2008).

Neste modelo, houve uma diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,01$) nos parâmetros analisados, área total lesionada e % de área lesada, quando se comparou os animais tratados com extrato hidroalcoólico e o grupo controle, inclusive com eficácia levemente superior ao grupo tratado com o fármaco cimetidina.

Possivelmente fatores de crescimento estão presentes no processo de cicatrização das úlceras crônicas, estimulando, por exemplo, angiogênese, granulação da formação tecidual, re-epitelização, migração e proliferação celular (SZABO e VINCZE, 2000).

De acordo com Konturek et al. (1992), o processo antiulcerogênico e a cicatrização das úlceras crônicas envolve a participação do fator de crescimento epidérmico. Os fatores de crescimento bem como seus receptores desempenham um papel importante na proliferação e migração celular, ocasionando desta forma a reparação do dano tecidual e a cicatrização da úlcera.

Após avaliação da atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico de *A. saturoides*, foi avaliado quais os possíveis compostos ou classes destes, poderiam estar envolvidos na atividade gastroprotetora. Os compostos obtidos de plantas medicinais com atividade gastroprotetora apresentam estruturas químicas distintas e diferentes mecanismos de ação. As principais classes relacionadas a esta atividade são: terpenos, triterpenos, flavonóides, alcalóides, esteróides e polissacarídeos (LEWIS; HANSON, 1991).

As CCDs realizadas com o extrato de *A. saturoides* evidenciaram a presença de metabolitos secundários, como: flavonóides, terpenos e esteróides.

Esse resultado está de acordo com o que é reportado na literatura, onde se encontra que os flavonóides são os principais metabolitos secundários desta espécie, tendo a quercetina como composto majoritário (DE SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2002; DE SOUZA; BASSANI; SCHAPOVAL, 2007).

Gugliucci e Menini (2002) reportam também a presença de esteróides e terpenos na composição química de *A. saturoides*, e enfatizam que os mesmos também podem estar implicados nas atividades biológicas apresentadas pela espécie.

A fim de separar por classes de compostos, o procedimento de partição líquido-líquido foi adotado. O extrato hidroalcoólico de *A. saturoides* foi particionado utilizando-se hexano, que tem a característica de extrair compostos apolares, como: terpenos e esteróides. Este procedimento proporcionou a obtenção de duas frações, uma hexânica (rica em terpenos e esteróides) e uma fração residual metanólica (rica em compostos fenólicos).

Para melhor visualização, foi realizado o perfil cromatográfico do extrato e das frações juntamente com alguns padrões de flavonóide, terpenos e esteróides.

Quando utilizado o sistema eluente clorofórmio: metanol (8:2) foi observado a presença do flavonóide quercetina tanto no extrato quanto na fração metanólica. Por outro lado, na fração hexânica não foi observada a presença de flavonóides. O resultado está em concordância com De Souza et al. (2007), o qual reporta o flavonóide quercetina como componente majoritário das inflorescências de *A. satureoides*.

Os flavonóides são substâncias polifenólicas amplamente encontradas na natureza. Possuem uma estrutura química de baixo peso molecular (HARBONE e WILLIAMS, 2000; DI CARLO et al. 1999). Resultados obtidos por Barros et al. (2008) indicam que os compostos fenólicos têm um efeito antiulcerogênico relacionado com a atividade citoprotetora, por reduzirem as lesões causadas pelo agente agressor etanol.

Segundo Gracioso e colaboradores (2002) e Beil e colaboradores (1995), a ação gastroprotetora dos flavonóides, de forma geral, pode ser mediada através da estimulação da secreção de muco e bicarbonato, ou por um efeito inibitório direto na bomba de prótons das células parietais.

Conforme Mota e colaboradores (2009) o principal mecanismo envolvido na gastroproteção dos flavonóides quercetina, rutina e garcinol são referentes à sua capacidade de eliminar radicais livres, inibição de enzimas da via oxidativa, aumento de antioxidantes protéicos e não protéicos e redução da peroxidação lipídica.

No perfil cromatográfico da fração hexânica, direcionado a terpenos e esteróides, utilizando como fase móvel hexano: acetona (8:2), sugere-se a presença de α,β -amirina, lupeol e estigmasterol (Ugaz, 1994).

Estudos realizados por Lira et al. (2009), com o triterpeno lupeol mostraram significativa redução da área total lesionada quando comparado ao grupo controle utilizando o modelo de úlcera induzida por etanol.

Recentemente Klein-Jr (2010) e colaboradores, avaliaram a atividade antiúlcera do espinasterol, um esteróide amplamente distribuído em plantas superiores, tendo como resultado uma diminuição estatisticamente significativa em todos os parâmetros avaliados quando comparado ao grupo controle. Considerando que o estigmasterol possui estrutura química similar a do espinasterol, pode-se sugerir que este composto esteja envolvido também na gastroproteção apresentada pelo extrato.

A partir destes dados, sugere-se que a gastroproteção apresentada pelo extrato hidroalcoólico de *A. saturooides* ocorreu em parte pela presença de flavonóides, terpenos e esteróides. Visto que, tanto flavonóides como terpenos e esteróides possuem atividade antiúlcera descritas na literatura. Às frações hexânica e metanólica também foram avaliadas, empregando os mesmos modelos utilizados com o extrato, a fim de estabelecer qual a principal classe envolvida na gastroproteção.

No modelo de úlcera gástrica induzida por etanol, tanto a fração hexânica como a fração metanólica apresentaram redução estatisticamente significativa ($p < 0,01$) na área total lesada e % de área lesada quando comparados ao grupo controle inclusive ambas apresentaram atividade superior ao extrato hidroalcoólico de *A. saturooides*.

Resultado semelhante foi obtido no ensaio de úlcera induzida por AINEs, onde as frações também apresentaram diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,01$) na área total lesada e % de área lesada quando comparados ao grupo controle negativo.

Assim como o extrato, as frações também foram avaliadas quanto a capacidade de alterar a secreção gástrica e seus parâmetros, como pH, volume e concentração de íons H^+ . Neste experimento, os resultados foram similares aos reportados ao extrato, ou seja, as frações também não obtiveram resultados estatisticamente significativos em nenhum dos parâmetros analisados.

Igualmente ao extrato, as frações hexânica e metanólica no ensaio de doseamento de muco apresentaram efetividade, ou seja, apresentaram aumento estatisticamente significativo ($p < 0,01$) na produção de muco quando comparadas ao grupo controle.

No modelo de avaliação da participação do óxido nítrico endógeno envolvido na gastroproteção, foi possível verificar que o pré-tratamento com L-NAME atenuou o efeito gastroprotetor da fração metanólica de maneira estatisticamente significativa ($p < 0,01$), apresentando % de lesões ulcerativas superior ao grupo que recebeu pré-tratamento com salina indicando desta forma, que o NO está envolvido na proteção da mucosa gástrica, ou seja, o efeito gastroprotetor da fração metanólica é em parte dependente da liberação/produção de NO. Para a fração hexânica não foi observada perda da proteção no grupo pré-tratado com L-NAME, mostrando assim estar exercendo sua atividade protetora gástrica através de outra via de gastroproteção.

Na avaliação da participação dos grupamentos sulfidrílicos (SHs) endógenos envolvidos na gastroproteção, utilizando NEM (quelante de grupamentos SHs), foi possível verificar que tanto a fração hexânica quanto a metanólica não agem por esta via de gastroproteção, uma vez que não foi observada a perda da gastroproteção nos grupos pré-tratados com NEM.

Na avaliação da úlcera crônica induzida por ácido acético tanto a fração hexânica como a fração metanólica apresentaram redução estatisticamente significativa ($p < 0,01$) da área total lesada e % de área lesada quando comparadas ao grupo controle, mostrando desta forma serem eficazes no processo curativo de lesões crônicas.

Outro aspecto importante a ser considerado na seleção de um extrato vegetal para a cura de patologias é a sua toxicidade. O teste de toxicidade aguda do extrato bruto hidroalcoólico de *A. saturoides* foi realizado através da administração do extrato bruto em suspensão aquosa, utilizando a via oral, em dose única de 2 g/kg de massa corpórea. Durante o experimento nenhum animal veio a óbito e nenhum sinal de comportamento alterado foi observado. Durante os 14 dias de avaliação do experimento de toxicidade aguda houve um ganho de massa corpórea tanto dos animais do grupo controle quanto do grupo tratado com extrato de *A. saturoides*, não ocorrendo diferença estatística significativa durante o ensaio. Ao final do experimento não foram observadas alterações macroscópicas aparentes nos órgãos dos animais. Devido a isto, análises histológicas não foram realizadas.

Os dados obtidos corroboram com Rivera et al. (2004), que avaliou a toxicidade do extrato aquoso de *A. saturoides* e concluiu que a mesma oferece uma ampla margem de segurança e não pode ser considerada como causa de disfunções hepáticas e ou nutritivas.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os estudos realizados com o extrato hidroalcoólico e as frações hexânica e metanólica obtidos a partir das inflorescências de *A. saturooides* (Lam.) D.C. (marcela), foi possível concluir que:

- 1) O extrato e frações apresentaram atividade gastroprotetora frente a dois dos principais agentes indutores de lesões gástricas, o etanol e os fármacos antiinflamatórias não-esteroidais (AINEs);
- 2) A atividade antiúlcera do extrato hidroalcoólico e das frações hexânica e metanólica de *A. saturooides* está provavelmente relacionada com o aumento da produção de muco, não estando relacionada com a diminuição da secreção gástrica ácida.
- 3) O mecanismo de ação do extrato esta levemente relacionado com a via do óxido nítrico. Por outro lado, a fração metanólica mostrou estar relacionada com esta via, diferente da fração hexânica que provavelmente exerce sua ação a partir de outra via.
- 4) O mecanismo de ação do extrato e das frações hexânica e metanólica parece não estar envolvido com os grupamentos sulfídrica.
- 5) No ensaio de úlcera crônica induzida por ácido acético, o extrato e as frações apresentaram atividade curativa de lesões ulcerativas.
- 6) No experimento de toxicologia aguda, utilizando o modelo de dose-fixa, não foram observados alterações frente às análises realizadas (comportamental, evolução do peso corporal e análise macroscópica dos órgãos);
- 7) A análise fitoquímica do extrato e frações evidenciou que as principais classes são: flavonóides, terpenos e esteróides, e que podem ser os responsáveis em parte pela ação gastroprotetora do extrato.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, F.; SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; PANSERA, M. R.; ZATTERA, F.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 3, n. 15, p. 215-220, 2005.
- AIHARA, T.; NAKAMURA, E.; AMAGASE, K.; TOMITA, K.; FUJISHITA, T. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. **Pharmacology & Therapeutics**, n. 98, p. 109-127, 2003.
- ALQASOUMI, S.; AL-SOHAIBANI, M.; AL-HWIRINY, T.; AL-YAHYA, M.; RAFATULLAH, S. Rocket "*Eruca sativa*": A salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n. 16, p. 1958-1965, 2009.
- ANDRADE, S. F.; ANTONIOLLI, D.; COMUNELLO, E.; CARDOSO, L. G. V.; CARVALHO, J. C. T.; BASTOS, J. K. Antiulcerogenic activity of crude extract, fractions and populonic acid isolated from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). **Zeitschrift fur Natur-forschung**, n. 61c, p. 329-333, 2006.
- ANDRADE, S. F.; LEMOS, M.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; CECHINEL-FILHO, V.; NIERO, R. Evaluation of the antiulcerogenic of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in different experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 113, p. 252-257, 2007.
- ARONSSON, A.; FIALA, C.; STEPHANSSON, O.; GRANATH, F.; WATZER, B.; SCHWEER, H.; GEMZELL-DANIELSSON, K. Pharmacokinetic profiles up to 12 h after administration of vaginal, sublingual and slow-release oral misoprostol. **Human Reproduction**, n. 7, p. 1912-1918, 2007.
- ARRIETA, J.; BENITEZ, J.; FLORES, E.; CASTILHO, C.; NAVARRETE, A. Purification of gastroprotective triterpenoids from steam bark of *Amphiterygium adstringens*; roles of prostaglandins, sulphidryls, nitric oxide and capsaicin neurons. **Planta Medica**, v. 69, p. 905-909, 2003.
- BABU, T. H.; MANJULATHA, K.; KUMAR, G. S.; HYMAVATHI A.; TIWARI, A. K.; PUROHIT, M.; RAO, J. M.; BABU, K. S. Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 20, p. 117-120, 2010.
- BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, p. 431-441, 2005.
- BARBASTEFANO, V.; COLA, M.; LUIZ-FERREIRA, A.; FARIAS-SILVA, E.; HIRUMA-LIMA, C. A.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. M. S. *Vernonia polyanthes* as a new source of antiulcer drugs. **Fitoterapia**, n. 78, p.545-551, 2007

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARROS, M. P.; LEMOS, M.; MAISTRO, E.L.; LEITE, M.F.; SOUSA, J.P.B.; BASTOS, J.K.; ANDRADE, S. F. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 120, p. 372-377, 2008

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

BERETTA, M. E.; FERNANDES, A. C.; SCHNEIDER, A. A.; RITTER, M. R. A família Asteraceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 3, p. 189-216, 2008.

BETTEGA, J. M. R.; TEIXEIRA, H.; BASSANI, V. L.; BARARDI, C. R. M.; SIMÕES, C. M. O. Evaluation of the Antiherpetic Activity of Standardized Extracts of *Achyrocline satureoides*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 819-823, 2004.

BIGHETTI, A. E.; ANTONIO, M. A.; KOHN, L. K.; REHDER, V. L. G.; FOGLI, M. A.; POSSENTI, A.; VILELA, L.; CARVALHO, J. E. Antiulcerogenic activity of a crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. **Phytomedicine**, v. 12, p. 72-77, 2005.

BONACORSI, C.; RADDI, M. S. G.; CARLOS, I. Z.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W. Anti-*Helicobacter pylori* activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa* Nied. (Malpighiaceae). **Complementary and Alternative Medicine**, n. 9, v. 2, p. 1-7, 2009.

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

CALVO, D.; CARIDDI, L. N.; DEMO, M. S.; MALDONADO, A. M. *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Marcela): Antimicrobial activity on *Staphylococcus ssp.* and immunomodulating effects on human lymphocytes. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v. 3-4, n. 48, 2006.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 2, n. 18, p. 314-319, 2008.

CARVALHO, J. E. Atividade antiulcerogênica e anticâncer de produtos naturais e de síntese. In: Construindo a história dos produtos naturais. **Multi Ciência**, v. 7, p. 1-18, 2006.

COSENTINO, M.; BOMBELLI, R.; CARCANO, E.; LUINI, A.; MARINO, F.; CREMA, F.; DAJAS, F.; LECCHINI, S. Immunomodulatory properties of *Achyrocline*

satureoides (Lam.) D.C. infusion: A study on human leukocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p. 501-507, 2008.

DE PAULA, A. C. B.; GRACIOSO, J. S.; TOMA, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; CARNEIRO, E. M.; SOUZA BRITO, A. R. M. The antiulcer effect of *Croton cajucara* Benth in normoproteic and malnourished rats. **Phytomedicine**, v. 15, p. 815-825, 2008.

DE SOUZA, K. C. B.; BASSANI, V. L.; SCHAPOVAL, E. E. S. Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. extracts by oral route. **Phytomedicine**, v. 14, p. 102-108, 2007.

DE SOUZA, K. C. B.; BASSANI, V. L.; SCHAPOVAL, E. E. S. LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-o-methylquercetin in *Achyrocline satureoides* preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 771-777, 2002.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Review article: Flavonoids old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, n. 65, p. 337-353, 1999.

DONATINI, R. S.; ISHIKAWA, T.; BARROS, S. M.; BACCHI, E. M. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 19, v. 1A, p. 84-94, 2009.

ENCICLOPÉDIA Multimídia do Corpo Humano. São Paulo: Planeta DeAgostini, v.4, 2000.

FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureoides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 49-54, 2007.

FALCÃO, H. S.; LIMA, I. O.; SANTOS, V. L.; DANTAS, H. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BATISTA, L. M. Review of the plantas with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 15, p. 381-391, 2005.

FALCÃO, H. S.; MARIATH, I. R.; DINIZ, M. F. F. M.; BASTISTA, L. M.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants of the American continent with antiulcer activity. **Phytomedicine**, v. 15, p. 132-146, 2008.

FERRARO, G.; ANESINI, C.; OUVINA, A.; RETTA, A.; FILIP, R.; GATTUSO, M.; GATUSSO, S.; HNATYSZYN, O.; BANDONI, A. Total phenolic content and antioxidant activity of extracts of *Achyrocline satureoides* flowers from different zones in Argentina. **Latin American Journal of Pharmacy**, n. 27, p. 626-634, 2008.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 178-182, 2006.

GARCIA, G. H.; CAVALLARO, L.; BROUSSALIS, A.; FERRARO, G.; MARTINO, V.; TORRES, R.; COUSSIO, J.; CAMPOS, R. Antiviral activity of *Achyrocline flaccida* Wein DC aqueous extract. **Phytotherapy Research**, v. 9, p. 251-254, 1995.

GRACIOSO, J. S., VILEGAS W., HIRUMA-LIMA C.A., SOUZA BRITO A. R. Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the *Turneraceae* as a new source of antiulcerogenic drugs. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, n. 25 v. 4, p. 487-491, 2002.

GRANGER, D.N.; KUBES, P. The microcirculation and inflammation: modulation of the leukocyte-endothelial cell adhesion. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 55, p. 662-675, 1994.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureoides*. **Life Sciences**, n. 71, p. 693-705, 2002.

GURBUZ, I.; YESILADA, E.; ITO, S. An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 30, p.360-365, 2009.

HAWKEY, C. J; Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Gastropathy, **Gastroenterology**, n. 119, p. 521–535, 2000

HARBONE, J. F.; WILLIAMS, C. A.; Review: Advances in flavonoid research since. **Phytochemistry**, n. 55, p. 481-504, 2000.

HEEBA, G. H.; HASSAN, M. K. A.; AMIN, R. S.; Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: role of nitric oxide and prostaglandins. **European Journal of Pharmacology**, n. 607, p. 188-193, 2009

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; WASUM, R. A.; SCUR, L.; SARTORI, M. A família Asteraceae em São Mateus do Sul, Parana. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 249-251, 2007.

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

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

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A.; HOSTETTMAN, M. **Sample Preparation and Purification**. In: Preparative chromatography techniques: Applications in natural product isolation. New York, 2^o ed., p.4-14, 1998.

KADARIAN, C.; BROUSSALIS, A. M.; MIN, J.; LOPEZ, P.; GORZALCANYS, S.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureoides* (LAM) D.C. **Pharmacological Research**, v. 45, n. 1, 2002.

KHALIFA, M. A.; HASSAN, M. K. A.; ASHOUR, O. M.; HEEBA, G. H. Evaluation of the anti-ulcer activity of pibutidine hydrochloride (IT-066); the new histamine H2-receptor antagonist, in cold-restraint stress- and ethanol-induced ulcer models in rats. **Al-Azhar Medicinal Journal**, n. 31, p. 33-47, 2002.

KATINAS, L.; GUTIÉRREZ, D. G.; GROSSI, M. A.; CRISCI, J. V. Panorama de la familia Asteraceae (=Compositae) en la Republica Argentina. **Boletín Sociedade Argentina de Botanica**, n. 42, v. 1-2, p. 113-129, 2007.

KLEIN-JR, L. C., GANDOLFI, R. B., SANTIN, J. R., LEMOS, M., CECHINEL-FILHO, V., ANDRADE, S.F. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire & Moquin (Polygalaceae). **Naunyn-Schmiedberg Archive of Pharmacology**, n. 381, p. 121-126, 2010.

KLOPELL, F. C.; LEMOS, M.; SOUSA, J. P. B.; COMUNELLO, E.; MAISTRO, E. L.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). **Zeitschrift fur Naturforschung**, n. 62c, p. 537-542, 2007.

KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, T., MAJKA, J., DEMBINSKI, A., SLOMIANY, A., SLOMIANY, B.L. Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in protection and healing of gastric mucosal injury. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, n. 27, p.649-655, 1992.

KUSHIMA, H., NISHIJIMA, C.M., RODRIGUES, C.M., RINALDO, D., SASSÁ, M.F., BAUAB, T.M., DI STASI, L.C., CARLOS, I.Z., BRITO, A.R.M.S., VILEGAS, W., HIRUMA-LIMA, C. A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. **Journal of Ethnopharmacology**, 123, 430-438. 2009

LAM, E.K.Y., TAI, E.K.K., KOO, M.W.L., WONG, H.P.S., WU, W.K.K., YU, L., SO, W.H.L., CHO, W.C.H. Enhancement of gastric mucosal integrity by *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Life Sciences** 80, 2128-2136, 2007

LAMBERTS, R.; CREUTZFELDT, W.; STRUBER, H. G.; SOLCIA, E. Long-term omeprazole therapy in peptic ulcer disease: gastrin, endocrine cell growth, and gastritis. **Gastroenterology**, n. 104, p. 1356-1370, 1993.

LAKSHIMI, V. Gedunin and photogedunin of *Xilocarpus granatum* show significant anti-secretory effects and protect the gastric mucosa of peptic ulcer in rats. **Phytomedicine** (2009), doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.016

LEWIS, D. A.; HANSON, P. J. Anti-ulcer drugs of plant origin In: Ellis, G. P.; West, G. B. **Progress Medicinal Chemistry**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, n. 28, p. 201-231, 1991.

LIRA, S. R.; RAO, E. V.; CARVALHO, A. C. S.; GUEDES, M. M.; DE MORAIS, E. T. C.; DE SOUZA, A. L.; TREVISAN, M. T.; LIMA, A. F.; CHAVES, M. H.; SANTOS, F. S. Gastroprotective effect of lupeol on ethanol-induced gastric damage and the underlying mechanism. **Inflammopharmacology**, 2009.

LIU, Y.; WANG, M. W. Botanical drugs: challenges and opportunities contribution to Linnaeus Memorial Symposium. **Life Sciences**, n. 82, p. 445-449, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, p. 131, 2002.

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

MALFERTHEINER, P., CHAN, F.K.L., MCCOLL, K.E.L. Peptic ulcer disease. **Lancet** 374, 1149-1461, 2009.

MAROTTA, F.; TAJIRI, H.; SAFRAN, P.; FESCE, E.; IDEO, G. Ethanol related gastric mucosal damage: evidence of a free radical-mediated mechanism and beneficial effect of oral supplementation with bionormalizer, a novel natural antioxidant. **Digestion**, n. 60, p. 538-543, 1999.

MATSUDA, L.; 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 lesion in rats. **Life Sciences**, n. 65, p. 27-32, 1999.

McCHESNEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T. Plant natural products: Back to the future or into extinction. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2015-2022, 2007.

MERCHANT, J.L. Tales from the crypts: regulatory peptides and cytokines in gastrointestinal homeostasis and disease. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, p. 6 – 12, 2007.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMORO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of terpenone and cimetidina. **Japanese Journal of Pharmacology**, n. 57, p. 955-6053, 1991.

MOTA, K. S. L.; DIAS, G. E. N.; PINTO, M. E. F.; LUIZ-FERREIRA, A.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BATISTA, L. M. Review: Flavonoids with gastroprotective activity. **Molecules**, n. 14, p. 979-1012, 2009.

NAIK, Y.; JAYARAM, S.; NAYAKA, M. A. H.; LAKSHMAN; DHARMESH, S. M. Gastroprotective effect of swallow root (*Decalepis hamiltonii*) extract: Possible involvement of H⁺K⁺ATPase inhibition and antioxidative mechanism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 173-179, 2007.

NWAFOR, P. A.; OKWUASABA, F. K.; BINDA, L. G. Antidiarrhoeal and antiulcerogenic effects of methanolic extract of *Asparagus pubescens* root in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 72, p. 421-427, 2000.

OECD, 2001. Guideline for Testing of Chemicals. Guidance no. 420. Fixed Dose Procedure, Adopted December 17, 2001. Disponível em <http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECDGL420.pdf>.

PANERO, J. L.; FUNK, V. A. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: Major clades of the Asteraceae revealed. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 47, p. 757-782, 2008.

PETROVICK, G. F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C. Asteraceae (Marcela)**. 2006. 199 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

POLYDORO, M.; SOUZA, K. C. B.; ANDRADES, M. E.; SILVA, E. G.; BONATTO, F.; HEYDRICH, J.; DAL-PIZZOL, F.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant, a pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline satureoides* extracts. **Life Sciences**, n. 74, p. 2815-2826, 2004.

POZO, L. A. P. **Estudo “in vitro” do efeito de extratos aquosos de plantas medicinais sobre *Clostridium difficile***. 1997, 77p. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

RIVERA, F.; GERVAZ, E.; SERE, C.; DAJAS, F. Toxicological studies of the aqueous extract from *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Marcela). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 359-362, 2004.

RODRIGUES, P. A.; MORAIS, S. M.; MARQUES, M. M. M.; AGUIAR, L. A.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Atividade antioxidante e gastro-protetora de produtos naturais em animais experimentais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 2, p. 116-123, 2008.

SANNOMIYA, M.; FONSECA, V. B.; SILVA, M. A.; ROCHA, L. R. M.; SANTOS, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 1-6, 2005.

SANTOS, S. C.; FERREIRA, F. S.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 215-219, 2007.

SATO, S.; IKEDA, H.; FURUKAWA, H.; MURATA, Y.; TOMODA, M. Effects of nutrient solution concentration on inorganic and glycyrrhizin contents of *Glycyrrhiza glabra* Linn. **Yakugaku Zasshi**, v. 124, n. 10, p. 705-709, 2004.

SCHUBERT, M.L.; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842 – 1860, 2008.

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

SIMÕES, C. M. O. **Investigação químico-farmacológica de *Achyrocline satureoides* (Lam.) D.C., Compositae (Marcela)**. 1984. 186f. Dissertação (Mestrado em Farmácia – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1984.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 5 ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003

SIQUEIRA, J. S.; LIMA, P. S. S.; BARRETO, A. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Aspectos gerais nas infecções por *Helicobacter pylori* Revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n. 1, p. 9-13, 2007.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 18, v. 4, p. 618-626, 2008.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. The principles and practice of statistics in biological research, New York: W. H. Freeman Company, p. 887, 1995.

SOUZA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FELIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 4, n. 18, p. 642-654, 2008.

SOUZA, M. C.; BESERRA, A. M. S.; MARTINS, D. C.; VILLA-REAL, V.; SANTOS, R. A. N.; RAO, V. S.; SILVA, R. M.; MARTINS, D. T. O. *In vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* activity of *Calophyllum brasiliense* Camb. **Journal Ethnopharmacology**, Article in press, doi:10.1016/j.jep.2009.03.030, 2009.

SULEYMAN, H., DURSUN, H., BILICI, M., CADIRCI, E., HALICI, Z., GULABOGLU, M., ALBAYRAK, F. Relation of adrenergic receptors, which have roles in gastroprotective and anti-inflammatory effect of adrenal gland hormones, with cyclooxygenase enzyme levels in rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 129-134, 2009.

SUN, S. B.; MATSUMOTO, T.; YAMANDA, H. Effects of a polysaccharide fraction from the roots of *Bupleurum folcatum* L. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. **Journal Pharmacy Pharmacology**, n. 43, p. 699-704, 1991.

SUNG J. Current management of peptic ulcer bleeding. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, v.3 n.1, p.24-32, 2006.

SZABO, S.; VINCZE, A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. **Journal of Physiology-Paris**, n. 94, v. 2, p. 77-81, 2000.

TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and effect of several drugs on its healing. **Japanase Journal of Pharmacology**, v. 19, n. 3, p. 418, 1969.

TOLEDO DIAS, L. F.; MELO, E. S.; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. Atividade antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteracea). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 19, v. 1B, p. 309-314, 2009.

TULASSAY, Z.; HERSZENYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 24, p. 99-108, 2010.

UGAZ, O. L. **Investigación fitoquímica**. 2ª Ed., Pontificia Universidad Catolica Del Peru, p. 300, 1994.

VENDRUSCULO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 361-372, 2005.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E, J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quimica Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

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

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y.; KISHI, A.; TOMI, T.; KANEKO, T.; LINUMA, S.; ICHIKAWA, H.; YASUDA, M.; TAKAHASHI, S.; KONDO, M. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. **Gut**, v. 34, n. 6, p. 732-737, 1993.

YUE-ZHONG SHU. Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective **Journal Natural Products**., v. 61, n.8, p. 1053-1071, 1998.

YUHONG, Y.; IRENEUSZ, T. P.; RICHARD, H. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**., n.3, p. 80-89, 2006.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas

ocidental e oriental. In: Yunes, R. A.; Calixto, J. B., eds.; **Plantas Mediciniais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**, Ed. Argos: Chapecó, 2001.

ZANATTA, F.; GANDOLFI, R. B.; LEMOS, M.; TICONA, J. C.; GIMENEZ, A.; CLASEN, B. K.; CECHINEL-FILHO, V.; ANDRADE, S. F. Gastroprotective activity of alkaloid extract and 2-phenylquinoline obtained from the bark of *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae). **Chemical Biological Interactions**, n. 180, p. 312-317, 2009.

ANEXOS

Anexo A – Parecer de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIVALI

Anexo B – Artigo científico aceito para publicação no Journal of Ethnopharmacology

CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTERORA DE *Achyrocline saturooides* (Lam.) D.C. – MARCELA (ASTERACEAE).

Cadastro: 301/09a

**PARECER CONSUBSTANCIADO PARA USO DE ANIMAIS
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVALI**

Título do Projeto: CONTRIBUIÇÃO À VALIDAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTERORA DE <i>Achyrocline saturooides</i> (Lam.) D.C. – MARCELA (ASTERACEAE).	
Orientador: Sérgio Faloni de Andrade Acadêmico: JOSÉ ROBERTO SANTIN	
Data do Parecer: 11/12/2009	Cadastro: 301/09a
Objetivos do Projeto: Contribuir com a validação da atividade gastroprotetora da <i>Achyrocline saturooides</i> (Lam.) D.C. (Asteracea) – Marcela.	
Sumário do Projeto: Úlceras gástricas são lesões necrosantes que acometem toda a superfície da mucosa gástrica e também a camada muscular. Esta patologia acomete cerca de 10 % da população mundial. Atualmente, não há terapias que sejam 100% eficazes, e que não apresentem efeitos indesejáveis. A utilização de plantas e/ou compostos derivados destas no tratamento de doenças vem se destacando nas últimas décadas; sendo que muitas destas apresentam atividade antiulcerogênica. Uma planta que vem sendo investigada é a <i>Achyrocline saturooides</i> que é uma planta pertencente à família Asteraceae, muito difundida nos estados do sul do Brasil, e conhecida popularmente como Marcela. É uma planta à qual são atribuídos pela população várias propriedades terapêuticas, sendo utilizada como anti-inflamatório, calmante e sedativo, para transtornos hepáticos, antioxidante e principalmente para tratamento de distúrbios gástricos, como por exemplo, úlceras gastrointestinais e dispepsias, sob a forma de infusão obtida das inflorescências. Algumas das propriedades terapêuticas atribuídas à <i>A. saturooides</i> foram comprovadas por estudos científicos, no entanto, a utilização nos distúrbios gástricos ainda não foi adequadamente estudada. Assim, o desenvolvimento deste trabalho visa: 1) Avaliar a atividade antiúlcera do extrato e frações de <i>Achyrocline saturooides</i> em diferentes modelos experimentais (Etanol, Indometacina) usando três diferentes doses (25, 50 e 100 mg/kg) para observar se existe efeito dose-resposta; 2) avaliar a influência da administração do extrato sobre a secreção gástrica (volume, pH, concentração de H ⁺); 3) avaliação de úlceras crônicas (ácido acético); 4) determinar os mecanismo e substâncias envolvidas. Além disso, faz parte de um amplo projeto, vinculado ao Programa de mestrado em Ciências Farmacêuticas da Univali, que visa estudar plantas com potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos para o tratamento de úlceras gástricas.	
Introdução, Justificativa e Revisão	Situação
Título	Adequado
Autores	Adequado
Local de Realização da Pesquisa	Própria instituição
Outras instituições envolvidas	Não
Condições para realização	Adequadas
Experiência prévia com manuseio de animais	
Professor	Adequado
Alunos	Adequado
Justificativa do Projeto	Adequada
Revisão e referências Bibliográficas sobre o assunto	Adequada
Metodologia e Cronograma	Situação
Delineamento experimental	Adequado
Adequação do Modelo Experimental	Adequado
Tamanho total da Amostra	425 ratos

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](#)