



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

RENALY IVYNA DE ARAÚJO RÊGO

**POTENCIAL GASTROPROTETOR DO EXTRATO NEBULIZADO DAS FOLHAS
DE *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)**

**CAMPINA GRANDE
2017**

RENALY IVYNA DE ARAÚJO RÊGO

**POTENCIAL GASTROPROTETOR DO EXTRATO NEBULIZADO DAS FOLHAS
DE *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Vanda Lúcia dos Santos

CAMPINA GRANDE
2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R467p Rêgo, Renaly Ivyna de Araujo.
Potencial gastroprotetor do extrato nebulizado das folhas de *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) [manuscrito] : / Renaly Ivyna de Araujo Rego. - 2017.
45 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação : Profa. Dra. Vanda Lúcia dos Santos, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Gastroprotetor. 2. Extrato nebulizado. 3. *Spondias mombin*. 4. Plantas medicinais.

21. ed. CDD 615.321

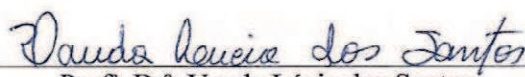
RENALY IVYNA DE ARAÚJO RÊGO

**POTENCIAL GASTROPROTETOR DO EXTRATO NEBULIZADO DAS FOLHAS
DE *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 28/11/2017.

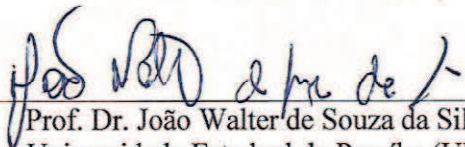
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Vanda Lúcia dos Santos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a Dr.^a Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. João Walter de Souza da Silveira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado forças, coragem, sabedoria e paciência, renovando minha fé todos os dias, fazendo com que eu superasse todas as dificuldades ao longo dessa caminhada, e principalmente por não desistir de mim, ainda que eu ache que eu não mereça tamanho amor.

Aos meus pais Rosemere e Ivan, por serem em vida os principais responsáveis pela realização desse sonho. Pela doçura e apoio da minha mãe em todos os momentos de lutas e de glórias nesses anos, por ser alguém que me espelho e tento ser melhor todos os dias. Pela dedicação e principalmente abdicação de tantas coisas do meu pai para comigo e meus irmãos, um verdadeiro herói em nossas vidas.

Aos meus irmãos Ricele, Ruan, Vinícius e Lucas, por mesmo distantes ou em silêncio se mostrarem presentes. Em especial a Moni (Ruan), por entre tapas e beijos ser alguém que posso contar.

Ao meu namorado Diego Vilarouca, por ter sido o maior incentivador do meu sucesso ao longo desses 10 anos juntos. Partilhando comigo inúmeras alegrias e também dificuldades, nunca desistindo de mim.

À minha orientadora Vanda Lúcia dos Santos, por seu exemplo de dedicação, competência e paciência, estando presente em todos os momentos durante a realização deste trabalho, me incentivando e acreditando no meu melhor. Muito obrigada!

Às minhas amigas da vida, Marcela, Morgana, Racklayne, Raíssa e Yvinna, por tantos momentos ímpares vividos ao longo dessa amizade. Vocês dão leveza a absolutamente tudo e são o verdadeiro sentido da palavra amizade pra mim!

Às minhas amigas da graduação, Alana, Joandra, Juliana e Larissa, por terem me proporcionado tantos sorrisos nesses anos de muita história pra contar. Vocês foram um dos melhores presentes, jamais esquecerei de vocês.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Ensaios Farmacológicos, em especial Raiff, Pablo, Elaine, Hilton, Ingrid e Crislândia, pela grandiosa ajuda em todos os experimentos, pela animação no laboratório e principalmente pela paciência. Vocês foram fundamentais para conclusão desta pesquisa.

Aos meus colegas de turma, por terem me acolhido e transformado essa caminhada muito mais divertida. Sei da capacidade de cada um e desejo muito sucesso a todos!

À instituição UEPB, por ter possibilitado minha formação, e aos professores que me inspiraram, contribuindo não só na minha formação acadêmica, como também pessoal. À vocês reservo meus sinceros agradecimentos por toda experiência partilhada.

Aos professores Geovani Pereira, Ivana Fachine e João da Silveira, por suas contribuições ricas em meu trabalho, disponibilidade, paciência e por terem aceitado fazer parte desse momento tão importante.

“Serão lembranças queridas do futuro e da memória, pra sempre será coragem, pra sempre será vitória!”

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”

Simone de Beauvoir

RESUMO

POTENCIAL GASTROPROTETOR DO EXTRATO NEBULIZADO DAS FOLHAS DE *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)

¹Renaly Ivyna de Araújo Rêgo; ²Vanda Lucia dos Santos

^{1,2} Universidade Estadual da Paraíba - UEPB.

¹renaly.ivyna@hotmail.com

A úlcera péptica é uma doença inflamatória crônica que constitui um verdadeiro problema de saúde pública, atingindo de 2 a 10 indivíduos a cada 100 mil. O tratamento convencional tem como finalidade reestabelecer o equilíbrio rompido da mucosa, limitando os efeitos nocivos da secreção de ácido clorídrico, porém, há uma elevada taxa de recidiva e o seu uso prolongado pode provocar muitos efeitos colaterais. Devido a isso, há o interesse na busca de novas alternativas terapêuticas e as plantas são os principais alvos de estudo. A *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), conhecida como cajazeira, tem suas folhas, flores e cascas usadas na medicina popular para o tratamento de doenças do sistema digestório. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial gastroprotetor e a toxicidade aguda do extrato nebulizado das folhas de *S. mombin*. Foram utilizados camundongos *Swuis* (*Mus musculus*) de ambos os sexos. O extrato nebulizado foi obtido das folhas da cajazeira, e as doses de 250 e 500 mg/kg (via oral) foram testadas frente aos modelos de indução aguda de úlcera por etanol ou anti-inflamatório não esteroide (AINE). Para avaliação da segurança foi realizado o teste de toxicidade aguda de dose única (2000 mg/kg). Os protocolos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/CESED – PB e aprovados sob parecer nº 6101032016. Os dados foram tratados utilizando-se a análise de variância (ANOVA) com $p < 0,05$. Os resultados atestaram atividade gastroprotetora significativa para as doses testadas. No modelo de etanol, houve inibição de 42 e 60% para as doses de 250 e 500 mg/Kg, respectivamente, quando comparado ao controle negativo (animais tratados com solução salina 0,9%). Quando a úlcera foi induzida por AINE, a dose de 250 mg/kg inibiu 74,7% das lesões ulcerativas. Estes dados corroboram os estudos a respeito dessa atividade com outras espécies do mesmo gênero. Em relação à segurança de uso, os resultados mostraram uma baixa toxicidade para o extrato, visto que não houve morte ou sinais de toxicidade nos animais testados. O consumo de água, ração ou ganho de massa corporal também não foram afetados em ambos os sexos quando comparados ao grupo controle. Portanto, estes resultados demonstraram que o extrato etanólico nebulizado das folhas de *S. mombin* apresenta-se como uma fonte promissora para a produção de um novo fitoterápico.

Palavras-chave: Atividade gastroprotetora. Extrato nebulizado. *Spondias mombin*.

ABSTRACT

POTENTIAL GASTROPROTECTOR OF THE NEBULIZED EXTRACT OF THE LEAVES OF *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae)

¹Renaly Ivyna de Araújo Rêgo; ²Vanda Lucia dos Santos

^{1,2} Universidade Estadual da Paraíba - UEPB.

¹renaly.ivyna@hotmail.com

Peptic ulcer is a chronic inflammatory disease that is a real public health problem, which reach from 2 to 10 individuals per 100 thousand. The conventional treatment aims to reestablish the ruptured mucosal balance, limiting the adverse effects of hydrochloric acid secretion, however, there is a high rate of relapse and its prolonged use can cause several side effects. Because of this, there is interest in the search for new therapeutic alternatives and plants are the main targets of study. *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae), known as cajazeira, has its leaves, flowers and barks used in popular medicine for the treatment of digestive system diseases. Thus, the objective of this study was to evaluate the gastroprotective potential and acute toxicity of nebulized extract of the *S. mombin*. Mice *Swiss* (*Mus musculus*) of both sexes were used. The nebulized extract was obtained from the leaves of the cajazeira, and doses of 250 and 500 mg/kg (oral vial) were tested against the models of acute ulcer induction by ethanol or nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). A single dose acute toxicity test (2000 mg/kg) was performed for safety assessment. The experimental protocols were submitted to the Animals Ethics Committee (AEC / CESED - PB) and approved under document no. 6101032016. The data were treated using ANOVA ($p < 0.05$). The results showed significant gastroprotective activity at the doses tested. In the ethanol model, inhibition of 42 and 60% was observed for doses of 250 and 500 mg/kg, respectively, when compared to the negative control (animals treated with 0.9% saline solution). When the ulcer was induced by NSAIDs, the dose of 250 mg / kg inhibited 74.7% of the ulcerative lesions. These data corroborate the studies about this activity with other species of the same genus. Regarding safety of use, the results showed low toxicity to the extract, since there was no death or signs of toxicity in the tested animals. The consumption of water, ration or gain of body mass was also not affected in both sexes when compared to the control group. Therefore, these results demonstrated that the ethanolic nebulized extract of the leaves of *S. mombin* presents itself as a promising source for the production of a new phytotherapeutic.

Keywords: Gastroprotector activity. Nebulized extract. *Spondias mombin*.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- AINE** Anti-inflamatório Não-Esteroidal
- AINEs** Anti-inflamatórios Não-Esteroidais
- ANOVA** Análise de Variância
- ATP** Trifosfato de Adenosina
- CESED** Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento
- CEUA** Comissão de Ética no Uso de Animais
- COX** Ciclo-oxigenase
- COX-1** Ciclo-oxigenase-1
- COX-2** Ciclo-oxigenase-2
- CO₂** Dióxido de carbono
- CLAE** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- d.p** Desvio padrão
- DL₅₀** Dose letal em 50%
- DNA** Ácido desoxirribonucleico
- EA** Etanol absoluto
- eNOS** Óxido Nítrico Sintetase Endotelial
- ENS_m** Extrato nebulizado de *Spondias mombin*
- EP₃** Receptor de prostaglandina E₃
- EROS** Espécies Reativas de Oxigênio
- GHS** Globally Harmonised System
- H⁺** Próton
- H⁺, K⁺, ATPase** Bomba de prótons
- H₂** Receptores do tipo 2 de histamina
- HCl** Ácido Clorídrico
- IFAOV** Insumos Farmacêuticos Ativos de Origem Vegetal
- ILU** Índice de Lesão Ulcerativo
- iNO** Óxido nítrico induzido
- iNOS** Óxido Nítrico Sintetase Induzido
- K⁺** Íon potássio
- LABDEM** Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos
- LT** Leucotrienos
- LTC₄** Leucotrienos C₄

NH₃ Amônia

nNOS Óxido Nítrico Sintetase Neural

NO Óxido Nítrico

NOS Óxido Nítrico sintetase

PB Paraíba

PG Prostaglandina

PGE₂ Prostaglandina E₂

SUS Sistema Único de Saúde

TNF- α Fator de Necrose Tumoral α

UEPB Universidade Estadual da Paraíba

v.o Via oral

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Úlcera gástrica	17
Figura 2	– Esquema representativo dos efeitos do consumo agudo e crônico de etanol no estômago	19
Figura 3	– Úlcera gástrica por <i>Helicobacter pylori</i>	19
Figura 4	– <i>Spondias mombin</i> – Árvore	24
Figura 5	– <i>Spondias mombin</i> - Caule, folhas e fruto	25
Figura 6	– Efeito do ENSm no modelo de úlcera induzida por etanol	33
Figura 7	– Efeito do ENSm no modelo de úlcera induzida por AINEs	34

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 –	30
Equação 2 –	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Úlcera péptica	15
2.1.1 Fatores agressores da mucosa gástrica	16
2.1.2 Fatores protetores da mucosa gástrica	18
2.2 Tratamento convencional da úlcera péptica	19
2.3 Uso de plantas medicinais	20
2.4 Família Anacardiacea	21
2.5 <i>Spondias mombin</i> L.	22
3. OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo geral	25
3.2 Objetivo específico	25
4. METODOLOGIA	26
4.1 Local da pesquisa	26
4.2 Material Botânico	26
4.3 Obtenção do extrato nebulizado de <i>S. mombim</i> (ENSm)	26
4.4 Triagem fitoquímica quantitativa	26
4.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais	26
4.4.2 Determinação do teor de flavonoides	27
4.5 Dados Éticos	27
4.6 Animais Experimentais	27
4.7 Avaliação da atividade gastroprotetora do ENSm	27
4.7.1 Lesões gástricas induzidas por etanol	28
4.7.2 Lesões gástricas induzidas por AINE (Piroxicam)	28
4.8 Estudo de toxicidade aguda	28
4.9 Análise estatística	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Triagem fitoquímica quantitativa	29
5.2 Avaliação da atividade gastroprotetora	29
5.2.1 Úlcera induzida por etanol	30
5.2.2 Úlcera induzida por AINE (Piroxicam)	31

5.3 Toxicidade aguda.....	32
6. CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXO	45

1. INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais como fonte alternativa ou complementar aos medicamentos alopáticos no tratamento das doenças é uma prática milenar. Em países desenvolvidos, cerca de 80% da população utiliza esses recursos e aproximadamente 30% das drogas são derivadas de produtos naturais. Já nos países em desenvolvimento, cerca de 70 a 90% da população utiliza quase que exclusivamente as plantas em suas terapias, devido ao acesso limitado aos medicamentos (CARVALHO et al., 2008; VEIGA-JUNIOR, MELO, 2008; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

De maneira semelhante, no Brasil, cerca de 82% da população faz uso de plantas medicinais. Um uso transmitido de geração a geração, seja pelo conhecimento tradicional, seja pelo uso na medicina popular, de transmissão oral ou nos sistemas oficiais de saúde, como prática de cunho científico, orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS). É, portanto, uma prática que incentiva o desenvolvimento comunitário, a solidariedade e a participação social (GADELHA et al., 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Um grande número de pessoas estão preocupadas com a saúde e a qualidade de vida e desta maneira vem buscando nas plantas uma forma alternativa de cura para suas doenças através do uso de espécies com propriedades medicinais, ressalta Guerra et al. (2010).

As plantas medicinais têm sido uma rica fonte de princípios ativos, que produzem uma variedade de compostos denominados metabólitos secundários, responsáveis por atividades biológicas clinicamente importantes (YAM et al., 2008). O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta, porém apesar, do crescente número de pesquisas de plantas com finalidade terapêutica, estudos nessa área revelam que apenas 15 a 17% delas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (ALLEMAND, 2009). A partir do ano de 2006, com a criação da política de inclusão da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), o governo brasileiro começou a ressaltar a utilização de plantas como uma alternativa aos tratamentos disponíveis, dando mais visibilidade à investigação de plantas com uso medicinal, sendo crucial que os profissionais da área de saúde conheçam suas atividades farmacológicas e toxicológicas (BUFAINO, 2013).

Dentre as plantas mais estudadas, destaca-se a família Anacardiaceae que reúne cerca de setenta gêneros, com aproximadamente 875 espécies, distribuídas em regiões tropicais, subtropicais e poucas em regiões de clima temperado. Esta família é bem conhecida pela presença de fenóis e ácidos fenólicos (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

A *Spondias mombin* L. (cajazeira) é uma espécie frutífera identificada como procedente da América do Sul e Antilhas, encontrando-se dispersa desde o sul do México até o Brasil, onde é encontrada principalmente nos Estados do Norte e Nordeste. Seus frutos recebem diferentes denominações, sendo conhecidos como: cajá, cajá verdadeiro, cajá-mirim ou taperebá. Estes são utilizados no preparo de polpas, sucos, picolé, sorvetes, néctares e geleias. A madeira é bastante utilizada em serviços de marcenaria e partes da planta, casca e folha, são bastante utilizadas com finalidades medicinais (SACRAMENTO, 2000). Os chás de flores e folhas são usados popularmente como analgésico e anti-inflamatório, enquanto as folhas e casca do caule são utilizadas para tratamento de desordens infecciosas, principalmente diarreias e disenterias. Estudos comprovaram seu potencial antibacteriano e antifúngico corroborando seu uso popular (MADUKA et al., 2014; ABO, et al., 1999; CORTHOUT et al., 1994).

Sendo assim, o objetivo principal desta pesquisa foi avaliar a potencial atividade gastroprotetora do extrato etanólico nebulizado das folhas de *Spondias mombin* L., a fim de contribuir de uma melhor forma no tratamento de úlceras gástricas.

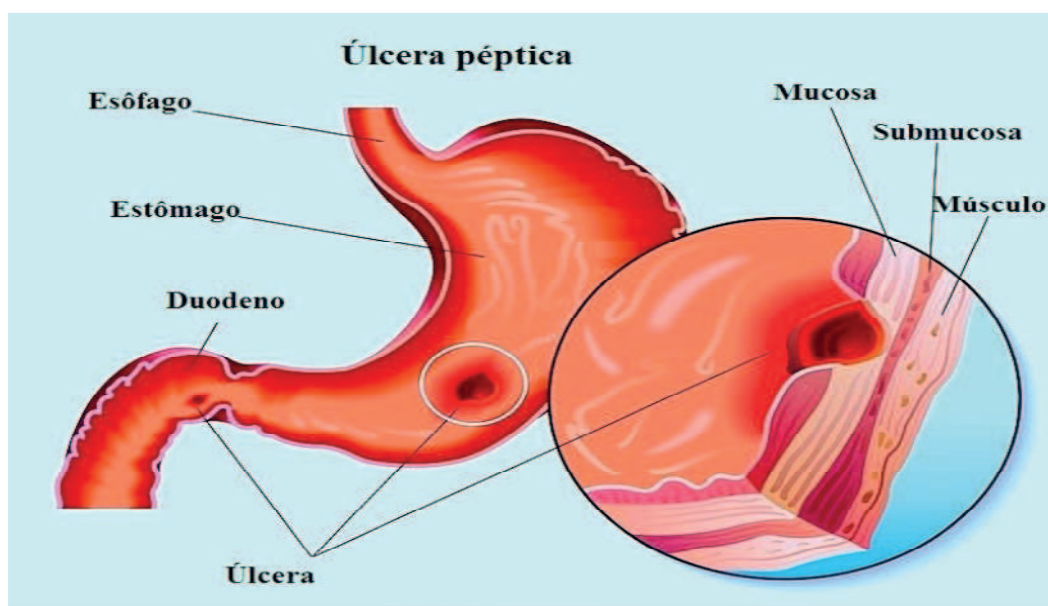
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Úlcera péptica

A úlcera péptica é uma condição inflamatória ou necrotizante que pode atingir as mucosas do esôfago, estômago e duodeno e é causada por um desequilíbrio entre fatores defensivos e agressivos na mucosa (CALDAS et al., 2014; ALMEIDA et al., 2017). Constitui um dos problemas clínicos mais comuns entre as doenças gastrointestinais, atingindo 2 a 10/100.000 indivíduos, sendo considerado um problema de saúde pública. Essa patologia era pouco descrita até o século XIX, entretanto, devido a mudanças socioambientais (tabagismo, alcoolismo, medicamentos não esteroidais e infecções por *Helicobacter pylori*) o número de casos tornou-se cada vez mais expressivo (NARIYA et al., 2011; OLOYEDE et al., 2015; CARRETERO, 2016).

Normalmente existe um equilíbrio entre muitos fatores no estômago, como os agentes defensivos (barreira de bicarbonato de muco, células epiteliais de superfície, regeneração da mucosa, circulação sanguínea, balanço ácido-base, grupo sulfidrilo endógeno e fator de crescimento epidérmico) e os prejudiciais (ácido clorídrico e pepsina). O desequilíbrio em qualquer desses fatores pode resultar no aumento dos agentes agressores, podendo desencadear o processo ulcerativo (Figura 1) (TAMASHIRO FILHO et al., 2012; TARNAWSKI, AHLUWALIA, JONES, 2014).

Figura 1: Úlcera gástrica



Fonte: <http://fisiologiafantastica.blogspot.com.br/2016/05/ulcera-peptica.html>

2.1.1 Fatores agressores da mucosa gástrica

A mucosa gástrica pode sofrer danos relacionados a diversos fatores, como o aumento na secreção de ácido clorídrico e pepsina, predisposição genética, esvaziamento gástrico acelerado, mucosa defeituosa e estresse psicológico ou físico (TAMASHIRO FILHO et al., 2012).

A etiologia das úlceras varia desde a infecção por *H. pylori* até o desequilíbrio entre secreções de pepsina, ácido clorídrico, refluxo da bile, formação de radicais livres, estresse, alimentos picantes, características do estilo de vida, álcool, 5-hidroxi-triptamina, prostaglandinas, fosfolípidos, fluxo sanguíneo mucoso, renovação e migração celular, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, e alguns fatores de crescimento (KHUSHTAR et al., 2009; SRIVASTAVA et al., 2010).

Os fármacos que mais contribuem no aumento da patogênese das úlceras são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). O consumo exacerbado de AINEs está relacionado ao aumento da lesão na mucosa, erosões, hemorragias duodenais e gástricas. Esses efeitos são principalmente decorrentes da inibição da ciclooxigenase-1, do tromboxano-A₂ e da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (DHIYAALDEEN, 2014). Os leucotrienos (LT) B₄ contribuem para a lesão da mucosa por AINEs, incentivando infiltração intensa de neutrófilos e aderência de leucócitos, estimulando a geração de EROs por neutrófilos, o que inicia a peroxidação lipídica e a formação de outros mediadores inflamatórios. Isso é atribuído à redução de bicarbonato e secreção de muco e fluxo sanguíneo, maior difusão de ácido, e inibição de reparação (RIBEIRO et al., 2016).

O uso excessivo de álcool também é um dos fatores que pode ocasionar lesão à mucosa gástrica (Figura 2). Isto ocorre porque o etanol danifica as células do endotélio vascular da mucosa gástrica, distorce a microcirculação e induz hipóxia devido ao aumento da produção de EROs e citocinas inflamatórias, aumentando assim o fluxo de Na⁺ e H⁺ no lúmen, além de estimular a secreção de histamina e pepsina. Portanto, os fármacos que têm capacidade de oferecer proteção à mucosa gástrica devem ter a capacidade de reduzir o estresse oxidativo e inflamatório (SHEN et al., 2017; TAKAYAMA, et al., 2011).

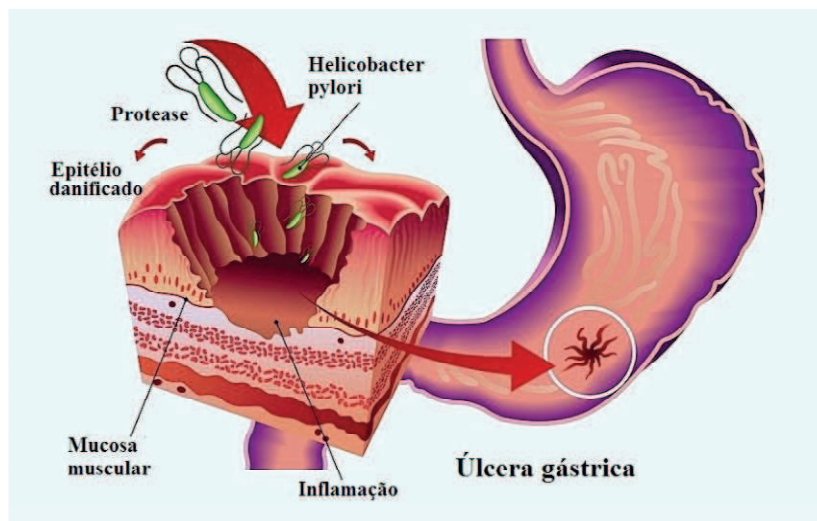
Figura 2: Efeitos do consumo agudo e crônico de etanol no estômago



Fonte: Adaptado de Siegmund; Teysen; Singer (2002).

Outro fator que ocasiona a úlcera gástrica e considerado o responsável pelo maior número de casos é a infecção persistente do estômago pela bactéria *Helicobacter pylori*. Esta bactéria é uma haste flagelada gram-negativa que possui a enzima urease, que por sua vez converte a ureia em amônia (NH_3) e dióxido de carbono (CO_2), que cria uma nuvem alcalina ao redor da bactéria, permitindo assim que o organismo sobreviva no baixo pH do estômago. A colonização leva à inflamação da mucosa gástrica e lesões (Figura 3). Sua erradicação restaura a população de células D com a diminuição resultante da secreção de ácido gástrico (RAMSAY; CARR, 2011).

Figura 3: Úlcera gástrica por *Helicobacter pylori*



Fonte: <http://www.fisioterapiaparatodos.com/p/doenca-estomago/ulcera-gastrica-duodenal/>

As lesões ulcerativas comprometem a integridade do revestimento do estômago ou do duodeno, podendo atingir desde as camadas superficiais até as mais profundas camadas da parede muscular. A sintomatologia compreende dor epigástrica; queimação ou dor contínua, que tende a piorar à noite e durante o dia ocorre mais ou menos três horas após as refeições; sangramento; obstrução e perfuração, podendo até mesmo evoluir para o estado de morte do indivíduo. Outras manifestações são náuseas, vômitos, inchaço, eructação e perda significativa de peso (BANSAL et al., 2009; DANTAS, 2012).

2.1.2 Fatores protetores da mucosa gástrica

Os fatores protetores endógenos são responsáveis por manter a integridade da mucosa, evitando o desgaste por ação da secreção ácida. Os principais fatores envolvidos são: a barreira muco-bicarbonato; o óxido nítrico (NO); o sistema antioxidante; os canais de potássio; e as prostaglandinas (FEITOSA, 2011; RANG et al., 2012).

A barreira muco-bicarbonato constitui a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, sendo formada por um gel de muco, bicarbonato e fosfolípidos surfactante que recobrem a superfície da mucosa, permitindo que o ambiente permaneça neutro (pH:7) (FEITOSA, 2011). A presença de muco e dos fosfolípidos de membrana formam uma barreira física hidrofóbica que impede a difusão dos íons H^+ , e juntamente com os íons bicarbonato secretados pelo epitélio, atuam na contenção da pepsina e do pH ácido da secreção gástrica, proporcionando um microambiente próximo da neutralidade. Esta barreira impede, ainda, a capacidade de penetração das bactérias no epitélio (LAINE, TAKEUCHI, TARNAWSKI, 2008; WALLACE, 2008).

O NO é um radical livre gasoso que participa da sinalização de inúmeros processos fisiológicos e tem um importante papel na modulação da defesa da mucosa gástrica, como regulador na secreção de muco, vasodilatador produzindo aumento de fluxo sanguíneo local, inibidor da migração de neutrófilo e auxiliar no processo de cicatrização da úlcera gástrica (WALLACE, 2008; MUSUMBA, PRITCHARD, PIRMOHAMED, 2009). O NO é sintetizado pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS) que se apresenta em pelo menos três isoformas: NOS endotelial (eNOS), NOS neural (nNOS) e NOS induzível (iNOS). O NO oriundo da iNOS está presente em inflamações e da eNOS acelera a reparação da úlcera e mantém a integridade do epitélio gástrico, regula a secreção de ácido e inibe a agregação de neutrófilos e leucócitos ao endotélio vascular (RIBEIRO et al., 2016).

O sistema antioxidante compreende a proteção enzimática ou por micromoléculas, que podem ser endógena ou adquiridas através de dieta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Essa proteção impede os danos causados pelas espécies reativas, dentre elas as EROs, também denominadas radicais livres. As EROs são conhecidas por danificar vários componentes celulares como os lipídeos de membrana, proteínas e DNA, e contribui para disfunção celular. Também desempenham papel importante nas lesões causadas por etanol, estresse e AINEs (LIRA, 2010).

Os canais de potássios sensíveis a ATP (K^+_{ATP}) participam de diversos processos fisiológicos, como na citoproteção da isquemia cardíaca e cerebral, reatividade vascular e a manutenção do tônus do músculo liso como o do estômago onde regula o fluxo sanguíneo, secreção de ácido gástrico e contratilidade da musculatura gástrica. (PESKAR et al., 2002). A ativação desses canais tem participação contra diferentes agressores e sua ativação é capaz de reduzir a infiltração neutrófila induzida por indometacina, enquanto o bloqueio destes canais por glibenclamida (inibidor específico) anula a proteção ocasionada pelos mesmos (RAHGOZAR et al., 2001; MEDEIROS et al., 2008).

As prostaglandinas (PGs) são mediadores lipídicos sintetizados a partir do ácido araquidônico pela ação das enzimas cicloxigenases (COX). Desempenham um papel importante na citoproteção, principalmente a PGE_2 , via receptores de prostaglandina E_3 (EP_3) nas células parietais ao aumentar produção de muco, diminuir a secreção ácida, a produção de pepsina e causar dilatação no músculo liso vascular, provavelmente por promover ativação de canais K^+_{ATP} através da proteína quinase A (RANG et al., 2012; SCHUBERT, 2010). A COX existe em três isoformas: a COX-1, a COX-2 e a COX-3; essas enzimas convertem o ácido araquidônico em PGs. A COX-1 é constitutiva, sendo responsável pela geração de PGs envolvidas na proteção da mucosa gástrica e a COX-2 é responsável pela produção elevada de PGs que ocorre durante o processo inflamatório (SULEYMAN et al., 2010).

2.2 Tratamento convencional da úlcera péptica

O tratamento convencional de doenças ulcerativas tem como objetivo reestabelecer o equilíbrio rompido da mucosa gastroduodenal (VERAS, 2007). Isso pode ser feito com a mudança nos hábitos de vida associadas ao uso de medicamentos. Os fármacos consagrados para o tratamento de distúrbios ácido-pépticos tentam promover a cicatrização da lesão. Estes fármacos podem ser divididos em duas classes: (i) os que reduzem a acidez gástrica, a exemplo dos antiácidos; os antagonistas dos receptores H_2 ; e os inibidores da bomba de prótons; (ii) aqueles que promovem a defesa da mucosa como o sucralfato; os análogos das

prostaglandinas; e os compostos de bismuto (KATZUNG et al., 2014). Entretanto, a maioria deles criam inúmeras reações adversas juntamente com a toxicidade, podendo chegar a mudar os mecanismos bioquímicos do corpo após seu uso crônico (DASHPUTRE; NAIKWADE, 2011).

Um dos primeiros fármacos utilizados no tratamento da úlcera foi os antagonistas dos receptores de H_2 de Histamina (cimetidina e ranitidina), que vieram para substituir as cirurgias e os fármacos que visavam apenas neutralizar o conteúdo gástrico de ácido clorídrico (os antiácidos), causando um grande impacto na época e revolucionando a história da doença (BLACK et al., 1972; YUAN, PADOL, HUNT, 2006).

Os inibidores da bomba de prótons merecem maior destaque, pois desde sua introdução na década de 1980, assumiram o principal papel no tratamento de distúrbios ácido-pépticos e hoje estão entre os medicamentos mais prescritos no mundo inteiro. Estes fármacos agem bloqueando diretamente a bomba de prótons (H^+ , K^+ ATPase). Contudo, seu uso prolongado pode trazer graves problemas para o paciente. Os principais efeitos colaterais são a redução na absorção de vitamina B12; redução na absorção de cálcio, ferro e magnésio; risco aumentado de infecções do estômago e intestino (KATZUNG et al., 2014). Podendo também aumentar a incidência de hiperplasia das células parietais, protrusão em células do lúmen e formações císticas (MENEGASSI et al., 2010).

Portando, devido a tantos efeitos adversos causados pela terapia convencional, surge o interesse na busca de novos fármacos como alternativa mais segura (PANNEERSELVAM; ARUMUGAM, 2011). Assim, as terapias com drogas derivadas de origem vegetal têm sido consideradas como agentes seguros e potenciais contra a doença devido à sua disponibilidade, melhor proteção, menor custo e menor toxicidade (DHIYAALDEEN et al.; SHOAIB et al., 2014).

2.3 Uso de plantas medicinais

As plantas e fitoterápicos, no Brasil, são responsáveis por um crescimento anual de 10 a 15% nas vendas e o Ministério da Saúde, através do Sistema Único de Saúde, disponibiliza plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos como opções terapêuticas há mais de vinte anos, além de desenvolver políticas de incentivo para a implementação do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2010). Apesar do crescente aumento de pesquisas com produtos naturais, estudos nessa área revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal. Entretanto, o conhecimento tradicional sobre as mesmas já se tornou parte integrante da prática médica popular, sendo utilizadas por

até 90% da população economicamente carente como alternativa terapêutica (ALLEMAND, 2009).

Entre 2001 e 2002 aproximadamente 1/4 dos fármacos mais vendidos no mundo eram obtidos diretamente ou derivados de fontes naturais. Estima-se que 30% das novas substâncias químicas descobertas entre 1981 e 2002 são produtos naturais ou derivados desses. Outros 20% dessas novas moléculas são produtos sintetizados baseados nas estruturas encontradas na natureza (BALUNAS; KINGHORN, 2005). A fitoterapia sofre forte influência histórica e cultural e seu uso é uma prática comum nos países desenvolvidos, a exemplo da Alemanha, onde 60% dos medicamentos prescritos são fitoterápicos (ABURJAI et al., 2007; BRASIL, 2010; MUKHERJEE et al., 2010).

Dentre os diversos metabólitos encontrados nas plantas, os flavonoides, taninos e terpenoides têm apresentado atividade antiulcerogênica bastante significativa, demonstrando o grande potencial das plantas medicinais como fontes alternativas para o tratamento de úlceras gástricas (DONATINI et al., 2009). Esses metabólitos, segundo a literatura de Lima et al. (2006) e Falodun et al. (2006), também podem apresentar atividade anti-inflamatória, uma vantagem em relação aos anti-inflamatórios tradicionais que, em sua maioria, são ulcerogênicos.

2.4 Família Anacardiaceae

A família Anacardiaceae compreende de 60-75 gêneros e cerca de 600 espécies, distribuídas em zonas tropicais, subtropicais e temperadas. Esta família é conhecida por suas espécies frutíferas, que são, geralmente, árvores ou arbustos que possuem um cheiro característico e madeira de boa qualidade, e também pela sua importância econômica e propriedades farmacêuticas (SILVA et al., 2014). Seus frutos são consumidos na forma *in natura* ou processados como polpas, sucos, geleias, néctares e sorvetes, de excelente qualidade e alto valor comercial, o que torna viável a exploração (SOUZA; LIMA, 2005). Do ponto de vista químico, os gêneros mais estudados são *Magnifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea* (CORREIA; DAVID; DAVID, 2006). Possuem uma ampla gama de atividades farmacológicas, como anti-inflamatório, antinefrítico, hepatoprotetor, antimicrobiano, antioxidante, hipoglicêmico e propriedades preventivas do câncer (MUHAISEN et al., 2016).

Muitas das espécies do gênero *Spondias*, descrito por Carl Linnaeus, são usadas na medicina popular em diversas regiões do país (DI STASI, HIRUMA-LIMA, 2002; WIART, 2006) e na indústria, devido sua alta versatilidade e possibilidade de desenvolver novos

análogos sintéticos. Do ponto de vista fitoquímico, o gênero é rico em metabólitos secundários, em especial, compostos fenólicos, responsáveis por importantes atividades biológicas (ENGELS et al., 2012).

Dentro do gênero *Spondias*, as espécies de maior destaque são: *Spondias mombin* L. (cajazeira), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Spondias duellis* Parkinson (cajaraneira), *Spondias purpurea* L. (serigueleira), *Spondias* sp. (umbu-cajazeira) (SOUZA; LIMA, 2005).

2.5 *Spondias mombin* L.

Spondias mombin L. (Anacardiaceae), conhecida popularmente por cajazeira, taperebá, cajazeiro, cajá, cajá-mirim, cajazeiro-miúdo, acajá, acajaíba, imbuzeiro e cajá azedo, é uma árvore frutífera, nativa da Nigéria, Brasil e várias outras florestas tropicais do mundo. Sua altura varia entre 15 e 22 metros (Figura 4). Seu tronco apresenta uma casca grossa e com incisões profundas, as folhas são compostas, pinadas, alternas, que caem, em sua maioria na época de floração (Figura 5). No Brasil é encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste (CORTHOUT et al., 1988; SOARES, 2005).

Figura 4: *Spondias mombin* - Árvore



Fonte: <https://minhasfrutas.blogspot.com.br/2017/04/cultivo-do-caja-ou-tapereba-spondias.html>

Figura 5: *Spondias mombin* - Caule, folhas e fruto



Fonte: <http://www.rain-tree.com/Plant-Images/ubos-pic.htm#.WchCALKGMdW>

Na medicina popular, a decocção de suas folhas trituradas com limão é utilizada para tratamento de verminoses em crianças e acredita-se que expulsa as calcificações da bexiga (CORTHOUT et al., 1988). O chá feito a partir das flores e folhas é usado para aliviar dores no estômago, uretrite, cistite, dores nas costas, reumatismo, angina, congestão e inflamações da garganta e no olho. As folhas e casca do caule são utilizadas para tratamento de diversas desordens infecciosas, principalmente diarreias e disenterias (MADUKA et al., 2014).

Há relatos na literatura sobre o potencial antibacteriano, antifúngico, antimicrobiano, antiviral, sedativo e anticonvulsivante dessa espécie vegetal (AYOKA et al., 2006; MADUKA et al., 2014). Especificamente para o fruto de *Spondias mombin*, o suco é citado por alguns autores como febrífugo e diurético, porém, é mais comum sua utilização como alimento (AYOKA et al., 2008)

Estudos fitoquímicos realizados a partir de extratos hidroetanólico da planta foram identificados flavonoides do tipo quercetina, canferol e isoquercetina no extrato das folhas, além da presença do flavonoide rutina no extrato hidroetanólico dos frutos (CABRAL, 2014).

Nworu et al. (2011) em estudo das folhas de *S. mombin in vivo* através do ensaio de edema de pata evidenciaram sua atividade antiedematogênica, que pode se dar através de uma supressão da produção de mediadores pró-inflamatórios e citocinas como fator de necrose tumoral α e óxido nítrico induzido (TNF- α e iNO). Comprovou-se também atividade antioxidante dos extratos aquoso, metanólico, hidrometanólico e metanol e acetona (SABIU et al., 2015; AKINMOLADUN, OBUOTOR, FAROMBI, 2010; SILVA et al., 2012; TIBURSKI et al., 2011).

Diante do uso na medicina popular, estudos farmacológicos com diversas atividades e potencial fitoquímico da espécie do gênero *Spondias*, surge o interesse em investigar a atividade gastroprotetora através do extrato etanólico nebulizado de suas folhas como uma possível alternativa para um fitoterápico com qualidade para essa finalidade, visando sua eficácia, segurança e evitando uma série de efeitos adversos muitas vezes causados na terapia convencional.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial gastroprotetor e a segurança do extrato nebulizado de *Spondias mombin*, visando uma via alternativa para o tratamento de úlceras gástricas.

3.2 Objetivo específico

- Obter o extrato nebulizado das folhas de *Spondias mombin*;
- Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato nebulizado de *Spondias mombin* sob lesões gástricas induzidas por etanol e AINEs;
- Realizar o estudo de toxicidade aguda do extrato nebulizado de *Spondias mombin*.

4. METODOLOGIA

4.1 Local da pesquisa

A preparação do extrato foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (LABDEM), sob a responsabilidade da Prof^ª. Dr^ª. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, e os estudos de Toxicidade e investigação da atividade gastroprotetora foram realizados no Laboratório de Ensaio Farmacológicos, sob a responsabilidade da Prof^ª Dr^ª. Vanda Lúcia dos Santos, ambos localizados na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

4.2 Material Botânico

Foram utilizadas as folhas da espécie *Spondias mombin*, coletadas no município de Pombal – PB. A exsicata foi preparada e identificada no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes, da Universidade Federal da Paraíba, sob o número EAN-100493.

4.3 Obtenção do extrato nebulizado de *S. mombin* (ENS_m)

O material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar à 40 ± 1 °C e moído em moinho de facas com um tamanho de partículas de 10 mesh.

O extrato hidroalcoólico foi obtido por maceração da droga vegetal, utilizando como solvente água: etanol (30:70, v/v), por 3 dias. Em seguida o extrato foi submetido à secagem por aspersão em *spray dryer* da marca LabPlant[®] com temperatura de entrada de 140 °C e fluxo de 3 mL/minuto, obtendo assim o ENS_m. O adjuvante de secagem foi o dióxido de silício coloidal (Aerosil 200[®]) em 20% em relação ao resíduo seco.

4.4 Triagem fitoquímica quantitativa

4.4.1 Determinação do teor de polifenóis totais

Para a determinação do teor de polifenóis totais, utilizou-se o método descrito por Chandra e Mejía (2004). Dessa forma, adicionou-se 1mL da solução aquosa do extrato a 1mL do reagente de Folin-Ciocalteu 1N, e esta mistura permaneceu em repouso por 2 minutos. Em seguida, adicionou-se 2mL de uma solução aquosa de Na₂CO₃ a 20% (p/v), e a mistura permaneceu em repouso por mais 10 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância a 757 nm em espectrofotômetro, contra um branco composto por água destilada, reagente de Folin-Ciocalteu e solução a 20% de Na₂CO₃.

4.4.2 Determinação do teor de flavonoides

A determinação do conteúdo de flavonoides totais seguiu o método de Meda et al. (2005). A 5 mL de cada solução (em metanol) do extrato foi adicionado o mesmo volume de uma solução (em metanol) de $AlCl_3$ a 2% (p/v). A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos antes da leitura da absorbância a 415 nm, contra um branco composto pela solução de $AlCl_3$.

4.5 Dados Éticos

Os protocolos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/CESED – PB e aprovados sob parecer nº 6101032016.

4.6 Animais Experimentais

Foram utilizados camundongos *Swiss (Mus musculus)* adultos, machos e fêmeas, oriundos do Laboratório de Ensaio Farmacológicos da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), mantidos em temperatura $23 \pm 2^\circ C$ e ciclos claro-escuro controlado de 12 horas. Os animais foram alimentados com ração Purina® tipo pellets e água *ad libitum*.

Para os ensaios pré-clínicos foram utilizados grupos de seis animais, quem foram mantidos em jejum nas 12 horas anteriores aos experimentos. Os tratamentos foram administrados oralmente (por gavagem).

A eutanásia dos animais foi realizada de acordo com a Resolução nº 1.000/2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, precedida por anestesia geral prévia com cloridrato de quetamina 5% (150 mg/kg) e cloridrato de xilazina 2% (20 mg/kg), via intraperitoneal. Após a observação da ausência do reflexo corneal, o processo foi finalizado com deslocamento cervical.

4.7 Avaliação da atividade gastroprotetora do ENSm

Para a avaliação da atividade gastroprotetora foram utilizados os modelos de indução de úlcera aguda por etanol e AINEs. As lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI; THIEMER, 1978), de acordo com a equação 1:

$$ILU = \Sigma (\text{lesões nível } 1 \times 1) + (\text{lesões nível } 2 \times 2) + (\text{lesões nível } 3 \times 3)$$

4.7.1 Lesões gástricas induzidas por etanol

Os animais foram divididos em 4 grupos de 6 animais e tratados oralmente com salina (0,1 mL/100 g), lansoprazol (30 mg/kg) e o ENSm (250 ou 500 mg/kg v.o). Sessenta minutos após os tratamentos foi administrado etanol absoluto (0,2 mL/animal v.o) (ROBERT et al., 1979). Uma hora após a administração do agente necrotizante, os animais foram eutanasiados e os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura, para determinação do ILU conforme descrito anteriormente.

4.7.2 Lesões gástricas induzidas por AINE (Piroxicam)

Os animais foram divididos em 3 grupos de 5 animais e tratados oralmente com salina (0,1 mL/100 g), cimetidina (100 mg/kg) e o ENSm (250 mg/kg v.o). Após trinta minutos, as lesões gástricas foram induzidas com injeção subcutânea de piroxicam (30 mg/kg) (PUSCAS et al., 1997). Quatro horas após a administração do AINE, os animais foram eutanasiados os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do ILU, conforme descrito anteriormente.

4.8 Estudo de toxicidade aguda

Um grupo de camundongos machos (n=5) e outro de fêmeas (n=5) permaneceram em jejum de ração por 12h e em seguida receberam por via oral o extrato (2g/kg). Após a administração, os animais foram observados individualmente durante os primeiros 30 minutos e a cada hora durante as primeiras 6h verificando alterações gerais de comportamento, tais como a hiperatividade, irritabilidade, cianose, tônus muscular, força para agarrar e sinais clínicos de toxicidade e morte (ALMEIDA et al., 1999), e diariamente por um período de 14 dias quanto ao consumo de ração e água (MALONE, 1977).

4.9 Análise estatística

Os dados foram tratados utilizando-se a análise de variância (ANOVA), seguido do pós-teste Dunnett. Todos os resultados foram expressos como média±desvio padrão (d.p.) e o nível de significância mínimo foi de $p < 0,05$. Os resultados foram analisados com o software, GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA).

O percentual de inibição foi calculado usando a equação 2:

$$\text{Inibição} = [(A - B) / A] \times 100\%$$

onde A representa a média do grupo controle negativo e B, o controle positivo ou testes

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Triagem fitoquímica quantitativa

O extrato nebulizado foi submetido a um *screening* fitoquímico a fim de identificar a presença dos seus principais constituintes, sendo encontrados flavonoides e polifenóis, cujos teores foram de 0,65 e 25,50 %, respectivamente. Os estudos de Ewald et al. (2015) e Alimi et al. (2011) apontaram esses marcadores como responsáveis por ação gastroprotetora em outras espécies.

Nossos resultados corroboram os encontrados na literatura a respeito dos compostos fitoquímicos encontrados, uso na medicina popular e estudos com outras espécies do mesmo gênero, a exemplo da *S. purpurea* e *S. pinnata* (ALMEIDA, 2013; SATPATHY et al., 2011).

Os compostos fenólicos são importantes constituintes presentes em plantas com atividade gastroprotetora, pois conferem propriedades anti-oxidantes com capacidade de reduzir a peroxidação lipídica, prevenindo e/ou atrasando a necrose celular além de melhorar a vascularização da região afetada (SAKUNPAK; PANICHAYUPAKARANANT, 2012)

Os marcadores químicos ou compostos majoritários são utilizados no controle de qualidade de medicamentos fitoterápicos a fim de avaliar a qualidade e autenticidade, tanto na identificação quanto na quantificação da droga vegetal. Os marcadores bioativos são constituintes que contribuem para as atividades terapêuticas de plantas, sendo responsáveis pelos efeitos farmacológicos ou tóxicos em humanos e animais (GAD et al., 2013).

Araruna (2016) identificou a presença do ácido gálico no ENSm através do CLAE. Alguns polifenóis, como o ácido gálico, são antioxidantes, e por sua vez, possuem a capacidade de sequestrar espécies reativas de oxigênio que causam danos oxidativos através da peroxidação lipídica. Os antioxidantes fortalecem fatores defensivos e contribuem para a gastroproteção, pois a peroxidação da membrana celular está diretamente relacionada com a formação de úlceras gástricas (LUIZ-FERREIRA et al., 2010).

5.2 Avaliação da atividade gastroprotetora

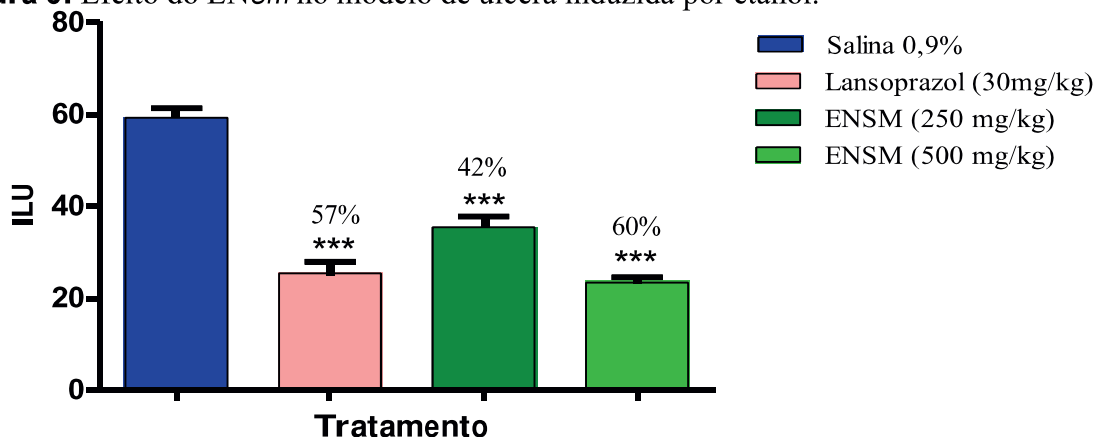
Para a validação da atividade gastroprotetora de um produto vegetal ou de um fármaco, podem ser feitos diversos modelos experimentais de indução à úlcera gástrica causada por agentes nocivos à mucosa, onde os pesquisadores simulam condições às quais os seres humanos podem estar expostos e virem a desenvolver a lesão.

5.2.1 Úlcera induzida por etanol

Neste modelo o etanol promove lesões na mucosa gástrica devido à sua capacidade alcançar o epitélio da mucosa através do rompimento da barreira de muco-bicarbonato, e esta ação reflete na ruptura da parede dos vasos sanguíneos, sendo as hemorragias a consequência das lesões gástricas. Esses danos decorrem da liberação de mediadores vasoativos como leucotrienos e histamina, formação de espécies reativas de oxigênio, resultando em peroxidação lipídica e conseqüentemente lesões do epitélio (AMARAL et al., 2012; MINCIS et al., 1995; SHAKER et al., 2010). Essas lesões necróticas são semelhantes as que ocorrem na úlcera gástrica humana.

Os resultados obtidos neste modelo de indução demonstraram que o ENSm nas doses de 250 e 500 mg/kg e lansoprazol (30mg/kg) inibiram a formação de úlcera em 42, 60 e 57%, respectivamente, quando comparado com o controle negativo (Figura 6), sugerindo que o ENSm apresenta atividade gastroprotetora.

Figura 6: Efeito do ENSm no modelo de úlcera induzida por etanol.



Dados expressos como média (n=6 animais) \pm desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9%), *** (p < 0.01)

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os achados para outras espécies de *Spondias*, em que Dantas (2012) e Almeida (2013) avaliaram o extrato etanólico das folhas de *S. purpurea* nas doses de 250, 500 e 750mg/kg; e 125, 250 e 500mg/kg, respectivamente, obtendo inibição significativa das ulcerações induzidas por etanol em ambos os casos. *S. mangifera* também demonstram atividade gastroprotetora, antidiarreica, e antimicrobiana (ARIF et al., 2008); *S. pinnata*, com atividade antioxidante devido à presença

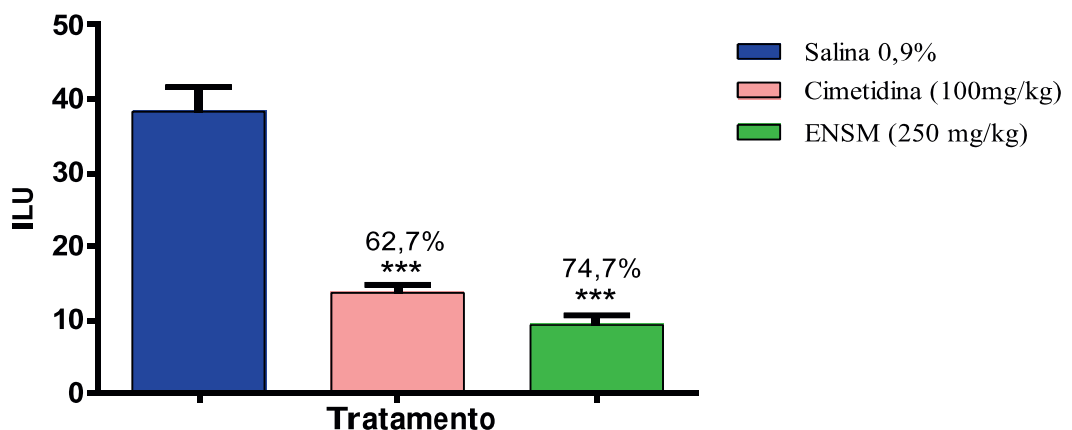
de fenóis e flavonoides (SATPATHY et al., 2011); e *S. tuberosa*, com atividade gastroprotetora (FALCÃO, 2014), efeito estes requeridos no combate a úlcera péptica.

O tratamento prévio com o ENSm se mostrou eficaz no tratamento da úlcera induzida por etanol, prevenindo o dano à mucosa e preservando o epitélio, quando comparados ao controle negativo. Com isso foi padronizada a dose de 250mg para realização dos demais ensaios, tendo em vista a economia do extrato e utilização de uma quantidade menor nos animais.

5.2.2 Úlcera induzida por AINE (Piroxicam)

De acordo com os resultados obtidos nesse modelo, observou-se que o ENSm e a cimetidina (droga padrão utilizada como controle positivo) reduziram significativamente o ILU em 74,7% e 62,7% respectivamente, quando comparados ao controle negativo (Figura 7).

Figura 7: Efeito do ENSm no modelo de úlcera induzida por AINEs.



Dados expressos como média (n=6 animais) \pm desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Dunnett ou Tukey, comparado ao controle negativo (solução salina 0,9%), *** ($p < 0.01$)

Os AINEs não seletivos são os medicamentos de primeira escolha no tratamento da dor e inflamação, representando cerca de 5% das prescrições. Contudo, seu principal efeito adverso é a formação de úlceras gástricas. A inibição da enzima ciclooxigenase (COX) leva tanto a atividade terapêutica (anti-inflamatória), quanto aos efeitos adversos. Essas drogas aumentam a expressão de moléculas de adesão intercelulares no endotélio da mucosa, aumentando assim a aderência neutrofílica ao endotélio vascular, levando a liberação de radicais livres e gerando danos a mucosa gástrica. São capazes de produzir lesões tanto local

como de forma sistêmica (FORNAI et al., 2005; ALMEIDA, 2013; BANSAL et al., 2009; MIZUSHIMA, 2010).

A COX-1 é constitutiva e produz as prostaglandinas responsáveis pela integridade da mucosa, sua inibição leva ao bloqueio da síntese de PGE₂, comprometendo um dos mecanismos de proteção e manutenção da integridade da mucosa gástrica. Os AINEs seletivos para a COX-2 (coxibes) têm menos riscos de formação de úlceras que os não seletivos, porém podem acarretar riscos como o aumento da probabilidade do infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

Segundo os estudos de Aburaya e colaboradores (2006), o uso de AINEs a curto prazo induz necrose da mucosa gástrica, e a longo prazo induz apoptose, respectivamente. Assim, os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o extrato nebulizado de *Spondias mombin*, nessas condições, apresentou atividade gastroprotetora significativa frente às lesões provocadas pelo anti-inflamatório piroxicam, assim como a cimetidina, quando comparados ao grupo controle, e isto sugere que o efeito gastroprotetor é promovido por mecanismos citoprotetores da mucosa, uma vez que as lesões gástricas induzidas pelos AINEs envolvem a inibição destes mediadores.

Outras espécies de *Spondias* também apresentam resultados promissores neste modelo de indução de úlcera, como mostrado pelos estudos de Almeida (2013) com o extrato etanólico de *S. purpurea* nas doses de 125, 250 e 500mg/kg frente ao modelo de úlcera por AINEs, demonstram que as três doses inibiram as lesões ulcerativas, com destaque para as doses de 250 e 500mg/kg. Assim como os resultados de Falcão (2014), onde o extrato etanólico de *S. tuberosa* foi avaliado nas mesmas doses (125, 250, 500 mg/kg), e as lesões gástricas foram inibidas. Estes dados corroboraram com os resultados encontrados neste trabalho.

5.3 Toxicidade aguda

A avaliação de toxicidade aguda foi baseada na RE N° 90/2004 da ANVISA e no protocolo experimental de Almeida et al. (1999). É uma metodologia amplamente empregada para verificar e classificar substâncias quanto à sua capacidade de provocar danos agudos aos organismos vivos em altas doses, especialmente alterações comportamentais frente ao sistema nervoso central, autônomo, registro de sinais ou modificações de condutas e letalidade (VALADARES, 2006). A importância deste método também visa minimizar o equívoco da população em acreditar que produtos naturais são desprovidos de efeitos tóxicos ou adversos,

podendo contribuir no estabelecimento de parâmetros para a saúde humana (LAPA, 2001; MARLIÈRE et al., 2008; SILVEIRA et al., 2008; CUNHA et al., 2009; ZATTA et al., 2009).

No estudo de toxicidade aguda oral, observou-se que, na concentração testada (2000mg/Kg), o extrato não foi capaz de provocar mortalidade nos animais ou quaisquer alterações comportamentais, podendo inferir que a dose letal média seja superior a 2000mg/kg. Estes resultados enquadram este extrato na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS (Globally Harmonised System), sendo assim considerado de baixa toxicidade (CUNHA et al., 2013). O valor da dose letal média é estabelecido com a finalidade de evitar uma superdosagem que possa levar a morte ou debilidade ao animal, e conseqüentemente, aos seres humanos.

Os sinais de toxicidade sistêmica são definidos a partir da redução na massa corporal dos animais experimentais. Além disso, ela se manifesta através de mudanças de comportamento, redução nos consumos de água e ração, apatia e má condição da pelagem, como a presença de pelos arrepiados. Outros sinais de toxicidade podem se expressar pela alteração da massa relativa dos órgãos, alterações hematológicas e bioquímicas (CUNHA et al., 2009).

Ao avaliar o consumo de ração e a ingestão de água foi observado que o extrato não promoveu alteração significativa em comparação com o grupo controle. Na avaliação ponderal não foi observado aumento no peso dos animais ao término do ensaio agudo, o que corrobora ao resultado anterior. Em relação ao peso e características macroscópicas dos órgãos dos animais que receberam o extrato, em comparação ao grupo controle, também não houve alteração.

Estes dados corroboram com os resultados encontrados por Silva (2015), que realizou o ensaio de toxicidade aguda com o extrato das folhas de *S. mombin*, e demonstrou que a dose de 5g/kg via oral, não resultou em nenhum sinal clínico de toxicidade nem alteração comportamental nos animais. Assim como os estudos de Hamenoo et al. (2010) na avaliação subaguda, com as doses de 300, 1000 e 1500 mg, onde os ratos não apresentaram alterações nos aspectos comportamentais, bioquímicos, hematológicos e histológicos, demonstrando a segurança da utilização do extrato.

Exames histopatológicos não são necessários caso não sejam observadas alterações nas autópsias (CRAVEIRO et al., 2008). No entanto, ainda é necessário a realização de diversos testes para uma melhor avaliação da toxicidade subcrônica e crônica em roedores, como por exemplo: o teste de citotoxicidade, genotoxicidade, neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva, dentre outros.

6. CONCLUSÃO

O extrato obtido das folhas de *Spondias mombin* apresentou quantidades de flavonoides e polifenóis totais, possíveis responsáveis por sua ação gastroprotetora.

Os resultados descritos demonstraram que o extrato nebulizado de *S. mombin* possuiu significativa atividade gastroprotetora nos modelos de indução por etanol e AINEs em camundongos.

Quanto ao estudo de biossegurança, o extrato não produziu sinais de intoxicação, alterações fisiológicas, motoras ou comportamentais na dose administrada, sugerindo uma baixa toxicidade.

Deste modo, esses resultados evidenciaram que a *Spondias mombin* L. apresenta-se como uma fonte promissora para o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico com ação gastroprotetora. Entretanto, estudos complementares são necessários para determinar a qualidade, eficácia e segurança de sua utilização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABO, K.A. et al. Potencial antimicrobiano de *S. mombis*, *Croton zambesicus* e *Zygotritonia crocea*. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 494-497, 1999.

ABURAYA, M. et al. Heme oxygenase-1 protects gastric mucosal cells against non-steroidal anti-inflammatory drugs. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 31, 2006.

ABURJAI, T.M et al. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan: The ajloun heights region. **Journal Ethnopharmacology**. v. 110, p. 294-304, 2007.

ALIMI, H. et al. Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica f. inermis* flowers extract in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 3, p. 406-416, 2011.

ALLEMAND, A. Efeito cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. em úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ALMEIDA, C.L.F. Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

ALMEIDA, C.L.F et al. *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae): Antioxidant and Antiulcer Activities of the Leaf Hexane Extract. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017.

ALMEIDA, R.N. et al. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 80, p. 72-76, 1999.

AMARAL, G.P. et al. Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 48-55, 2012.

ARARUNA, M.E.C. Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato nebulizado de *Spondias mombin* e de uma formulação obtida a partir desse extrato. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina grande, 2016.

ARIF, M. et al. Antibacterial, antidiarrhoeal and ulcer-protective activity of methanolic extract of *Spondias mangifera* bark. **International Journal of Health Research**, v. 1, n. 4, p. 177-182, 2008.

AYOKA, A.O. et al. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 166-175, 2006.

AYOKA, A.O. et al. Medicinal and Economic Value of *Spondias mombin*. **African Journal of Biomedical Research**, v. 11, p. 129-136, 2008.

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

BANSAL, V.K. et al. Herbal approach to peptic ulcer disease - REVIEW. **Journal of Bioscience and Technology**, v. 1, n. 1, p. 52-58, 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BLACK, J.W. et al. Definition and antagonism of histamine H₂-receptors. **Nature**, v. 236, n. 5347, p. 385- 390, 1972.

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC nº. 14, de 31 de março de 2010. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos**. Brasília, DF, 5 abril de 2010.

BRASIL. ANVISA. **Nota técnica do comitê nacional de plantas medicinais e fitoterápicos a respeito do que foi veiculado sobre plantas medicinais e fitoterápicos na imprensa televisiva e escrita no último mês**. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br>> Acesso em 12 de outubro de 2017.

BRASIL. ANVISA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Brasília, DF, 31 de janeiro de 2013 - versão 2.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília, DF, 2012.

BUFAINO, E.M. Phytotherapy in Brazil: recovering the Concepts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23 n.1. p. 22-27, 2013.

CABRAL, B. Caracterização dos marcadores químicos e avaliação de atividades biológicas do extrato de *Spondias mombin* (Anacardiaceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande Norte, Natal, 2014.

CALDAS, G.F.R. et al. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae), **PLOS One**, v. 9, n. 1, 2014.

CARRETERO, C. Úlcera péptica. **Revista de Medicina**, n. 3, v. 12, p. 111-117. Universidade de Navarra, Espanha, 2016.

CARVALHO, A.C.B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 314-319, 2008.

CHANDRA, S.; MEJIA, E.G.; Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to Mate (*Ilex paraguayensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **Journal of Agronomy and Food Chemistry**, v. 52, p. 3583-3589, 2004.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1-10, 2006.

CORTHOUT, J. et al. Ácido fenólico antibacteriano e moluscicidal de *S. mombin*. **Plantas Mediciniais**, v. 60, p. 460-463, 1994.

CORTHOUT, J. et al. Antivirally Active Gallotannins from *Spondias mombin*. **Planta Medica**, v. 54, n. 6, p. 573, 1988.

CUNHA, L.C. et al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 403-411, 2009.

CUNHA, L.C. et al. Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, p. 357-362, 2013.

CRAVEIRO, A.C.S. et al. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 739-743, 2008.

DANTAS, A.M. Avaliação da Toxicidade e atividade antiulcerogênica das folhas de *Spondias purpurea* L. Monografia (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

DASHPUTRE, N.L.; NAIKWADE, N.S. Evaluation of anti-ulcer activity of methanolic extract of *Abutilon indicum* Linn leaves in experimental rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 3, n. 2, p. 97-100, 2011.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica, 2002.

DHIYAALDEEN, S.M. et al. Protective effects of (1-(4-hydroxy-phenyl)-3-methyl-propenone chalcone in indomethacin induced gastric erosive damage in rats. **BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 1-14, 2014.

DONATINI, R.S. et al. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1, p. 89-94, 2009.

ENGELS, C. et al. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, p. 557-562, 2012.

EWALD, B.T. et al. Atividade gastroprotetora do extrato etanólico de *Pavonia alnifolia* A.St.-Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 392-397, 2015.

FALCÃO, R.A. Avaliação das atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora de *Spondia tuberosa* Arruda (Anacardiaceae) em modelos experimentais. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

FEITOSA, M.L. Investigação dos mecanismos de ação da atividade gastroprotetora de 1,4-cineol em modelos de úlcera gástrica em camundongos. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

FERREIRA, V.F.; PINTO, A.C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, vol. 33, no. 9, 1829, 2010.

FORNAI, M. et al. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID-induced gastric mucosal damage. Naunyn-Schm. **Archives of Pharmacology**, v. 372, p. 79-87, 2005.

GAD, H.A. et al. Application of chemometrics in authentication of herbal medicines: A review. **Phytochemical Analysis**, v. 24, p. 1-24, 2013.

GADELHA, C.S. et al. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 208-212, 2013.

GUERRA, A.M.N. et al. Utilização de plantas medicinais pela comunidade rural Moacir Lucena, Apodi-RN. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, p. 442-450, 2010.

HAMENOO, N.A. Hepatoprotective and toxicological assessment of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in rodents. Tese (Departament of Pharmacology) - Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, College of Health Sciences, Kumasi, 2010.

KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. **Farmacologia Básica e Clínica**. São Paulo: Mc Graw Hill Education, p. 1081-1113, 2014.

KHUSHTAR, M. et al. Protective effect of ginger oil on aspirin and pylorus ligation-induced gastric ulcer model in rats. **Indian Journal of Pharmaceutical Science**, v. 75, p. 563-567, 2009.

LAINE, L; TAKEUCHI, K; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, p. 41-60, 2008.

LAPA, A.J. et al. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. **Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, 2001.

LIRA, S.R.S. Estudo farmacológico dos efeitos gastrointestinais e comportamentais do lupeol e da dilactona do ácido valonéico, isolados de *Cenostigma macrophyllum* Tul., em roedores. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

LUIZ-FERREIRA, A. et al. Mechanisms of the gastric antiulcerogenic activity of *Anacardium humile* St. Hil on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **Molecules**, v. 15, p. 7153-7166, 2010.

MADUKA, H.C.C. et al. Phytochemical, antioxidant and microbial inhibitory effects of *Spondias mombin* leaf and stem bark extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences**, v. 9, n. 2, p. 14–17, 2014.

MALONE, R.A. Pharmacological approach to natural products screening and evaluation In: **New natural products and plant drugs With Pharmacological or Therapeutic Activity**, p. 24 -53, Springer-Verlag, Berlin, 1977.

MARLIÈRE, L.D.P. et al. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 754-760, 2008.

MEDA, A. et al Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, p. 571-577, 2005.

MEDEIROS, J.V. et al. Role of the NO/cGMP/K(ATP) pathway in the protective effects of sildenafil against ethanol-induced gastric damage in rats. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 153, p. 721–727, 2008.

MENEGASSI, L.E.A.; CZECZKO, L.S.G. Prevalência de alterações proliferativas gástricas em pacientes com uso crônico de inibidores de bomba de prótons. **Arq Brasileiro de cirurgia gástrica**, v. 3, n. 23, p. 145-149, 2010.

MINCIS, M. et al. Etanol e o trato gastrointestinal. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 32, p. 131-139, 1995.

MIZUSHIMA, N.; LEVINE, B. Autophagy in mammalian development and differentiation. **Nature Cell Biology**, v. 12, p. 823-830, 2010.

MUHAISEN, H.M.H. et al. Antimicrobial agents from selected medicinal plants in Libya. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 22, p. 177-184, 2016.

MUKHERJEE, P.K.; VENKATESH, M.; GANTAIT, A. Ayurveda in modern medicine: development and modification of bioactivity. In: MANDER, L.; LIU, H.W. **Comprehensive natural products II**, v. 3.14, p. 479-507, 2010.

MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D.M.; PIRMOHAMED, M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 30, p. 517-531, 2009.

NARIYA, M.B. et al. Comparison of gastroprotective effects of *Triphala* formulations on stress-induced ulcer in rats. **Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research**, p. 682-687, 2011.

NWORU, C.S. et al. The leaf extract of *Spondias mombin* L. displays an anti-inflammatory effect and suppresses inducible formation of tumor necrosis factor- α and nitric oxide (NO). **Journal of Immunotoxicology**, v. 8, p. 10-16, 2011.

OLOYEDE, H.O.B. et al. Anti-ulcerogenic activity of aqueous extract of *Carica papaya* seed on indomethacin-induced peptic ulcer in male albino rats. **Journal of Integrative Medicine**, p. 105-114, 2015.

PANNEERSELVAM, S.; ARUMUGAM, G. A biochemical study on the gastroprotective effect of hydroalcoholic extract of *Andrographis paniculata* in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 43, n. 4, p. 402-408, 2011.

PESKAR, B.M.; EHRLICH, K.; PESKAR, B.A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandine-mediated gastroprotection in rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, p. 969-967, 2002.

PUSCAS, I. et al. Comparative study of the safety of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxican-induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittelf**, v. 47, n. 4A, p. 568-572, 1997.

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

RAMSAY, P.T.; CARR, A. Gastric acid and digestive physiology. **Surgical Clinics of North America**, v. 91, p. 977-982, 2011.

RANG, H.P. et al. Rang & Dale. *Farmacologia*. 7^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 808, 2012.

RIBEIRO, A.R.S. et al. Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: The role of 112 prostaglandins, ATP-sensitive K β channels, and gastric mucus secretion. **Chemico-Biological Interactions**, v. 244, p. 121-128, 2016.

ROBERT, A. et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433–443, 1979.

SABIU, S. et al. Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Ameliorative roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperata*. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, p. 180-186, 2015.

SACRAMENTO, C.K.; SOUZA, F.X. *Cajá (Spondias mombin L.)*. Jaboticabal: FUNEP, p. 42, 2000. (FrutasNativas).

SAKUNPAK, A.; PANICHAYUPAKARANANT, P. Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone. **Food Chemistry**, v. 130, p. 826–831, 2012.

SATPATHY, G.; TYAGI, Y.K.; GUPTA, R.K. Preliminary evaluation of nutraceutical and therapeutic potential of raw *Spondias pinnata* K., an exotic fruit of India. **Food Research International**, v. 44, p. 2076-2087, 2011.

SCHUBERT, M.L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, London, v. 26, p. 598-603, 2010.

SHAKER, E.; MAHMOUD, H.; MNAA, S. Anti-inflammatory and anti-ulcer activity of the extract from *Alhagi maurorum* (camelthorn). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 2785-2790, 2010.

SHEN, Y. et al. Mechanistic evaluation of gastroprotective effects of Kangfuxin on ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 273, p. 115-124, 2017.

SIEGMUND, S.; TEYSSEN, S.; SINGER, M.V. Alcohol-associated organ damage. Health sequelae caused by moderate alcohol drinking. **Internist (Berl)**, v. 43, n. 2, p. 287-293, 2002.

SILVA, A.R.A. et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two *Spondias* species from Northeastern Brazil. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 6, p. 740-746, 2012.

SILVA, E.L.V. Estudo toxicológico não clínico do extrato hidroalcoólico de *Spondias mombin* L. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

SILVA, G.A. et al. Gênero *Spondias*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Biofar: Revista de Biologia e Farmácia**, v. 10, n. 01, 2014.

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**, p. 618-626, 2008.

SHOAIB, A. et al. Anti-ulcerogenic activity of hydromethanolic extract of *Andrographis paniculata* in Indomethacin and Indomethacin plus pylorus ligation induced gastric ulcer in rats. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 39, p. 8-15, 2014.

SOARES, E.B. Avaliação de genótipos de cajazeira (*Spondias mombin* L.): caracterização físico-química dos frutos e repetibilidade de caracteres morfoagronômicos. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2005.

SOUZA, F.X.; LIMA, R.N. Enraizamento de estacas de diferentes matrizes de cajazeira tratadas com ácido indol butírico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 89-124, 2005.

SRIVASTAVA, V.; VISWANATHASWAMY, A.H.M.; MOHAN, G. Determination of the antiulcer properties of sodium cromoglycate in pylorus-ligated albino rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 42, p. 185-188, 2010.

SULEYMAN, H. et al. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. **Inflammation**, 2010.

TAKAYAMA, C. et al. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 147-155, 2011.

TAMASHIRO FILHO, P. et al. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lytraceae) in experimental animals. **Journal of ethnopharmacology**, New York, v. 144, n. 3, p. 497-505, 2012.

TARNAWSKI, A.S.; AHLUWALIA, A.; JONES, M.K. Angiogenesis in gastric mucosa: an important component of gastric erosion and ulcer healing and its impairment in aging. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, p. 112-123, 2014.

TIBURSKI, J.H. et al. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, p. 2326-2331, 2011.

VALADARES M.C. Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias Após a “Era do Teste DL50”. **Revista Eletronica de Farmácia**, v. 3, p. 93-98, 2006.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; MELO, J.C.P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 464-471, 2008.

WALLACE, J.L. Prostaglandins, NSAIDs, and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? **Physiological Reviews**. v. 88, p. 1547-1565, 2008.

WIART, C. Medicinal plants of Asia and the Pacific. Taylor and Francis Group, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world medicines situation, 2011- Traditional medicines: global situation, issue and challenges. Geneva: **WHO**, p. 12, 2011.

YAM, M.F.; ASMAWI, M.Z; BASIR, R. An investigation of the anti-inflammatory and analgesic effects of *Orthosiphon stamineus* leaf extract. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, p. 362-368, 2008.

YUAN, Y.; PADOL, I.T.; HUNT, R.H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, v. 3, n. 2, p. 80-89, 2006.

ZATTA, D.T. et al. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. **Latin American Journal of Pharmacy**, p. 485-489, 2009.

ANEXO

ANEXO 1. Parecer emitido pelo CEUA/CESED aprovando os métodos utilizados na pesquisa.







PARECER
NÚMERO DO PROJETO/ PROTOCOLO : 6101032016
CIAEP/CONCEA Nº: 01.001.2012
DATA DO PARECER: 01/03/2016

1. Pesquisador Responsável: **Vanda Lúcia dos Santos**
Título do Projeto: ATIVIDADE GASTROPROTETORA, DE UMA FORMULAÇÃO DE Spondias mombin EM MODELOS ANIMAIS.
2. Considerações: Este projeto envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794 de 08 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do CESED, em 01 / 03 / 2016 .
A pesquisadora atendeu as pendências elencadas em parecer anterior.

Vigência do Projeto	09 de março de 2015 à 01 de março de 2017
Espécie / linhagem	Camundongos Swiss
Nº de animais	126
Peso / idade	2 meses / 25 a 35 gramas
Sexo	Feminino e masculino
Origem	Universidade Estadual da Paraíba

Parecer Final: APROVADO



Thárcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora do CEUA-CESED



Av. Senador Argemiro de Figueiredo, 1901 - Itararé
CEP: 58104-590 - Campina Grande, PB Fone: 83 2101.8800
www.cesed.br | tacisa@cesed.br | fcm@cesed.br | esac@cesed.br
CNPJ: 02.108.023/0001-40