



**UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA – PRPGP**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM**  
**BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR**

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA BIOPROSPECÇÃO**  
**FARMACOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS DO NORDESTE**  
**BRASILEIRO: BARBATIMÃO (*Stryphnodendron rotundifolium***  
**Mart.)**

**DAYANNE RAKELLY DE OLIVEIRA**

**CRATO – CE**

**2010**

DAYANNE RAKELLY DE OLIVEIRA

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA BIOPROSPECÇÃO  
FARMACOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS DO NORDESTE  
BRASILEIRO: BARBATIMÃO (*Stryphnodendron rotundifolium*  
Mart.)**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

**Área de Concentração:** Bioprospecção Molecular

**Linha de Pesquisa:** Bioprospecção de Produtos Naturais

**Orientador:** Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Regina Kerntopf

Crato – CE

2010

Oliveira, Dayanne Rakelly de.

O48c Contribuição ao estudo da bioprospecção farmacológica de plantas medicinais do Nordeste brasileiro: Barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium* Mart.)/ Dayanne Rakelly de Oliveira. – Crato-CE, 2010.

149p.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA.

Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

Co-Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marta Regina Kerntopf

1. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; 2. Bioprospecção farmacológica;  
3. Gastroproteção; 4. Atividade antimicrobiana. 5. Plantas medicinais.

I. Título.

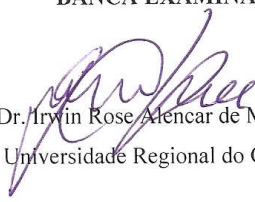
CDD: 615.323


DAYANNE RAKELLY DE OLIVEIRA

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioprospecção Molecular. Área de Concentração: Bioprospecção Molecular. Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais.

Aprovada em: 10 / 05 / 2010

**BANCA EXAMINADORA:**

  
Prof. Dr. Irwin Rose Mincar de Menezes (Presidente)  
Universidade Regional do Cariri - URCA

  
Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe (Membro efetivo)  
Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte - FMJ

  
Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho (Membro efetivo)  
Universidade Regional do Cariri - URCA

**Dedico esse trabalho a minha mãe,  
mulher guerreira e vitoriosa, por  
acreditar que a dignidade do ser  
humano perpassa pela Educação. Ao  
meu inesquecível irmão, Fernando José  
de Oliveira Júnior, nosso Fernandinho  
(*In memoriam*), sempre irei te amar; Ao  
meu amado sobrinho e afilhado,  
Eduardo Oliveira Nobre, a  
manifestação de Deus entre nós.**

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus**, luz da vida que nos conduz pelos caminhos da sabedoria, pela sua presença viva em minha vida e por sempre me estender a mão em todos os momentos.

A minha maravilhosa irmã, **Nayaana Karina Oliveira Nobre**, pela grande força, pelas palavras de otimismo nos momentos difíceis; amor incondicional.

Ao meu pai, **Fernando José de Oliveira**, pelo amor e carinho, amo muito o senhor.

Ao meu companheiro, **Rhavell Lima Costa**, pela cumplicidade, confiança e paciência.

Ao meu cunhado, **Michel Nobre de Melo**, pelo apoio e sincera torcida para a realização desse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes**, por acreditar nesse trabalho, compartilhar seus conhecimentos e sua experiência. Muito obrigada pela parceria.

A minha co-orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Regina Kerntopf**, pela sua sabedoria, fortaleza e grande generosidade. Muito obrigada pelo enorme apoio.

Aos meus grandes parceiros (amigos), colegas de luta, **Francisco Elizauo de Brito Júnior e Elizângela Beneval Bento**, vocês foram imprescindíveis para a realização desse trabalho, muito obrigada.

Aos Professores **Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho, Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe**, pelo apoio e valiosa contribuição para o trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia e Química Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, **Norma, Heloísa, Laura, Paula, Mariana, Daniele, Andreza, Alaiane, Márcio** e todos que contribuíram direta ou indiretamente para a consolidação desse trabalho.

Aos meus colegas professores do Departamento de Enfermagem da Universidade Regional do Cariri – URCA, especialmente, **a Prof<sup>a</sup>. Maria de Fátima Esmeraldo Ramos de Figueiredo**, pelo seu carinho e compreensão.

Aos colegas do Mestrado em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri – URCA pela importante contribuição.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, **Anderciele**, pelo carinhoso apoio.

À Faculdade Dr. Leão Sampaio e à Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte, pelo fornecimento dos animais para os ensaios.

## RESUMO

O *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., popularmente conhecido como “Barbatimão”, é uma espécie nativa de área do Cerrado do Nordeste Brasileiro utilizada por comunidades tradicionais para uma diversidade de doenças, dentre as quais se destacam as inflamações, infecções e gastrite. O presente trabalho investigou as propriedades bioativas (atividade antimicrobiana e antiúlcera), realizou um levantamento etnofarmacológico e determinou da toxicidade aguda por via oral e intraperitoneal do Extrato Hidroalcoólico do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. – EHSR obtido a partir das cascas da espécie. Para isso, efetuou-se pesquisa etnofarmacológica através de entrevistas com informantes residentes na Chapada do Araripe; teste hipocrático da toxicidade aguda em camundongos; determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM do EHSR e seu efeito potencializador da atividade antimicrobiana; atividade antiúlcera contra lesões gástricas induzidas pela administração oral e intraperitoneal de etanol absoluto, administração oral de etanol acidificado e indometacina em camundongos e estudo do envolvimento do óxido nítrico, das prostaglandinas, dos receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$ , dos canais de  $K^+$  dependentes de ATP e da associação do EHSR à capsaicina; e ainda, foi determinado o efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal. Observou-se o uso popular da espécie para vários distúrbios de saúde, sobretudo, de suas cascas na forma de imersão em água para processos infecciosos e inflamatórios. Quanto aos bioensaios, foi possível observar baixa toxicidade aguda na administração oral do extrato, fato que não ocorreu com a administração intraperitoneal. Determinou-se uma  $CIM \geq 512 \mu\text{g/mL}$  e um efeito promissor na potencialização da atividade antimicrobiana. O EHSR demonstrou significativa ação gastroprotetora contra todos os modelos de úlcera gástrica avaliados, sendo que os resultados sugerem que essa ação provavelmente envolve a participação do óxido nítrico e das prostaglandinas endógenas, como também, foi capaz de potencializar a ação citoprotetora gástrica da capsaicina. O EHSR não alterou a motilidade intestinal em camundongos. Os resultados indicam que a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., representa uma promissora fonte natural com importante potencial biológico e justifica alguns de seus usos na medicina popular.

**Descritores:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; Bioprospecção farmacológica; Gastroproteção; Atividade antimicrobiana.



## ABSTRACT

The *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., Popularly known as "barbatimão", is a native species of the Cerrado area of Northeast Brazil used by traditional communities for a variety of diseases, such as inflammation, infection and gastritis. The present work investigated the bioactive properties (antimicrobial and antiulcer activities) and also carried out an Ethnopharmacological survey and determined the acute toxicity by oral and intraperitoneal administration of hydroalcoholic extract of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. - EHSR obtained from the bark of the species. To do so, an ethnopharmacological research was developed with residents of the Araripe Plateau; Hippocratic test of acute toxicity in mice, determination of minimum inhibitory concentration - MIC of EHSR and its potentiator effect on antimicrobial activity, antiulcer activity, against gastric lesions, induced by the administration, oral and intraperitoneal, of absolute ethanol, oral administration of acidified ethanol and indomethacin in mice and study of the involvement of nitric oxide, of the prostaglandin, of the receptors noradrenergic  $\alpha_2$ , of  $K^+$  channels ATP-dependent and a combination of EHSR to capsaicin, and, was determined the effect of EHSR on intestinal motility were assayed. It was observed the popular use of the species for various health disorders, especially of their barks in the form of immersion in water for infectious and inflammatory processes. As for the bioassays, it was observed a low acute toxicity in oral administration of the extract, which did not occur with intraperitoneal administration. It was determined a  $MIC \geq 512 \mu\text{g/mL}$  and a promising effect on potentiation of antimicrobial activity. The EHSR showed significant gastroprotective action against all types of gastric ulcer evaluated and the results suggest that this action probably involves the participation of nitric oxide and endogenous prostaglandins but also was able to potentiate the gastric cytoprotective action of capsaicin. The EHSR did not alter intestinal motility in mice. The results indicate that the species *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. represents a promising natural source with significant biological potential and justifies some of its uses in popular medicine.

**Descriptors:** *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.; Bioprospecting pharmacology; gastroprotection; antimicrobial activity.

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

±	Mais ou menos
<	Menor
>	Maior
°C	Grau Centígrado
%	Porcentagem
α	Alfa
β	Beta
<i>et al.</i>	e outros
μm	Micrômetro
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato Adenosina
CE	Ceará
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase do Tipo 1
COX-2	Ciclooxigenase do Tipo 2
DAINE	Droga Antiinflamatória Não-Esteroidal
DL <sub>50</sub>	Dose Letal Média
EHSR	Extrato Hidroalcoólico do <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.
E.P.M.	Erro Padrão da Média
Etanol <sub>abs</sub>	Etanol absoluto
FMJ	Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte
FL	<i>Fidelity Level</i> – Nível de Fidelidade
GSH	Glutationa reduzida
g	Gramas
h	Hora
H <sup>+</sup>	Íon Hidrogênio
H2	Receptor de Histamina tipo 2
HCl	Ácido Clorídrico
H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase	Bomba de Prótons
i.p.	Intraperitoneal
K <sup>+</sup>	Íon Potássio
KATP	Canais de Potássio Dependentes de ATP
Kg	Quilograma

LFQM	Laboratório de Farmacologia e Química Molecular
L-NAME	NG-nitro-L-arginina-metilester
LPPN	Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais
M1	Receptor Muscarínico tipo 1
M3	Receptor Muscarínico tipo 3
mL	Mililitro
N	Número
NO	Óxido Nítrico
NOc	Óxido Nítrico Constitutiva
NOe	Óxido Nítrico Endotelial
NOi	Óxido Nítrico Induzível
NOS	Óxido Nítrico Sintetase
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial de hidrogênio
PGE2	Prostaglandina Tipo 2
PGI2	Prostaciclina Tipo 2
RFC	<i>Relative Frequency of Citation</i> - Frequência Relativa de Citação
URCA	Universidade Regional do Cariri
v.o.	Via oral
vs	Versus

## LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	PÁGINA
FIGURA 1	Mecanismos envolvidos na regulação da secreção gastrintestinal..... 30
FIGURA 2	Mecanismos envolvidos na lesão à mucosa gástrica..... 33
FIGURA 3	Estrutura química do ácido gálico..... 39
FIGURA 4	Exsicata da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart..... 45
FIGURA 5	Distribuição da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. em área de cerrado da Chapada do Araripe, Nordeste, Brasil..... 46
FIGURA 6	Fluxograma de obtenção do Extrato Hidroalcoólico de <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. EHSR..... – 47
FIGURA 7	Efeito da administração intraperitoneal do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos..... 70
FIGURA 8	Efeito da administração oral do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos..... 71
FIGURA 9	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto..... 72
FIGURA 10	Efeito do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos..... 73
FIGURA 11	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por etanol acidificado..... 74
FIGURA 12	Efeito do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por DAINE (indometacina) em camundongos..... 75
FIGURA 13	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por DAINE (indometacina)..... 76
FIGURA 14	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHSR em 77

	modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	
<b>FIGURA 15</b>	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento do óxido nítrico.....	78
<b>FIGURA 16</b>	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	79
<b>FIGURA 17</b>	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento das prostaglandinas.....	80
<b>FIGURA 18</b>	Papel dos receptores noradrenérgicos $\alpha_2$ no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	81
<b>FIGURA 19</b>	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento dos receptores noradrenérgicos $\alpha_2$ .....	82
<b>FIGURA 20</b>	Papel dos Canais de $K^+$ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	83
<b>FIGURA 21</b>	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento dos Canais de $K^+$ dependentes de ATP.....	84
<b>FIGURA 22</b>	Envolvimento do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	85
<b>FIGURA 23</b>	Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos na associação de EHSR à Capsaicina.....	86
<b>FIGURA 24</b>	Efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal em camundongos.....	88

## LISTA DE TABELAS

TABELAS		PÁGINA
<b>TABELA 1</b>	Massa seca e rendimento do extrato hidroetanólico bruto liofilizado das cascas (g).....	44
<b>TABELA 2</b>	Origem Bacteriana e Perfil de Resistência a antibióticos.....	53
<b>TABELA 3</b>	Prospecção Fitoquímica do extrato hidroalcoólico bruto liofilizado das folhas de <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	62
<b>TABELA 4</b>	Perfil dos informantes da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.....	63
<b>TABELA 5</b>	Comparação do Nível de Fidelidade (FL) sobre as indicações medicinais do <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.....	64
<b>TABELA 6</b>	<i>Relative Frequency of Citation</i> (RFC) da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri–CE.....	65
<b>TABELA 7</b>	Parte da planta utilizadas da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	65
<b>TABELA 8</b>	Modo de preparo das cascas para uso medicinal da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	66
<b>TABELA 9</b>	Métodos de aplicação medicinal da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.....	66
<b>TABELA 10</b>	Indicação medicinal <i>versus</i> duração do tratamento e frequência da dose da espécie <i>S. rotundifolium</i> Mart.....	67
<b>TABELA 11</b>	Restrições ao uso medicinal da espécie <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. (Barbatimão).....	67
<b>TABELA 12</b>	Valores de CIM (µg/ml) de aminoglicosídeos na presença e ausência de 8µg/mL de EHSR contra <i>Escherichia coli</i> 27 e <i>Staphylococcus aureus</i> 358.....	69
<b>TABELA 13</b>	Efeito do EHSR (via oral) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	128
<b>TABELA 14</b>	Análise de Variância (ANOVA) - Etanol absoluto Modelo de lesões gástricas induzidas por (via oral).....	129

<b>TABELA 15</b>	Efeito do EHSR (via intraperitoneal) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	130
<b>TABELA 16</b>	Análise de Variância (ANOVA) - Modelo de lesões gástricas induzidas por Etanol absoluto (via intraperitoneal).....	131
<b>TABELA 17</b>	Efeito do EHSR no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	132
<b>TABELA 18</b>	Análise de Variância (ANOVA) - Modelo de lesões gástricas induzidas por Etanol acidificado (via oral).....	133
<b>TABELA 19</b>	Efeito do EHSR no modelo de lesões gástricas induzidas por DAINE (Indometacina) em camundongos.....	134
<b>TABELA 20</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Modelo de lesões gástricas induzidas por Indometacina (via oral).....	135
<b>TABELA 21</b>	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	136
<b>TABELA 22</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento do Óxido nítrico no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).....	137
<b>TABELA 23</b>	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	138
<b>TABELA 24</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento das Prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).....	139
<b>TABELA 25</b>	Papel dos receptores noradrenérgicos $\alpha_2$ no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	140
<b>TABELA 26</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento dos Receptores noradrenérgicos $\alpha_2$ no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).....	141
<b>TABELA 27</b>	Papel dos Canais de $K^+$ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	142
<b>TABELA 28</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento dos Canais de $K^+$ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR (via	143

	oral).....	
<b>TABELA 29</b>	Envolvimento do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	144
<b>TABELA 30</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Associação do EHSR à Capsaicina (via oral).....	145
<b>TABELA 31</b>	Efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal em camundongos.....	146
<b>TABELA 32</b>	Análise de Variância (ANOVA) – Efeito do EHSR sobre a Motilidade Intestinal.....	147



## SUMÁRIO

RESUMO  
ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS  
LISTA DE TABELAS  
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	19
<b>1.1. Apresentação.....</b>	19
<b>1.2. Perspectiva Histórica sobre o Uso de Plantas Medicinai.....</b>	22
<b>1.3. Considerações sobre a Família Fabaceae, o Gênero <i>Stryphnodendron</i> e suas Propriedades Bioativas.....</b>	23
<b>1.4. O Trato Gastrintestinal.....</b>	27
1.4.1. Fisiologia da secreção gástrica.....	28
1.4.1.1. Fatores agressores da mucosa gástrica.....	30
1.4.1.2. Fatores protetores da mucosa gástrica.....	30
<b>1.5. A Doença Ulcerosa Péptica.....</b>	32
1.5.1. Considerações gerais sobre a inflamação.....	34
1.5.2. A Úlcera Péptica e os Protocolos Experimentais.....	35
1.5.3. Terapêutica Antiúlcera.....	36
<b>1.6. A Farmacognosia e a Importância dos Metabólitos Secundários.....</b>	37
1.6.1. Os Taninos.....	37
1.6.2. Os Flavonóides.....	40
<b>1.7. Justificativa.....</b>	41
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	43
<b>2.1. Objetivo geral .....</b>	43
<b>2.2. Objetivos específicos.....</b>	43
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	44
<b>3.1. Materiais.....</b>	44
3.1.1. Material Botânico (origem e obtenção do extrato vegetal).....	44
3.1.2. Drogas e reagentes.....	48
3.1.3. Material permanente e equipamentos utilizados.....	48
<b>3.2. Prospecção fitoquímica.....</b>	49
<b>3.3. Aspectos éticos do estudo.....</b>	50
<b>3.4. Animais.....</b>	50
<b>3.5. Métodos.....</b>	51
3.5.1. Tipologia do estudo.....	51

3.5.1.1. Pesquisa Etnofarmacológica.....	51
3.5.2.1. Investigação da Toxicidade Aguda do Extrato e <i>screening</i> hipocrático.....	52
3.5.2.2. Investigação da Atividade Antibacteriana.....	53
3.5.2.3. Investigação da atividade gastroprotetora.....	54
a) Lesão gástrica induzida pela administração oral de etanol absoluto.....	54
b) Lesão gástrica aguda induzida por etanol acidificado.....	55
c) Lesão gástrica aguda induzida por indometacina.....	55
d) Estudo dos possíveis mecanismos envolvidos na atividade gastroprotetora do EHSR.....	56
• Avaliação do envolvimento do óxido nítrico.....	56
• Envolvimento dos Canais de K <sup>+</sup> dependentes de ATP.....	56
• Estudo do envolvimento das Prostaglandinas.....	57
• Envolvimento dos Receptores noradrenérgicos alfa <sub>2</sub> .....	58
• Efeito do EHSR em Associação à Capsaicina.....	58
3.5.2.3. Determinação da motilidade intestinal.....	59
3.5.3. Expressão dos dados e análise estatística.....	59
<b>3.6. Instituições parceiras e financiamento.....</b>	<b>59</b>
<b>4.RESULTADOS.....</b>	<b>61</b>
<b>4.1. Prospecção Fitoquímica.....</b>	<b>61</b>
<b>4.2. Dados da Pesquisa Etnofarmacológica.....</b>	<b>62</b>
<b>4.3. Dados sobre a Toxicidade Oral e Intraperitoneal Aguda do EHSR.....</b>	<b>68</b>
<b>4.4. Atividade Microbiológica do EHSR.....</b>	<b>68</b>
<b>4.5. Dados sobre o efeito antiulcerogênico e mecanismos de ação gastroprotetora do EHSR.....</b>	<b>69</b>
4.5.1. Efeito da administração intraperitoneal do EHSR em lesões gástricas induzidas pela administração oral de etanol absoluto em camundongos.....	69
4.5.2. Efeito da administração oral do EHSR em lesões gástricas induzidas pela administração oral de etanol absoluto em camundongos.....	70
4.5.3. Efeito do EHSR em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	73
4.5.4. Efeito do EHSR em lesões gástricas induzidas por DAINE (indometacina) em camundongos.....	75
4.5.5. Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHSR em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	77
4.5.6. Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR m modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	79

4.5.7. Papel dos receptores noradrenérgicos $\alpha_2$ no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	81
4.5.8. Papel dos Canais $K^+$ dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	83
4.5.9. Envolvimento do efeito gastroprotetor do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto em camundongos.....	85
<b>4.6. Dados relativos à atividade do EHSR sobre a motilidade intestinal de camundongos.....</b>	<b>87</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>104</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>127</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Apresentação

A perspectiva histórica sobre o emprego de plantas para o tratamento e a cura de doenças evidencia que esta prática (medicina popular) acompanha a humanidade desde seus primórdios. Soma-se a este fato, o entendimento de que para parte significativa da população mundial e em nosso país, particularmente, o emprego de plantas para fins medicinais é o único recurso terapêutico encontrado (DI STASI, 1996; HEIDELBERG, 2001).

A fitoterapia, que implica na utilização de plantas com a finalidade terapêutica, acompanha a história da ciência farmacológica pela justificativa de que até o século passado, a produção de medicamentos era eminentemente baseada na extração de princípios biológicos obtidos de plantas (FERRO, 2006).

No aspecto cronológico, tem-se a informação de que os primeiros achados sobre a cura alternativa de doenças, esta através das plantas, data de mais de sessenta mil anos, onde as descobertas se deram por meio de pesquisas arqueológicas no Irã. No Brasil, essa prática tem origem com as comunidades indígenas e a participação das culturas negra e européia, período este em que o acesso aos cuidados médicos, por profissional habilitado, era restrito às classes mais privilegiadas, sendo, portanto, o cuidado empírico, a prática das populações menos abastadas (REZENDE; COCCO, 2002).

Paulatinamente o saber popular foi cedendo espaço ao conhecimento médico-científico, em uma concepção mecanicista ou cartesiana inicialmente, mudança esta observada a partir dos séculos XVI e XVII, e caracterizada por uma fragmentação da assistência à saúde (SIQUEIRA *et al.*, 2006). Este marco vem acompanhado de uma substituição gradativa do emprego de plantas para a produção de medicamentos, pelas drogas sintéticas, fato observado entre as décadas de 1950-1970 (FERRO, 2006), muito embora, prevaleça até os dias atuais, sobretudo, nas regiões mais pobres do nosso país, a utilização e a comercialização de plantas medicinais em feiras livres, mercados populares, prática esta que funciona como tratamento alternativo pela carência de recursos e até mesmo, fonte de renda para estas comunidades (MACIEL; PINTO; VEIGA JÚNIOR, 2002).

Nesse contexto, é importante salientar uma retomada, ainda que tímida, pela valorização do saber popular a partir inclusive, da perspectiva da Organização Mundial da Saúde – OMS de que o fortalecimento dessas práticas populares, pela validação científica das propriedades farmacológicas das plantas, possa contribuir para a melhoria da situação de saúde em todo o mundo. Enfatize-se ainda que, há estimativas de que 80 a 85% da população mundial emprega o conhecimento sobre as plantas na produção de seus medicamentos (FERRO, 2006). Para a OMS, a fitoterapia representa uma alternativa viável e significativamente relevante de contribuição à população no geral.

Acrescente-se a isso, que embora no Brasil, já mais de 350 mil espécies de plantas foram identificadas, um número não superior a dez mil apenas têm alguma propriedade medicinal conhecida (REZENDE; COCCO, 2002), o que certamente, reafirma a necessidade de investimento em pesquisas nessa área. É sabido ainda, que o Brasil detêm cerca de 10% de toda a flora mundial e apesar de suas valorosas colaborações, tendo-se como exemplos a emetina, a pilocarpina, entre outros, constituiu-se em um verdadeiro potencial para o desenvolvimento nesse ramo da ciência, em que pese por apenas 1% de suas variedades vegetais ter recebido o olhar científico, sob o ponto da investigação farmacológica e fitoquímica (REZENDE; COCCO, 2002).

A cultura medicinal e a riqueza nacional em biodiversidade vêm despertando o interesse de pesquisadores para a realização de estudos abrangendo a multidisciplinaridade do conhecimento sobre as plantas que envolvem as áreas da botânica, da fitoquímica e da farmacologia, por exemplo (MACIEL; PINTO; VEIGA JÚNIOR, 2002).

Acredita-se esta representar uma possibilidade inestimável de colaboração por parte da comunidade científica no sentido de atenuar as desigualdades sociais, sobretudo, no aspecto do acesso aos serviços e tecnologia em saúde, a uma população de baixa renda em nosso país. É nesse contexto, que a pesquisadora espera colaborar com o estudo, fortalecendo o conhecimento loco-regional e abrindo horizontes para o crescimento regional.

A partir do vislumbramento de possibilidades desses estudos, com destaque para a área de Cerrado Brasileiro, pela sua diversidade e ocupação por comunidades locais, têm-se desenvolvido estudos nessas regiões, com ênfase também na área da etnobiologia, a exemplo de uma pesquisa realizada por pesquisadores da Universidade Regional do Cariri – URCA, localizada em Crato-Ceará, sul do interior do Estado, este com a finalidade de realizar um levantamento etnobotânico de plantas com emprego

terapêutico em quatro municípios nessa região, no qual o Barbatimão (conforme conhecimento popularmente) é referido no presente estudo e ainda, atribui-se ao mesmo o uso em úlceras, impigem e como depurativo (OLIVEIRA; CARTAXO; SILVA, 2007).

Compreende-se, portanto, que ao conjunto complexo formado por todas as formas de vida de dada região, dá-se a denominação de Biodiversidade. A Chapada do Araripe, segundo Relatório apoiado pela Fundação Araripe, é área delimitada entre três Estados do Nordeste Brasileiro (Ceará, Piauí e Pernambuco), que apresenta uma riqueza inestimável em seu ecossistema com características geológicas, geomorfológicas, pedológicas, climáticas, hidrográficas/hidrológicas e de vegetação, bastante peculiares. A Região do Cariri, localizada ao Sul do Estado do Ceará tem seus aspectos geográficos intimamente marcados pela configuração da Chapada do Araripe. Resumidamente, as formações florestais da Chapada do Araripe estão representadas por: formações estratificadas em mata úmida, cerrado, cerradão, caatinga e carrasco (AUGUSTO; GÓES, 2007).

O mesmo relatório contextualiza ainda a utilização dos mais diversos recursos (madeira, produção de frutos e produtos de espécies não madeiras) oriundos da Chapada para a garantia da subsistência das comunidades que residem na Região, enfatizando, portanto, o valor econômico e cultural que esta área representa à população (AUGUSTO; GÓES, 2007).

Nesse universo da biodiversidade local é possível encontrar, como tem sido foco de estudo de pesquisadores da Região, o uso de plantas com a finalidade de tratamento cura de enfermidades humanas. Dentre as espécies vegetais empregadas com a finalidade curativa pelas comunidades residentes na área de cerrado da Chapada do Araripe, evidencia-se o Barbatimão, como é mencionado popularmente, pertencente ao Gênero *Stryphnodendron*, Família Fabaceae.

A pesquisa buscou investigar as propriedades biológicas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. e realizar um levantamento etnofarmacológico junto a comunidades locais. Justifica-se a abordagem desta espécie na Chapada do Araripe, tendo em vista a realização de estudo recente por pesquisadores da URCA com esta, o qual se deteve à investigação sobre as atividades antimicrobianas e antiulcerogênicas dos extratos etanólicos liofilizados das cacas secas do caule da planta. Estudo este que evidenciou a proteção gástrica contra danos causados à mucosa induzidos pelo uso do etanol em modelos animais, e ainda, a inibição bacteriana

atribuída à classe de metabólitos secundários (taninos, especialmente), em destaque na planta (RODRIGUES *et al.*, 2008).

É importante elucidar que o trabalho acima mencionado representa o único encontrado na literatura abordando a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart, isso pode ser afirmado com precisão após ampla busca em sites oficiais e base de dados de pesquisas na área da bioprospecção de plantas e outras áreas relacionadas (Pubmed, Medline, Lilacs, Scielo, Scholar Google), com os descritores: *Stryphnodendron*, Barbatimão, casca da mocidade, casca da virgindade, barbatimão vermelho, como é conhecido na linguagem popular.

## **1.2 Perspectiva Histórica sobre o Uso de Plantas Medicinais**

Sabe-se que o emprego de plantas para fins de tratamento e cura de doenças é tão antigo quanto a história da humanidade, sendo que os homens as utilizavam como recurso para melhoria de suas condições de sobrevivência. Às plantas também foram atribuídas poderes mágicos que se acreditavam virem dos deuses, e estas plantas com tais propriedades (a exemplo, das alucinógenas) eram utilizadas em rituais religiosos. Os relatos históricos conduzem à informação de que também a história das plantas medicinais se confunde com a da Botânica, tendo em vista que as primeiras catalogafias de vegetais tinham o propósito de elucidar às finalidades medicinais de plantas (LORENZI, 2002).

A descoberta das plantas medicinais ocorreu através da busca por alimentos e desde então, passou-se a empregá-las empiricamente para este fim. E ainda, os povos primitivos conseguiam distinguir àquelas com componentes tóxicos das com propriedades medicinais. A observação do comportamento dos animais, pela procura de determinadas plantas quando se encontravam doentes auxiliou nessas descobertas (DI STASI, 1996; WAGNER; WISENAUER, 2006).

Nesse sentido, tem-se que o primeiro a realizar essa diferenciação entre medicamento e veneno foi Paracelsus, relacionado-a à dosagem aplicada. No Brasil, esse processo, deu-se pelas tribos indígenas, com os ensinamentos dos pajés, que praticavam a medicina pelas ervas através da transmissão de conhecimentos de geração para geração. A difusão dessas práticas ocorreu também para os europeus que vieram ao Brasil, deparando-se com tais ensinamentos, bem como, estes transmitiram suas práticas medicinais aos povos indígenas que aqui viviam. Nesse processo de miscigenação

dessas práticas, tem-se ainda, a contribuição dos escravos africanos com o emprego de plantas medicinais na África (WAGNER; WISENAUER, 2006).

Quanto à cronologia da evolução da Fitoterapia, observa-se nos relatos, que o primeiro manuscrito a respeito das plantas medicinais data de 1500 a.C., denominado Papiro de Ebers (na civilização egípcia), este tratava de fórmulas (mais de 800) de preparo e ainda, sobre em torno de 700 drogas nativas e exóticas. O período de Hipócrates (considerado o pai da medicina) tem início com a publicação *Corpus Hippocraticum* que consolida a terapia a partir dos vegetais (FERRO, 2006).

O período de dominação do conhecimento científico exclusivamente pela Igreja, na Idade Média (476-1453 d.C.), restringe o uso das plantas somente aos religiosos, coibindo qualquer outro tipo de utilização. Enquanto que o chamado período do Renascimento, marcado pelas viagens para as Américas e para as Índias permitiu a prática das terapias medicinais e a difusão de novos fármacos (FERRO, 2006).

Fazendo alusão ao Brasil, as referências apontam que até o século XX, pelo seu caráter eminentemente rural, este era marcado pelo amplo uso das plantas medicinais. Os processos de industrialização e conseqüente, urbanização são responsáveis pela introdução dos medicamentos sintéticos em substituição aos fitoterápicos (LORENZI, 2002). Muito embora, sabe-se que os medicamentos vegetais tenham ampla aceitação na população em geral.

O ressurgimento da Fitoterapia se deu pela preocupação crescente com a biodiversidade e a preservação desta, com o uso sustentável dos recursos naturais, despertando o interesse de pesquisadores brasileiros e do mundo inteiro pela temática (LORENZI, 2002).

E nesse contexto, admite-se a relevância das pesquisas multidisciplinares envolvendo as ciências da química, botânica, farmacologia, ciências humanas e outras, para a descoberta de novos saberes científicos e tecnológicos (DI STASI, 1996).

Entende-se que estes devem ser direcionados a uma melhoria das condições de vida e de saúde de populações, sobretudo, que já se utilizam dos recursos vegetais para garantia de suas subsistências.

### **1.3 Considerações sobre a Família Fabaceae, o Gênero *Stryphnodendron* e suas Propriedades Bioativas**



A família Fabaceae constitui uma das maiores famílias botânicas, também conhecida como Leguminosae, possuindo ampla distribuição geográfica. Quanto às características botânicas, tem-se que o fruto é do tipo legume, também conhecido como vagem, e a mesma se apresenta subdividida em três subfamílias: Faboideae, Caesalpinioideae e Mimosoideae (ou Mimosaceae). É ainda, a terceira maior família de Angiospermae, compreendendo 727 gêneros e 19.325 espécies, sendo apontada como de maior riqueza de espécies arbóreas nas florestas neotropicais. As espécies dessa família são exclusivas de determinados ambientes brasileiros (WATSON; DALLWITZ, 1992).

É importante mencionar que espécies pertencentes à família Fabaceae são empregadas para diversas finalidades medicinais, a exemplo, dos usos para: problemas estomacais, diabetes, leucorréias, processos inflamatórios, menorragia, pneumonias, problemas cardíacos, dermatoses, dor, laxativo e infecções (MOREIRA *et al.*, 2002; UPADHYAY *et al.*, 2010).

O Gênero *Stryphnodendron*, família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, inclui cerca de 48 espécies, sendo todas nativas de Cerrado do Brasil, conhecidas popularmente por “barbatimão”. As pesquisas realizadas com as espécies confirmam a presença de até 20% de taninos, sendo que os extratos das cascas são amplamente empregados na medicina popular para a cicatrização de feridas, sendo atribuídas propriedades antioxidantes (CRONQUIST, 1988; SANTOS *et al.*, 2004).

A literatura reporta para a espécie *Stryphnodendron barbatiman* Mart. os seguintes constituintes químicos: taninos condensados, substâncias monoméricas (flavan-3-óis) e proantocianidinas, substâncias tânicas (20 a 30%), taninos (18 a 27%), alcalóides não determinados, amido, matérias resinosas, mucilaginosas, matéria corante vermelha, ácido tânico, estrifno, açúcar solúvel, flavonóides, flobafenos (PLANTAMED, 2010).

E ainda, que as plantas do Gênero *Stryphnodendron*, a exemplo das espécies *Stryphnodendron adstringens* Mart. (espécie com maior número de investigações científicas), *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. e *Stryphnodendron obovatum* Benth, são utilizadas por comunidades tradicionais para fins medicinais e que estas crescem com abundância em áreas de Cerrado do Brasil. É mencionado também, que a

composição química dessas espécies, presente nas cascas, sementes e folhas, revela a presença de flavonóides (PEREIRA; ANDRADE; PILÓ-VELOSO, 2002) e taninos (MELLO; PETEREIT; NAHRSTEDT, 1996; SANCHES *et al.*, 2005).

Desse modo, o levantamento sobre o significado da denominação *Stryphnodendron* revela que a palavra no grego, refere-se a *Strypnós* (duro) e *dendron* (árvore). Em termos genéricos, árvore dura. Já a expressão *Barbadetimam*, de origem indígena, ibá-timo que tem o significado de árvore que aperta, a qual se daria pela adstringência. As espécies se destacam pela presença de compostos tânicos nos extratos obtidos a partir das cascas, entre 25-30% (SILVA, 2007).

A literatura faz referência, dentre as espécies pertencentes ao Gênero *Stryphnodendron*, sobretudo, à espécie *Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville, especificando que a mesma é uma:

... árvore decídua, de copa alongada, de 4-5cm de altura, com tronco cascudo e tortuoso, de 20-30cm de altura, nativa dos cerrados do Sudeste e Centro-Oeste. Folhas compostas bipinadas, com 5-8 jugas; folíolos ovalados, em número de 6-8 por pina (juga). Flores pequenas, amareladas, dispostas em racemos axilares. Os frutos são vagens cilíndricas, indeiscentes, de 6-9cm de comprimento, com muitas sementes de cor parda... (LORENZI, 2002, p. 296).

Quanto às propriedades biológicas relacionadas ao Gênero *Stryphnodendron*, estas estiveram, nos trabalhos encontrados, sempre atribuídas aos extratos obtidos a partir da casca do caule da planta, e nesse sentido, tem-se um estudo realizado por pesquisadores da Universidade Estadual Paulista – UNESP em 2007, sobre a bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* sendo possível verificar a presença de atividade antioxidante bem como antimicrobiana, ambas propriedades foram associadas pelos pesquisadores, à presença de compostos fenólicos totais, como taninos e flavonóides (SOUZA *et al.*, 2007).

Outros trabalhos com a espécie *Stryphnodendron adstringens* Mart. descrevem propriedades bioativas, como antifúngica e antimicrobiana – para *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (SILVA, 2007), e ainda, que esta tem suas cascas na forma de decocto, utilizadas amplamente na medicina popular para o tratamento de leucorréias, diarréias e outras infecções ginecológicas (SANTOS; TORRES;

LEONART, 1987). Estudos comprovam que extratos aquosos dessa espécie possuem importante atividade cicatrizante (NEVES *et al.*, 1992), antiinflamatória, analgésica e protetora da mucosa gástrica (AUDI *et al.*, 1999; BERSANI-AMADO *et al.*, 1996; LIMA; MARTINS; SOUZA, 1998). Somado a essas propriedades, frações de extratos de *Stryphnodendron adstringens* Mart. também demonstraram atividade antiprotozoária contra *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi* e *Herpetomas samuelpeossoi*, tendo-se as cascas da espécie riqueza de taninos condensados (MAZA *et al.*, 2003; LUIZE *et al.*, 2005).

Outro estudo, este pela Universidade Federal de Goiás, sobre a composição de taninos em espécies de Barbatimão revelou também atividade antioxidante relacionada à presença de taninos condensados, em torno de 20%, e ainda, atividade antiviral (SANTOS *et al.*, 2002). Adicionalmente, análises fitoquímicas da espécie *Stryphnodendron adstringens* Mart. identificaram também, a presença de chalconas e triterpenos, além dos taninos, aos quais tem sido atribuídos efeito antiúlcera (KYOGOKU *et al.*, 1979; GUPTA *et al.*, 1981).

As principais indicações para o uso popular do vegetal (casca) encontradas na literatura foram o seu decocto para as leucorréias e problemas ginecológicos, como antibacteriano, anti-hemorragico, anti-hipertensivo, antiulcerogênico, para diarreia, processos inflamatórios, como adstringente e anti-séptico, diurético, para limpeza e cicatrização de feridas (VASCONCELOS *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2007; SILVA, 2007).

O uso pelos povos indígenas, ensinado pelos pajés e transferido por gerações, é sobretudo, realizado pelas mulheres com o banho de assento a partir do chá da casca para infecções vaginais e doenças sexualmente transmissíveis. Dada à propriedade adstringente conferida pelos taninos, essas ainda o utilizam para promover a constrição vaginal, daí a denominação popular de casca da virgindade (SILVA, 2007).

Os taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis que possuem característica de formar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatinas e com proteínas (precipitação de proteínas) que tem sido considerada como a base às propriedades que lhes são atribuídas. A importância dos mesmos reside, sobretudo, em seu poder

adstringente. Recebem a classificação química em dois grupos, os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados (SILVA, 2007).

Encontra-se ainda que em pesquisa vinculada à Universidade Estadual de Maringá – PR, a qual realizou estudo físico-químico e biológico dos extratos das cascas do *Stryphnodendron polyphyllum*, verificou-se atividade antimicrobiana (LOPES *et al.*, 2003).

Um estudo comparativo do efeito da *Calendula officinalis*, do *Symphytum officinale* e do *Stryphnodendron barbatiman* em cicatrização por segunda intenção em equinos revelou que o Barbatimão facilitou o processo de fibroplasia, ações atribuídas à propriedade adstringente dos taninos com a formação de crostas espessas e ressecadas, acumulação de fibrina e migração centrípeta, diminuindo, portanto, o leito da ferida. E ainda, redução da vascularização e do edema. Um dos aspectos mais relevantes da pesquisa a ser considerado nessa abordagem, é o tempo médio, em dias, da cicatrização das feridas com o uso tópico do Barbatimão, quando comparado aos outros agentes, 21 dias para o Barbatimão, 26,1 para a Calêndula e 21,6 para o Confrei (MARTINS *et al.*, 2003).

A utilização de extrato aquoso de Barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Mart.) demonstrou aceleração do reparo de feridas cutâneas em camundongos pela diminuição de exsudato por formação de crosta (cicatrização subcrostral), no 7º dia de tratamento houve evidência de polimorfonucleares, colágeno e tecido de granulação, sendo as feridas cicatrizadas em 19 dias de terapia tópica (EURIDES *et al.*, 1996).

Enfatize-se também um estudo se utilizando do extrato aquoso do Barbatimão, sem referir a espécie, para a cicatrização de feridas cirúrgicas em tecido cutâneo de gatos, no qual nove animais foram tratados com Barbatimão (solução aquosa) e nove gatos tratados com solução à base de Iodo a 10%. Para fins de comparação foram selecionados os dias 1º, 3º, 7º e 10º com os critérios de avaliação: presença de exsudato e sinais flogísticos. Nas feridas tratadas com Barbatimão, observou-se que no 7º dia havia se formado uma espessa crosta sem exsudato e no 10º, houve a consolidação da ferida. Embora as feridas tratadas com Iodo também tenham sido consolidadas no mesmo período, o estudo constatou que as feridas tratadas com Barbatimão tiveram melhor fibroplastia (SILVA, 2007).

A partir dos dados expostos é evidente que algumas espécies do Gênero *Stryphnodendron* apresentam notáveis e diferentes atividades biológicas importantes para o emprego medicinal e foi a partir dessa perspectiva, que se desenvolveu o presente estudo enfatizando-se as prováveis atividades bioativas vinculadas ao *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

#### 1.4 O Trato Gastrointestinal

O trato gastrointestinal é constituído pelo esôfago, estômago, intestino delgado e cólon. É revestido pela musculatura lisa, responsável pela movimentação ativa e pela segmentação do conteúdo intestinal (GANGAROSA; SEIBERT, 2005).

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

A histologia da mucosa gástrica se diferencia de acordo com a região anatômica, sendo que a superfície possui um epitélio colunar responsável por secreção de muco. As glândulas gástricas, principais elementos secretores do estômago são de três tipos: Glândulas cárdicas: contêm somente células que secretam muco; Glândulas parietais (oxínticas): são encontradas no corpo e no fundo do estômago e contêm células parietais, células principais e algumas células endócrinas; Glândulas pilóricas: contêm células secretoras de muco e células endócrinas. Os principais tipos celulares das glândulas gástricas são: Células mucosas: secretam muco e pepsinogênio I e II; Células parietais: exibem numerosas invaginações, canalículos secretórios, que ampliam a área para secreção gástrica; Células endócrinas: contêm aminas biogênicas – a serotonina e os hormônios polipeptídicos, gastrina e somatostatina (LIU; CRAWFORD, 2005).

A motilidade intrínseca do trato gastrointestinal é determinada por influências neuro-hormonais. A inervação se dá por neurônios aferentes, motores extrínsecos e neurônios intramurais. O sistema nervoso simpático e parassimpático fornece inervação

gastrointestinal extrínseca. A estimulação de receptores  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenérgicos resulta em inibição de contrações (GANGAROSA; SEIBERT, 2005).

O sistema gastrointestinal é responsável pela digestão e absorção dos alimentos sendo um dos mais importantes sistemas endócrinos do nosso organismo. As principais funções do trato gastrointestinal relevantes para a farmacologia são a secreção gástrica, a êmese, a motilidade intestinal, a eliminação fecal e a formação e eliminação da bile (RANG *et al.*, 2004).

#### **1.4.1 Fisiologia da Secreção Gástrica**

Dentre as secreções mais relevantes do estômago se destacam o ácido clorídrico e o fator intrínseco, provenientes das células parietais, o pepsinogênio, secretado pelas células principais, e o muco. O ácido clorídrico participa da ativação do pepsinogênio e da prevenção de infecções por diversos microrganismos. O muco protege a mucosa contra o efeito ácido, enquanto que o pepsinogênio se converte em pepsina e participa da digestão de proteínas. Já o fator intrínseco permite a absorção da vitamina B12 pelo íleo (SCHELLACK, 2005; YAO; FORTE, 2003).

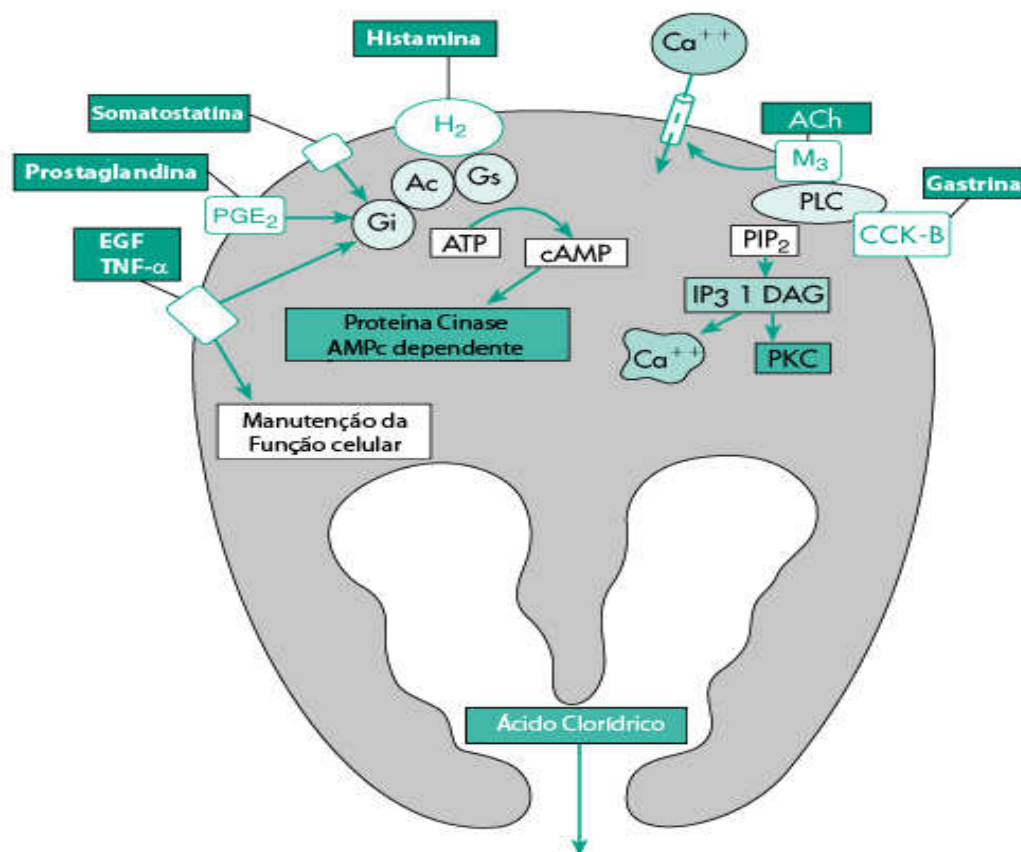
Em estímulo, as células parietais, secretam solução ácida contendo cerca de 160 milimoles de ácido clorídrico por litro, que é quase isotônica em relação aos líquidos corporais. O pH desse ácido é de cerca de 0.8, o que evidencia sua extrema acidez. Nesse pH, a concentração de íon hidrogênio é de cerca de 3 milhões de vezes a existente no sangue arterial. As células parietais constituem as únicas células que secretam ácido clorídrico. A secreção desse ácido se encontra sob controle contínuo de sinais endócrinos e nervosos. É a bomba de prótons ( $H^+-K^+$  ATPase), localizada na membrana apical das células parietais, que bombeia o  $H^+$  contra um gradiente de concentração. Por esse mecanismo o  $H^+$  é secretado para o lúmen celular em troca do  $K^+$  (HOU; SCHUBERT, 2006; GANOC, 2003; REPETTO; LLESUY, 2006).

A secreção de ácido é um processo contínuo e complexo mediada por muitos fatores centrais e periféricos. Os mecanismos de defesa da mucosa gástrica são mediados por fatores funcionais, humorais e por controle neural. Assim, o muco, a microcirculação e a motilidade são fatores funcionais, enquanto que as prostaglandinas e o óxido nítrico representam fatores humorais e, os neurônios sensíveis à capsaicina, fatores neurais (BIGHETT; ANTÔNIO; CARVALHO, 2002).

No Sistema Nervoso Central – SNC, as estruturas mais envolvidas na secreção ácida gástrica são o núcleo motor dorsal do nervo vago, o hipotálamo e o núcleo do trato solitário. A liberação de acetilcolina das fibras vagais estimula diretamente a secreção de ácido através dos receptores muscarínicos M3. A acetilcolina provoca efeito indireto sobre as células parietais aumentando a liberação de histamina e de gastrina (KATZUNG, 2007; GUYTON; HALL, 2006).

Os mediadores mais essenciais da secreção gástrica são a gastrina (hormônio), a acetilcolina (um neurotransmissor) e a histamina (hormônio local). A secreção de ácido é estimulada pela histamina por meio dos receptores H2, pela acetilcolina pelos receptores muscarínicos M3, e pela gastrina, provavelmente pelos receptores de gastrina presentes nas membranas das células parietais (GANONG, 2000), conforme pode ser observado na Figura 1.

A gastrina e a histamina participam da estimulação das células parietais para a secreção de ácido clorídrico, exercendo forte efeito sobre esta. A acetilcolina estimula as células produtoras de muco, células pépticas e parietais para a secreção de ácido. Esta favorece também a secreção de gastrina pelas células G das glândulas pilóricas que estimula por sua vez, a secreção gástrica ácida. A secreção ácida é inibida pelas prostaglandinas E2 e I2, as quais também estimulam a secreção de muco e bicarbonato. A gastrina é produzida pelas células G do antro, sendo um potente indutor da secreção ácida. Sua liberação é estimulada por diversas vias, incluindo a ativação do Sistema Nervoso Central – SNC. A somatostatina (SST) é produzida pelas células D do antro e inibe a secreção de ácido (CARVALHO, 2006; SCHELLACK, 2005; EKBLAD; MEI; SUNDLER, 2000).



**FIGURA 1:** Mecanismos envolvidos na regulação da secreção gastrintestinal (Adaptado de BERNE *et al.*, 2007).

#### 1.4.1.1 Fatores Agressores da Mucosa Gástrica

Os danos à mucosa gástrica resultam de desequilíbrios entre diversos fatores, conhecidos como agentes desestabilizadores da barreira protetora da mucosa gástrica. As drogas antiinflamatórias não-esteroidais, consumidas por uma parte da população mundial, exercem efeito agressor ao estômago, sendo responsáveis pelo desenvolvimento de úlceras. Não obstante, o acúmulo de hidrogênio (hipoxia gástrica), contribui para o aumento do meio ácido e formação da úlcera. Outro fator que favorece o aparecimento de lesões gástricas é mediado pelas espécies reativas de oxigênio formadas a partir do metabolismo do ácido araquidônico e células da musculatura lisa (REPETTO; LLESUY, 2006).

Ainda nesse contexto, é possível inferir que os estímulos lesivos sobre a mucosa, determinantes da formação de úlceras pépticas, são acompanhados por danos na microvasculatura local, processo isquêmico com redução na disponibilidade de nutrientes, formação de radicais livres e lesão tecidual (TARNAWSHI, 2005).



#### 1.4.1.2 Fatores Protetores da Mucosa Gástrica

A concentração bastante elevada de H<sup>+</sup> no lúmen gástrico necessita de mecanismos rigorosos de proteção, dentre os quais o fluxo sanguíneo contínuo e adequado é extremamente importante. A camada de muco também representa relevante fator de defesa (KATZUNG, 2007; GUYTON; HALL, 2006).

O óxido nítrico - NO é um importante mensageiro intra e intercelular com significativas funções fisiológicas e que também participa de processos patológicos, incluindo os que afetam a mucosa gastrintestinal, mediando a resposta inflamatória (SHAH *et al.*, 2004). O NO, por sua natureza lipofílica, difunde-se rapidamente, iniciando sinais intercelulares e intracelulares (PALMER; FERRIGE; MONCADA, 1987). A principal via da sinalização produzida pelo NO está relacionada com a ativação da guanilato ciclase solúvel, onde o NO liga-se no grupamento heme da enzima, estimulando a formação de GMPc, que por sua vez, ativa proteínas quinases G, iniciando uma cascata de fosforilação para obter a função efetora (DENNINGER; MARLETTA, 2001).

É sintetizado pela NO sintetase (NOS) a partir de oxigênio molecular e L-Arginina. São reconhecidas três isoformas da NOS: uma forma induzida – iNOS e duas constitutivas – cNOS. A esse respeito, pesquisas têm evidenciado que, na dependência da isoforma, o NO exerce efeito protetor da mucosa gástrica, NO produzido pela cNOS, ou pró-ulcerogênico, NO produzido a partir da iNOS. São reconhecidas suas funções protetoras da mucosa gástrica pelo efeito sobre a circulação gastrintestinal, na secreção de muco gástrico e na regulação da secreção ácida (NISHIO *et al.*, 2006).

O NO participa da modulação fisiológica dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica através do controle da motilidade gastrintestinal (UEKI; TAKEUCHI; OKABE, 1988), do fluxo sanguíneo gástrico (WHITTLE; KAUFFMAN; MONCADA, 1981), da adesão de neutrófilos (KUBES; SUZUKI; GRANGER, 1991) e da secreção de muco (WALLACE; MILLER, 2000).

Nesse sentido, também as prostaglandinas (PG), produzidas a partir do ácido araquidônico por duas isoformas de cicloxigenase (COX) estão presentes no trato gastrintestinal exercendo uma variedade de funções, incluindo a regulação da secreção ácida gástrica, a secreção de bicarbonato, a produção de muco e manutenção da integridade de mucosa. Quando administradas terapêuticamente protegem a mucosa gastrintestinal contra estimulação ulcerogênica e estresse causado por drogas

antiinflamatórias não-esteroidais. Nesse contexto, destaca-se um estudo pioneiro de Robert *et al.*, 1979, o qual pode demonstrar a proteção do estômago exercida pelas prostaglandinas. Posteriormente, foi demonstrada proteção gástrica exercida pela capsaicina através da estimulação de neurônios aferentes sensíveis a essa substância, efeito parcialmente dependente das prostaglandinas endógenas (TAKEUCHI *et al.*, 2002).

Desse modo, a integridade da mucosa gástrica é determinada em grande parte pela ação da prostaglandina E2 (PGE2) e da prostaciclina (PGI2), as principais PG produzidas pela mucosa gástrica. A atuação de defesa gástrica se dá através do receptor prostanóide EP3 das células parietais, e estimulação da via G inibitória (cAMP) com conseqüente, redução da secreção ácida gástrica. Logo, a supressão da síntese de prostaglandina resulta em maiores possibilidades de injúria à mucosa gástrica, especialmente, se decrescida a síntese de NO (ATAY; TARNAWSKI; DUBOIS, 2000).

Os compostos sulfidrílicos também participam da manutenção da integridade gástrica, sobretudo, em lesões resultantes de estresse oxidativo. Nesse aspecto, é importante enfatizar que a glutathiona reduzida (GSH) auxilia na eliminação de hidroperóxidos, atuando na remoção de radicais livres e, portanto, favorece a ação fisiológica das proteínas sulfidrílicas (SHIRIN *et al.*, 2001).

O bicarbonato, secretado a partir das células epiteliais gástricas, exerce importante efeito gastroprotetor contra os efeitos deletérios do ácido. Este é regulado pela ação de diversas substâncias, como as prostaglandinas, o óxido nítrico, os neurônios aferentes sensíveis à capsaicina, peptídeos e outros fatores neurais (AIHARA *et al.*, 2007).

## **1.5 A Doença Ulcerosa Péptica**

Úlceras pépticas são lesões crônicas, em geral, únicas, que podem se desenvolver em qualquer área do trato gastrintestinal que esteja exposta à ação agressiva ácida. Apresentam, na maioria das vezes, menos que 4cm de diâmetro e se localizam nos seguintes sítios, em ordem decrescente: duodeno, estômago, junção gastroesofágica, nas margens de uma gastrojejunostomia (LIU; CRAWFORD, 2005).

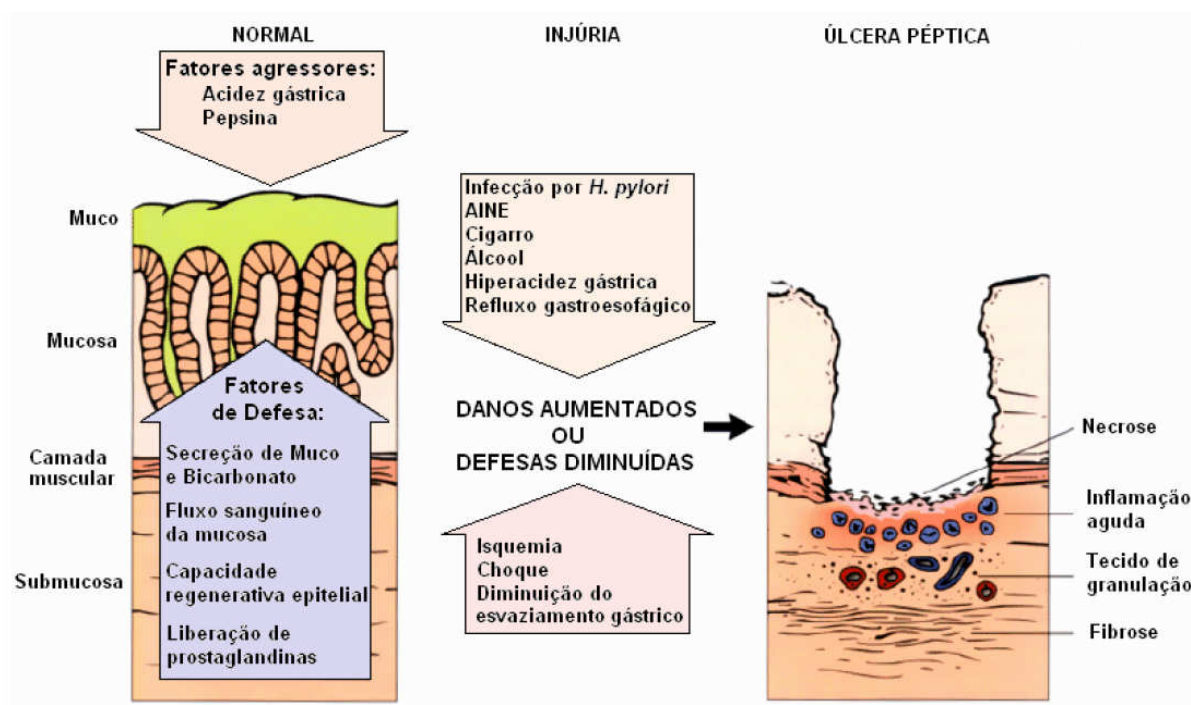
A doença ulcerosa péptica se caracteriza então, pelo desenvolvimento de erosões ulcerosas em áreas do estômago e duodeno expostas à secreção ácida gástrica, estando fortemente associada ao uso frequente de ácido acetilsalicílico ou outros

agentes antiinflamatórios não-esteroidais e infecções provocadas pelo *Helicobacter pylori* (TOMA *et al.*, 2002).

Segundo Abitol (2005), as úlceras localizadas no estômago e no duodeno recebem a denominação de úlceras pépticas. Ocorrem mais frequentemente no duodeno, cerca de cinco vezes mais, sendo que em torno de 90% estão localizadas na junção pilórica. Quanto às úlceras de localização estomacal, 60% ocorrem no antro. É doença recidivante, mais incidente na população masculina, podendo se dá em qualquer faixa etária, porém, é mais prevalente entre 30 e 55 anos (úlcera duodenal) e de 50 a 70 anos (úlcera gástrica).

A úlcera péptica representa, portanto, uma desordem da mucosa gástrica e duodenal causada pela acidez da secreção gástrica, de ocorrência mundial, a qual acomete milhões de pessoas, cujos gastos com tratamento e suas complicações estão situados em torno de bilhões de dólares. Constitui-se então, em uma doença crônica, de caráter recorrente, bastante prevalente dentre as doenças gastrintestinais. Geralmente, está associada a desequilíbrios entre os fatores protetores (secreção de muco e bicarbonato e produção de prostaglandinas) e agressores da mucosa (BIRDANE *et al.*, 2007; FALCÃO *et al.*, 2008).

Diferentes aspectos parecem estar envolvidos em sua ocorrência, muito embora, nenhum agente isolado pareça ser o responsável. Dentre eles, têm-se a própria secreção ácida gástrica, a pepsina, alimentação, drogas esteroidais e não-esteroidais, álcool, tabagismo, *stress*, traumas, infecção pelo *Helicobacter pylori* (DURSUN *et al.*, 2009), conforme esquematizado na Figura 2.



**FIGURA 2:** Mecanismos envolvidos na lesão à mucosa gástrica (Adaptado de KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

O desenvolvimento e a permanência de úlceras pépticas no duodeno e no estômago exigem a secreção ácida gástrica. Essa afirmação se baseia nos seguintes achados: a totalidade de pacientes com úlceras duodenais e quase todos os com úlceras gástricas, são secretores de ácido gástrico; A formação experimental de úlceras demanda a produção de ácido; a hipersecreção e ácido está presente em quase todos os pacientes com úlceras duodenais; o tratamento redutor de ácido resulta em cicatrização das úlceras (RUBIN; PALAZZO, 2006).

Enfatize-se ainda que o *stress* consiste em um dos principais elementos favorecedores do desenvolvimento de úlceras. Este pode facilitar a infecção pelo *Helicobacter pylori* pela produção acentuada de ácido, podendo-se desenvolver inflamação crônica (LIPOF; SHAPIRO; KOZOL, 2006)

Nesse sentido, estudos têm evidenciado que reações oxidativas e a peroxidação lipídica estão implicadas na patogênese de lesões induzidas pelo etanol por ataque de moléculas biológicas e prostaglandinas (BIRDANE *et al.*, 2007).

### 1.5.1 Considerações Gerais sobre a Inflamação

Partindo-se do princípio de que a úlcera péptica é doença crônica decorrente de respostas inflamatórias do organismo a agentes lesivos, compreende-se que o

processo inflamatório na mucosa intestinal representa um elemento chave para a defesa dessa. A resposta inflamatória adequada conduz ao reparo da mucosa, enquanto que o comprometimento ou prolongamento desse processo, pode levar ao agravamento de lesões. Nesse sentido, a inflamação e a resposta imune secundárias à exposição a agentes nocivos, alteram a função motora do trato gastrointestinal, o que é importante para a compreensão de diversas terapêuticas. Nesse contexto, a microcirculação representa o principal componente de defesa da mucosa gástrica contra processos danosos, sendo modulada pelo sistema nervoso intrínseco e extrínseco. A importância da circulação para a proteção gástrica pode ser evidenciada a partir de experimentos envolvendo os nervos aferentes sensíveis à capsaicina, sendo que emprego de substâncias que antagonizem a substância P e o peptídeo calcitonina promovem suscetibilidade da mucosa gástrica a danos (MARTIN; WALLACE, 2006).

Define-se a inflamação a partir de um processo complexo reacional a vários agentes nocivos, como os microrganismos e células danificadas, geralmente necróticas, que consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos e reações sistêmicas. A principal característica da inflamação é a reação dos vasos sanguíneos, que conduz ao acúmulo de fluido e leucócitos nos tecidos extravasculares. A inflamação pode ser aguda ou crônica. A primeira tem início rapidamente e sua duração é relativamente curta, enquanto que a crônica, tem uma duração maior e está histologicamente associada à presença de linfócitos e macrófagos. As reações inflamatórias são desencadeadas por infecções e toxinas microbianas, traumas, agentes físicos e químicos, necrose tissular, corpo estranho e reações imunológicas (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

O processo inflamatório é regulado pela presença de mediadores inflamatórios específicos, dentre os quais, destacam-se as moléculas vasoativas que atuam aumentando a permeabilidade vascular; fatores quimiotáticos, que recrutam leucócitos. Esses leucócitos recrutados, por sua vez, secretam outros mediadores inflamatórios que incrementam ou inibem a resposta inflamatória (MURPHY; WARD, 2006).

### 1.5.2 A Úlcera Péptica e os Protocolos Experimentais

Pesquisas em modelos animais vêm despertando o interesse de diversos pesquisadores, como fonte promissora para a descoberta de novas drogas, sobretudo, a partir de informações sobre o uso tradicional de espécies para esta finalidade pelas

comunidades que utilizam os recursos naturais para o tratamento de suas enfermidades (GILANI; ATTA-ur-RAHMAN, 2005; CARVALHO, 2006).

A semelhança no mecanismo fisiológico da secreção ácida gástrica, a exemplo do mecanismo de regulação intracelular na concentração de íons hidrogênios pela bomba de prótons, torna a investigação da atividade antiúlcera viável. Aliado a isso, a literatura refere vários avanços nos modelos experimentais pela descoberta de novos recursos para indução de úlcera em animais com vistas à avaliação de propriedade gastroprotetora de diversas substâncias. Não obstante, os protocolos para essa avaliação, apresentam mecanismos próprios de investigação (BERNE *et al.*, 2004; SAMONINA *et al.*, 2004).

Entre os modelos para essa experimentação, tem-se: Lesão gástrica induzida por etanol e etanol acidificado (ROBERT *et al.*, 1979; MIZUI; SHIMONO; DOTEUCHI, 1987); Lesão gástrica induzida por estresse (SENAY; LENINE, 1967 *apud* LAPA *et al.*, 2008); Lesão gástrica induzida por indometacina (DJAHANGUIRI; SCAND, 1979 *apud* LAPA *et al.*, 2008); Determinação do muco da mucosa gástrica (CORNE, 1974 *apud* LAPA *et al.*, 2008); Determinação de grupos sulfidrílicos não-proteicos da mucosa gástrica (SEDLAK; LINDSAY, 1968 *apud* LAPA *et al.*, 2008); Método da ligadura pilórica (VISSHER e col., 1974 *apud* LAPA *et al.*, 2008); Lesão gástrica crônica induzida por ácido acético (TAKAGI e col., 1969 *apud* LAPA *et al.*, 2008), dentre outros.

Para avaliação da atividade gastroprotetora, a lesão gástrica induzida por etanol é largamente empregada, sendo que neste modelo, as lesões são decorrentes da depleção de muco e de grupos sulfidrílicos e da formação de espécies reativas de oxigênio e produtos secretados pela ação dos mastócitos. Já as lesões decorrentes da administração de indometacina, são secundárias à redução substancial de prostaglandinas, bicarbonato e da irrigação sanguínea (RAO *et al.*, 1997).

Nesse sentido, a atividade antiúlcera de uma substância desconhecida pode ser determinada a partir de experimentação em modelos animais (LAPA *et al.*, 2008), configurando-se conforme já mencionado, em uma promissora fonte de princípio ativo para medicamentos. Ademais, acredita-se na relevância desses estudos como perspectiva para melhorar o acesso, sobretudo, de comunidades carentes, aos recursos terapêuticos.

### 1.5.3 Terapêutica Antiúlcera

A terapêutica da úlcera gástrica que tradicionalmente estava baseada na redução da secreção ácida gástrica, ressalta estratégias para erradicação do *H. pylori* com vistas à cicatrização das úlceras e prevenção de sua recorrência (TOMA *et al.*, 2002).

Durante muito tempo, destinou-se tratamento cirúrgico para as úlceras pépticas com elevadas taxas de morbimortalidade. Avanços significativos ocorreram a partir da introdução do tratamento com antagonistas do receptor H<sub>2</sub> de histamina, fato que se deu na década de 1970. O tratamento com as drogas cimetidina ou ranitidina favoreceu a diminuição das cirurgias, na década de 1980 (YUAN; PADOL; HUNT, 2006).

Basicamente, os agentes empregados na terapêutica antiulcerogênica, exercem efeito citoprotetor ou são inibidores da secreção ácida gástrica (BOOTHE, 1999).

As drogas inibidoras da bomba de prótons exercem supressão da secreção de ácido gástrico, diminuindo diariamente a produção de ácido em cerca de 80 a 95%. São elas: o omeprazol e seu *S*-isômero, o esomeprazol, o lansoprazol, o rabeprazol e o pantoprazol. São empregadas na cicatrização de úlceras gástricas e duodenais. Já os antagonistas dos receptores H<sub>2</sub> inibem a produção de ácido ao competir de modo irreversível, com a histamina na ligação aos receptores H<sub>2</sub>. Podemos encontrar as drogas: cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina, nesta classe. Essas drogas agem também na cicatrização de úlceras gástricas e duodenais. Os análogos das prostaglandinas (o misoprostol) diminuem a secreção de ácido gástrico, sendo que o grau de inibição mantém relação direta com a dose (KATZUNG, 2007; BERNE *et al.*, 2007).

Os agentes antiácidos durante muito tempo foram as principais drogas empregadas para o tratamento de úlceras, sendo gradativamente substituídos por outros fármacos mais efetivos. Atuam neutralizando o ácido e elevando o pH gástrico. Administrados por longo tempo, exercem cicatrização de úlceras duodenais, sendo menos eficientes para as úlceras gástricas. Como exemplos, têm-se: o bicarbonato de sódio, o gel hidróxido de alumínio, o trissilicato de magnésio e os alginatos (RANG *et al.*, 2004).

Nesse contexto, tem-se despertado o interesse de pesquisadores com vista à descoberta de novas drogas que possam auxiliar na terapêutica antiúlcera.

## **1.6 A Farmacognosia e a Importância dos Metabólitos Secundários**

A Farmacognosia é o ramo da ciência que se dedica ao estudo dos produtos naturais, sendo estes definidos como compostos orgânicos de origem vegetal encontrados em um quantitativo reduzido e peculiar de espécies vegetais. Os metabólitos secundários representam os compostos predominantes nesse aspecto. São elementos que embora não estejam relacionados à sobrevivência das espécies que os produzem, guardam relação direta com a perpetuação da espécie e trazem vantagens, sob a forma de proteção contra predadores, contra raios violetas, entre outras, às plantas. Apresentam, portanto, amplo valor entre a planta e seu ecossistema, possuindo a exemplo, ação fagoinibidora contra o ataque de herbívoros e agentes antimicrobianos (SANTOS, 2007; MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

Tem-se ainda que o interesse nesse grupo peculiar de metabólitos se justifica pela característica de os mesmos possuírem atividades biológicas, sendo, portanto, vislumbrados, sobretudo, pela área da farmacologia (SANTOS, 2007). Ressalte-se que há uma diversidade desses compostos na natureza, embora, sua produção seja, conforme já exposto, peculiar a espécies restritas de vegetais.

Em relação às pesquisas com produtos naturais, avanços têm ocorrido, principalmente, na área da etnofarmacologia e da toxicologia. E nessa perspectiva, os produtos naturais podem ser valiosos para a produção de medicamentos sintéticos dada às suas propriedades químicas e estruturais. É possível ainda, estimar que em média 40% dos medicamentos disponíveis atualmente tenham origem direta ou indireta a partir dos produtos naturais (MULLER-KUHRT, 2003; TULP; BOHLIN, 2004).

### 1.6.1 Os Taninos

Considerando que a literatura aponta que as cascas, folhas e sementes das espécies do gênero *Stryphnodendron* possuem em sua composição química, uma predominância de taninos (MELLO; PETEREIT; NAHRSTEDT, 1996; LOPES *et al.*, 2003; SANCHES *et al.*, 2005), incluindo também dados da Farmacopéia Brasileira (2002), os quais atribuem aos taninos, um conteúdo mínimo de 8% nessas espécies, far-se-á uma breve exposição sobre aspectos referentes a essa classe de substâncias químicas.

Compreende-se, portanto, por taninos o grupo de substâncias fenólicas com solubilidade em água e massa molecular entre 500 e 3000 Dalton, com a capacidade de



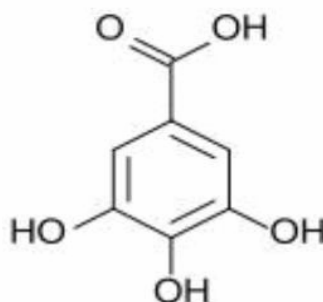
formar compostos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e proteínas. Classificam-se em taninos hidrolisáveis e taninos condensados, sendo os primeiros caracterizados por um poliol central, cujas funções hidroxilas são esterificadas com o ácido gálico. Os taninos condensados são oligômeros e polímeros originados da policondensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol. São também conhecidos por proantocianidina pela produção de pigmentos avermelhados (SANTOS; MELLO, 2007).

O emprego de plantas ricas em taninos na medicina popular pode ser encontrado para várias morbidades tais como, diarreia, hemorragias, feridas, queimaduras, reumatismo, hipertensão arterial, problemas gástricos (a exemplo, úlcera gástrica), doenças renais e processos inflamatórios (SANTOS; MELLO, 2007).

Para Silva e Silva (1999), a produção de altos níveis de fenóis pela planta guarda relação com o processo de cicatrização. São capazes de formar precipitado com proteínas presentes na pele de animais e assim, inibir o processo de putrefação. E ainda, os taninos são responsáveis pela característica de adstringência de muitas plantas. Em complementação, tem-se que as propriedades farmacológicas do barbatimão se devem aos teores de taninos na espécie (FONSECA; LIBRANI, 2008).

Os taninos têm propriedades adstringentes fortes, sendo que sua aplicação em ferimentos causa precipitação protéica que torna as camadas superficiais mais seguras e ainda, retraimento das estruturas causando vasoconstrição capilar. Exercem, portanto, efeito antiinflamatório local. Não obstante, a ação adstringente, também provoca efeito antibacteriano indireto por inibição do crescimento. Possuem ainda, efeito anestésico (HEIDELLBERG, 2001).

Os taninos são os compostos prevalentes em espécies do gênero *Stryphnodendron*, estando associados ao efeito antimicrobiano atribuídos às mesmas. Quanto ao processo de cicatrização, os taninos formam um complexo com proteínas levando à formação de uma camada protetora sobre o tecido agredido. Este processo também é utilizado para justificar o seu efeito gastroprotetor (SOARES *et al.*, 2008). Nesse contexto, investigações sobre o teor de taninos nas espécies: *Stryphnodendron adstringens*, *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron obovatum* demonstraram na análise quantitativa das três espécies, que existe similaridade no teor de galocatequina (Flavan-3-óis), sendo que a espécie *S. adstringens* possui ácido gálico (Figura 3) em uma proporção superior a 60% em relação às outras duas espécies (LOPES *et al.*, 2009).



**FIGURA 3:** Estrutura química do ácido gálico (Disponível em Google imagens).

Funções biológicas atribuídas aos extratos contendo taninos têm sido as de antibacteriana e fungicida, moluscicida, antitumoral e de inibição enzimática. Acredita-se ainda que essas propriedades biológicas se devem a três características básicas desse grupo de compostos, são elas: a complexação com íons metálicos, a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com proteínas e polissacarídeos (SANTOS; MELLO, 2007).

A complexação tanino-proteínas pode ser reversível ou irreversível, sendo as reversíveis estabelecidas por pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas e as irreversíveis, decorrentes de condições oxidativas por ligações covalentes. Essa capacidade de formar complexos com proteínas tem variabilidade na dependência do tipo de estrutura química dos diversos taninos, sendo que os elementos que interferem nesse processo são o peso e a flexibilidade molecular (SANTOS; MELLO, 2007; MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAÚJO, 2005).

Os taninos têm sido empregados comercialmente para o processo de curtimento do couro, na produção de borracha, aglomerados e laminados de madeira. São empregados ainda para garantir o sabor adstringente de certos alimentos, tais como vinhos e sucos de frutas (SANTOS; MELLO, 2007).

### 1.6.2 Os Flavonóides

Partindo-se de informações da literatura de que espécies do Gênero *Stryphnodendron* apresentam flavonóides em sua composição química e ainda,

considerando que as propriedades farmacológicas apontadas para a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. estão relacionadas em sua maior parte, à presença de taninos e também flavonóides, julgou-se importante efetuar algumas considerações sobre esses compostos.

Assim, representam uma importante classe de polifenóis sendo abundantes entre os metabólitos secundários, podendo ser encontrados em diversas formas estruturais, sendo que a maioria possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental. São atribuídas diversas funções a essa classe de metabólitos dentre as quais podemos citar: proteção dos vegetais contra raios ultravioletas, insetos, vírus e bactérias, inibição enzimática, alelopatia e ação antioxidante. São reconhecidas ainda, capacidades farmacológicas importantes para esse grupo de compostos como efeito antifúngico, antioxidante e cicatrizante (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Nesse aspecto, tem-se um amplo emprego terapêutico dos flavonóides, sendo-lhes também atribuídas propriedades antioxidantes as quais seriam responsáveis pela capacidade desses de inibição da peroxidação lipídica e agregação plaquetária. Também são reconhecidos seus potenciais anti-úlceras, antidiarréico, antifúngico, hepatoprotetor, antiviral, antinociceptivo e antitumoral (CHANG; KINGHORNE, 2001; RAO *et al.*, 2004; MIZUI; SHIMONO; DOTEUCHI, 1987; BRODY, 1994).

Adicionalmente, esses metabólitos teriam atividade antiinflamatória, a qual é explicada em parte, pela inibição da COX e também, ação hormonal, sendo que estudos já demonstram prevenção da fragilidade óssea e aumento da densidade óssea (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Com efeito, os flavonóides possuem potencial antiulcerogênico envolvendo a participação das prostaglandinas, do óxido nítrico e dos nervos sensoriais contra lesões gástricas induzidas por etanol em roedores (BRZOSOWSKI *et al.*, 2005).

## 1.7 Justificativa

O crescimento do interesse de pesquisadores vinculados à área da bioprospecção de produtos naturais reside em parte pelo desvelamento promissor de estudos que busquem investigar as propriedades farmacológicas e fitoquímicas, no caso específico deste trabalho, de espécies vegetais nativas. Acredita-se que esta inquietação encontra amparo particularmente, no sentido de subsidiar uma prática popular de inquestionável e inestimável valor cultural e que também funciona como base para a pesquisa nesse âmbito, e que ainda é tão marcada pela carência de validação científica.

O exposto também permite questionar aspectos de um país tão rico em diversidade biológica e ao mesmo tempo com tantas desigualdades de acesso aos serviços de saúde, a medicamentos sintéticos e a tecnologia em saúde. O uso popular de plantas consideradas medicinais por comunidades tradicionais, que garantem a divulgação e permanência deste saber popular por gerações que atravessam o tempo, é uma prática ainda bastante empregada no Brasil, quer seja em regiões rurais e até mesmo em grandes centros e que certamente, funciona como recurso primordial para o tratamento e a cura de doenças nessas populações.

Compreende-se que a comunidade científica tem o dever social de contribuir para o desenvolvimento do país e o uso racional dos recursos naturais. Ademais, o fortalecimento das práticas empíricas na Região do Cariri, mais especificamente na Chapada do Araripe, aí incluídas a medicina popular, a partir do levantamento da utilização deste saber, tanto na sua representação simbólica (imaginário popular) quanto em seu cotidiano, e da afirmação científica para o mesmo é demasiadamente relevante para o cumprimento do papel de pesquisadores, em que se refira de modo especial ao da Universidade Regional do Cariri – URCA, instituição pública de ensino superior inserida neste contexto regional.

Tendo em vista as propriedades atribuídas às espécies vegetais pertencentes ao Gênero *Stryphnodendron*, e considerando que a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. é endêmica da Região da Chapada do Araripe, tendo-se relatos de uso popular por comunidades tradicionais em nossa Região e ainda, sendo a mesma carente de maiores investigações científicas, foi despertado o interesse em identificar atividades biológicas atribuídas a essa espécie.

Desta feita, esta pesquisa é resultado de uma ideia compartilhada de um grupo de pesquisadores que estão afirmando seu compromisso com o crescimento e

desenvolvimento da Região do Cariri, tornando-se realidade, sobretudo, por meio das pesquisas vinculadas ao Programa de Mestrado em Bioprospecção Molecular, tem o objetivo principal e norteador de investigar possíveis propriedades bioativas da espécie nativa da Região, o *Stryphnodendron rotundifolium* Mart, aluídas por analogia a outras espécies do Gênero *Stryphnodendron* que demonstraram propriedades biológicas, conforme evidenciado através de estudos exposto já no presente trabalho.

Espera-se dessa maneira, que os resultados possam satisfazer a uma demanda acadêmica e à sociedade caririense ao passo em que não se poderia esquecer o mérito pretendido pelo caráter inovador do estudo, desconhecendo-se a existência de pesquisas semelhantes abordando as propriedades avaliadas.

## 2. OBJETIVOS

Na perspectiva de se obter mais informações sobre o uso popular de espécies do Gênero *Stryphnodendron* para diversos problemas de saúde, bem como, as investigações científicas já realizadas em torno de outras espécies, as quais puderam demonstrar potencial antiúlcera (MARTINS; LIMA; RAO, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2008), antioxidante e antifúngico (SANCHES *et al.*, 2005), antimicrobiano (ISHIDA *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2003; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007), analgésico (MELO *et al.*, 2007) e cicatrizante (EURIDES *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 2005; SILVA, 2006) e ainda, considerando-se a praticamente inexistência de estudos envolvendo a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., procurou-se desenvolver ensaios a partir da exploração do potencial biológico dessa espécie. Para tanto, o presente trabalho teve como objetivos:

### 2.1 Objetivo Geral

- Investigar atividades bioativas (gastroproteção e antimicrobiana) do extrato hidroalcolólico liofilizado das cascas do caule da espécie vegetal, *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. Fabaceae-Mimosoidae (Barbatimão) em modelos *in vivo* (camundongos) e *in vitro* (linhagens bacterianas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*).

### 2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver pesquisa etnofarmacológica sobre a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., para identificação das representações sociais sobre o imaginário popular e o cotidiano de uso da planta para fins medicinais nas comunidades da Região;
- Realizar teste de toxicidade aguda por via oral e intraperitoneal com determinação da DL50% do EHSR;
- Verificar o efeito antimicrobiano do EHSR contra linhagens bacterianas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e modulador de fármacos antibacterianos aminoglicosídeos.

- Avaliar o efeito antiulcerogênico do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina, e investigar possíveis mecanismos de ação do extrato;
- Determinar o efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal em camundongos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

##### 3.1.1 Material Botânico (Origem e Obtenção dos Extratos Vegetais)

A coleta de material para preparo da exsicata da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Figura 4) e para obtenção do EHSR foi realizada na Fazenda Barrero Grande, Crato-Ceará, em área de Cerrado da Chapada do Araripe (Figura 5), cujas características obtidas através de aparelho GPS foram:

- Sul: 7°; 22 minutos; 2,8 segundos;
- Longitude: oeste: 39°, 28 minutos; 42,4 segundos;
- Altitude: 892 metros acima do nível do mar.

Os procedimentos para preparo da exsicata seguiram as recomendações descritas por Ming 1996 *apud* Di Stasi (1996). O material foi depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA sob o número: 4661.

O material vegetal (cascas secas - 3710,5g de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.) foi submetido à extração a frio com água e etanol a 99,99% na proporção de 1:1 (8,7L de solvente), sendo que o solvente etanólico foi removido através do evaporizador rotatório, obtendo-se um rendimento de 627,8g de extrato bruto a partir da utilização do liofilizador, conforme evidenciado na tabela 1. O processo de obtenção do EHSR ocorreu conforme descrição demonstrada na figura 6.

**TABELA 1.** Massa seca e rendimento do Extrato hidroalcolico do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. - EHSR (g).

Espécie Biológica	Solvente	Cascas	Extrato Bruto
		Massa	Rendimento
<i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.	Água + Etanol (99,9%) – EHSR	3710,5g	627,8g

EHSR – Extrato Hidroalcolico de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.



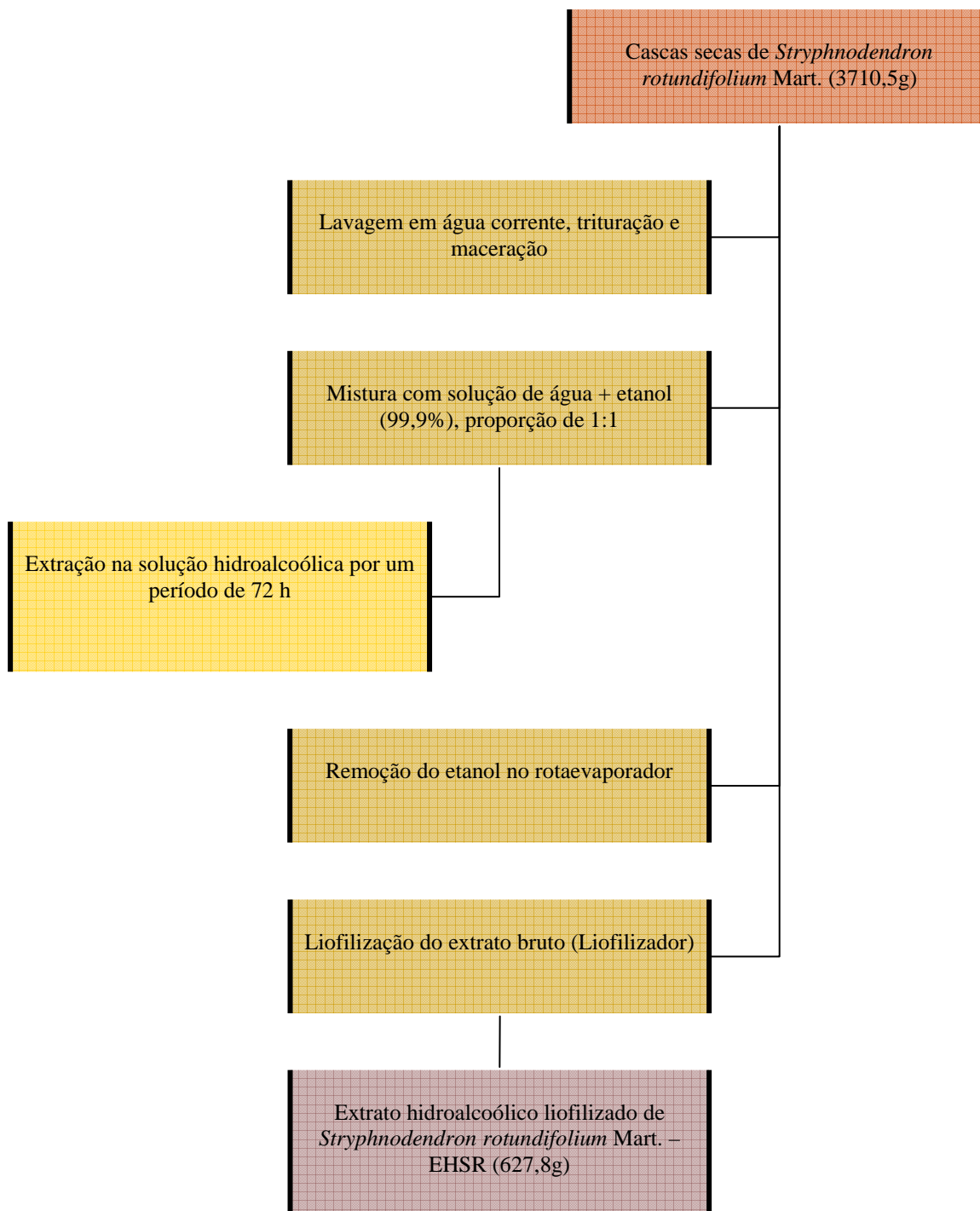


**FIGURA 4:** Exsicata da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Universidade Regional do Cariri - URCA).



**Fonte:** Arquivo pessoal da pesquisadora obtido por aparelho de GPS.

**FIGURA 5:** Distribuição da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. em área de cerrado da Chapada do Araripe, Nordeste, Brasil.



**FIGURA 6:** Fluxograma de obtenção do Extrato Hidroalcoólico de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. – EHSR.

### 3.1.2 Drogas e reagentes

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

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

### 3.1.3 Material permanente e equipamentos utilizados:

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

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

### 3.2 Prospecção Fitoquímica:

A determinação de classes dos metabólitos secundários presentes no EHSR se deu através do emprego da metodologia proposta por Matos (1997), a qual se baseia na observação visual de mudança de coloração ou formação de precipitado, após a adição de reagentes específicos.

Desse modo, a prospecção fitoquímica foi executada conforme descrito: a fração dos extratos hidroalcoólicos liofilizados obtidos das cascas secas da espécie *Stryhnodendron rotundifolium* Mart. (0,3g) foi diluída em água destilada (9ml) e etanol a 70% (21ml) e após a diluição, distribuídos em seis frascos, procedendo-se a partir de então, aos seguintes testes:

» **Teste para Fenóis e Taninos**, empregando-se 3 gotas de cloreto férrico para observação de alteração na cor e formação de precipitado pela adição de gelatina;

» **Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides**: para fins desse teste foi realizado o processo de acidualização (pH=3) através da adição de 18 gotas de ácido clorídrico – HCl;

» **Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas** foi realizado através de alcalinização a pH: 8,5 com hidróxido de sódio a 1% no primeiro frasco; de acidualizado (pH=3) por meio de 18 gotas de HCL e aquecimento por 2 minutos no segundo frasco; e de alcalinização (pH=11) com 18 gotas NAOH 1% e também aquecimento por 2 minutos do terceiro frasco;

» **Teste para Chauconas e Auronas**, através do processo de alcalinização (pH=11) com 18 gotas de NAOH 1%;

» **Teste para Alcalóides** foi realizado diluindo-se fração dos extratos hidroalcoólicos liofilizados obtidos das cascas (0,3g) em 30ml de ácido acético a 5% e 15ml de amônia, esta para alcalinização. Procedeu-se o aquecimento até fervura deste preparado, alcalinização com hidróxido de amônia a 10% (10ml), adição de clorofórmio (15ml),

homogeneização e repouso em funil de separação, coleta da fase clorofórmica em Béquer, evaporação do solvente, adição de ácido clorídico a 1%, homogeneização, aplicação sobre uma lâmina, aplicação de uma gota de reagente Dragendorff;

» **Teste para Esteróides e Triterpenóides** ocorreu a partir da diluição de fração dos extratos hidroalcolólicos liofilizados obtidos das cascas (0,3g) em 06ml de solução de clorofórmio, filtração com algodão coberto com sulfato de sódio, passagem do material para um tubo de ensaio, adição de 01ml de anidrido acético e de três gotas de ácido sulfúrico.

### 3.3 Aspectos Éticos do Estudo

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

Dessa formam, o estudo esteve em conformidade com as normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo seres vivos: humanos (Resolução N° 196/1996 e 301/2000 do Conselho Nacional de Saúde – CNS), animais não-humanos (*Guide for the care and use of laboratory animals, do NIH - National Institute of Health-EUA*, 1996; Princípio dos 3R's – *Replace, Reduce and Refine*, de Russel e Burch, 1959; Lei Federal N° 11.794/2008; Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA); e integridade da fauna e flora (Lei Federal N° 9605/1998) (BAZZANO, 2006; MACHADO *et al.*, 2006; BRASIL, 2008).

Desta feita, a pesquisa foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais - CEPA da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ e recebeu parecer favorável sob número de processo: 2009\_ 0433.

### 3.4 Animais

Os ensaios para observação da toxicidade aguda e da atividade gastroprotetora do EHSR foram desenvolvidos em camundongos *Swiss (Mus musculus)* fêmeas para o

primeiro, e ambos sexos para a avaliação da segunda atividade, com média de peso entre 20-30g. Os animais foram conduzidos para a sala de experimentação dois dias antes dos ensaios e mantidos em rotatividade de ciclo claro e escuro de 12:00h, sendo as luzes ligadas as 07:00h, mantidos com água comum e ração *ad libitum*. Um dia anterior aos testes os animais foram marcados e acondicionados em caixas em cama de maravalha, a ração foi retirada 15:00h antes dos ensaios, sendo a água sempre mantida. O peso de jejum foi determinado.

### 3.5 Métodos

#### 3.5.1 Tipologia do Estudo

Em conformidade com o objeto de pesquisa, desenvolveu-se um estudo experimental randomizado, este com capacidade de demonstrar causalidade (HULLEY *et al.*, 2003) em modelos animais, a partir da adoção de intervenções ativas, em um grupo caso, e bem controlada com o uso de um princípio ativo que se pretendeu por em prova (intervenção, neste caso, observando-se os possíveis efeitos bioativos do EHSR) e outro (grupo controle) que recebeu sempre uma abordagem/tratamento convencional, a partir de protocolos estabelecidos.

Para Gil (2002) a pesquisa experimental se caracteriza pela determinação do objeto de estudo, das variáveis que poderão exercer influência sobre este e das formas de controle e de verificação das influências que a variável produz sobre o objeto.

O mesmo autor enfatiza a relevância da distribuição aleatória (randomização) dos constituintes do grupo caso e do grupo controle, para que ambos tenham características semelhantes.

##### 3.5.1.1 Pesquisa Etnofarmacológica

Empregou-se um estudo randomizado, desenvolvido na área rural dos municípios de Crato e Santana do Cariri, no Estado do Ceará. Foi utilizado como critério de exclusão da amostra os informantes que desconheciam o uso do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Barbatimão) para fins medicinais. Desse modo, a amostra esteve representada por 33 informantes que atribuíram valor de uso medicinal para a espécie.

O período de estudo compreendeu os meses de junho e julho de 2009, no qual foram realizadas entrevistas semi-estruturadas com os informantes. Para fins de composição de amostra foi empregada a técnica de amostragem por saturação de dados (POLIT; BECK; HUNGLER, 2004). A análise dos dados ocorreu através da estatística descritiva (frequência simples e percentual), abordando-se o uso medicinal das espécies (modo de preparo e administração, partes utilizadas da espécie, a duração do tratamento e a frequência das doses e restrições ao uso); o índice de *Fidelity Level* (FL) – Nível de fidelidade, proposto por Friedman *et al.*, (1986) *apud* Albuquerque; Lucena; Cunha, (2008), conforme a fórmula:  $FL = I_p/I_u \times 100\%$ , onde:  $I_p$  = número de informantes que sugerem o uso de uma determinada espécie para uma proposta principal;  $I_u$  = número total de informantes que citaram a espécie para qualquer finalidade e da *Relative Frequency of Citation* (RFC) - Frequência relativa de citação, obtida a partir da razão  $FC/N$ , onde FC representa o número de informantes que mencionaram o uso da espécie e N, o número total de informantes do estudo (TARDIO; PARDO-DE-SANTAYANA, 2008).

### 3.5.2 Ensaios Pré-Clínicos Farmacológicos *in vivo*

#### 3.5.2.1 Investigação da Toxicidade Oral e Intraperitoneal Aguda do EHSR e *screening* hipocrático

##### a) Preparo dos animais

Para esta finalidade foram utilizados animais (camundongos – n: 5) fêmeas, peso médio (20-30g) selecionados randomicamente, acondicionados individualmente em caixas e aclimatizados em uma temperatura média de 22°C ( $\pm$  3°C), mantidos em ciclos claro/escuro de 12:00h cada, com ração padrão e água *ad libidum*, observados por um período de catorze dias (OECD, 2008).

##### b) Procedimento Experimental

O EHSR foi dissolvido em solução salina a 0,9% e administrado nas concentrações de 17.5, 55, 175, 500, 2000mg/Kg (dose única, sendo cada concentração administrada para um animal diferente), inicialmente, para administração por via oral e



após a observação por 24h, dada a não ocorrência de óbito nas doses anteriores, realizou-se a administração oral de 5000mg/Kg (v.o.). Efetuou-se ainda, a avaliação da toxicidade intraperitoneal do EHSR através da administração também em doses individualizadas, nas concentrações de 17.5, 36, 55, 175, 500 e 2000mg/Kg, sendo que o volume administrado foi de 0,1ml/10g de peso corporal por animal. Os animais foram observados por 14 dias (OECD, 2008).

Os animais foram observados quanto à atividade locomotora, frequência respiratória, piloereção, perda do reflexo corneano, movimentos estereotipados (tremores, bater a cabeça e morder-se), e ainda, quanto a morder a cauda, coçar o focinho e lamber as patas; sialorréia, contorções, a rigidez muscular, tremores finos e grosseiros, ocorrência de convulsões, sedação/letargia e alterações na micção - aumneto, diminuição e alteração na cor - e na eliminação fecal – diarreia - (OECD, 2008). Esses parâmetros foram avaliados hipocraticamente nas primeiras 24 horas da administração seguida da observação a cada 24:00h e registro sistemático. A dose letal média – DL50% foi calculada através do Programa LC50 *Moden System* (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977).

### 3.5.2.2 Investigação da Atividade Antibacteriana

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

Foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *Escherichia coli* (EC27) e *Staphylococcus aureus* (SA358) com perfil de resistência identificado na tabela 2. Todas as cepas foram mantidas em *slants* com *Heart Infusion Agar* (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes do ensaio, as células foram cultivadas durante a noite a 37°C em infusão cérebro coração, BHI, Difco Laboratories Ltda. (COUTINHO *et al.*, 2005).

**TABELA 2.** Origem Bacteriana e Perfil de Resistência a antibióticos.

<b>Bactéria</b>	<b>Origem</b>	<b>Perfil de Resistência</b>
<i>E. coli</i> 27	Ferida	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im,
	cirúrgica	Can, Szt, Tet, Tob

*S. aureus* 358 Ferida  
cirúrgica Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net

---

Ast – Aztreonan; Ax – Amoxicilina; Amp – Ampicilina; Ami – Amicacina; Amox – Amoxicilina; Ca – Cefadroxil; Cfc – Cefaclor; Cf – Cefalotina; Caz – Ceftazidima; Cip – Ciprofloxacina; Clo – Cloranfenicol; Im – Imipenem; Can – Canamicina; Szt – Sulfametrim; Tet – Tetraciclina; Tob – Tobramicina; Oxa – Oxacilina; Gen – Gentamicina; Neo – Neomicina; Para – Paramomicina; But – Butirosina; Sis – Sisomicina; Net – Netilmicina.

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

A Concentração inibitória mínima (CIM) do EHSR foi determinada em um ensaio de microdiluição, utilizando-se um inóculo de 100µL de cada linhagem bacteriana, suspensas em caldo *Brain Heart Infusion* – BHI até uma concentração final de  $10^5$  colony-forming units/mL em placas de microdiluição com 96 poços, com diluições em série  $^{1/2}$ . Em cada poço foi adicionado 100µL de solução de EHSR. As concentrações finais do extrato foram 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8µg/mL. As CIM<sub>s</sub> foram registradas como as menores concentrações para inibição do crescimento.

O efeito potencializador do EHSR (8µg/mL) foi testado em combinação com os aminoglicosídeos (Gentamicina, Canamicina, Neomicina e Amicacina) pela técnica de microdiluição, nas concentrações finais de 2500, 1250, 625, 312, 156.5, 79, 39, 19.5, 9.7, 4.9, 2.5µg/mL.

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

### 3.5.2.3 Investigação da Atividade Gastroprotetora

a) Lesão gástrica induzida pela administração oral de Etanol absoluto (ROBERT *et al.*, 1979)

Para fins desse teste foram utilizados camundongos *Swiss*, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Jejum por um período de 15:00h, obtenção do peso e identificação. Realizou-se um *screening* de doses do EHSR (10, 25, 50, 100, 250 e 500 mg/Kg, para o tratamento via oral, o omeprazol (30mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) 1h antes da administração do etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, escaneados e digitalizados, com posterior análise através do *software* (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

Para avaliação do efeito gastroprotetor do EHSR pela via intraperitoneal, administrou-se o EHSR nas doses de 5 e 20mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes da administração do etanol<sub>abs</sub>. Decorridos 30 minutos do etanol, os animais foram sacrificados e receberam o mesmo procedimento descrito anteriormente.

b) Lesão gástrica induzida por Etanol acidificado (MIZUI; SHIMONO; DOTEUCHI 1987)

Para fins de investigação dessa atividade foram utilizados camundongos *Swiss*, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Jejum por um período de 15:00h, obtenção do peso e identificação. Receberam tratamento com o EHSR (10, 25, 50, 100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), o omeprazol (30mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g para o grupo controle lesionado). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de uma solução 0,3 M de ácido clorídico - HCl em etanol a 60 % e após 1 hora foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, escaneados e digitalizados, com posterior análise através do *software* (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

c) Lesão gástrica induzida por Indometacina (DJAHANGUIRI, 1969).

Esta investigação se deu através do uso de camundongos *Swiss*, divididos em grupos (n=6), seguindo-se o protocolo experimental: Os animais foram colocados em jejum por um período de 15:00h, em seguida, pesados e identificados. Administrou-se tratamento com o EHSR (100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), o omeprazol (30mg/Kg, para o grupo controle positivo), ou o veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g para o grupo controle lesionado). Após uma hora foi administrado subcutaneamente a indometacina (10mg/Kg) e após três horas da administração do agente lesivo, foram repetidos os tratamentos com o veículo, o extrato e o omeprazol. Seis horas após a administração da indometacina, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados, abertos ao longo da grande curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas, escaneados e digitalizados, com posterior análise através do *software* (ImageJ). A área lesionada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico. Empregou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

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

Para fins de estudo dos mecanismos possivelmente envolvidos no efeito gastroprotetor do EHSR, empregou-se a dose eleita como a mais efetiva, sendo eleita a dose de 100mg/Kg do EHSR, a partir do *screening* de doses realizado com a administração via oral de etanol acidificado. Assim, testaram-se cinco mecanismos de provável ação gastroprotetora do extrato.

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

Utilizaram-se camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00h, tratados com EHSR (100mg/Kg, v.o.), L-NAME (10 mg/kg, i.p.), L-Arginina (600mg/Kg v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 30 minutos ou 1h antes da administração etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento do óxido nítrico foi avaliado pela administração do EHSR (100mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00h antes do L-NAME, sendo que após 30

minutos deste foi administrado etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos analisados como descrito anteriormente. O controle lesionado recebeu solução salina (0,2ml/animal) 30 minutos antes da administração do etanol e após, 30 minutos, o sacrifício. Um grupo de animais recebeu EHSR (100mg/Kg, v.o.) 01:00h antes do etanol e este, 30 minutos antes do sacrifício.

Empregou-se ainda, L-Arginina (600mg/Kg v.o.) 01:00h antes do etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) e decorridos 30 min da administração deste, os animais foram sacrificados e, prosseguiu-se a análise dos estômagos. A ação ulcerogênica do L-NAME (através da inibição da síntese de óxido nítrico) foi testada a partir da administração deste, 30 minutos antes do etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) e após 30 minutos deste último, procedeu-se ao sacrifício. Utilizou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Envolvimento dos Canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP (RAHGOZAR *et al.*, 2001)

Foram empregados camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00h, tratados com EHSR (100mg/Kg, v.o.), glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 30 minutos antes da administração etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento dos canais de potássio dependentes de ATP foi avaliado pela administração do EHSR (100mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00h antes da glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) e após 30 minutos, administrou-se o etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo. O grupo controle foi tratado pela administração de glibenclamida (5 mg/kg, i.p.) 30 minutos antes da administração do etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) e com 30 minutos, os animais receberam o sacrifício. Empregou-se o programa *Prisma* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística. Empregou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

- Envolvimento das Prostaglandinas (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999)

Utilizaram-se camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00h, tratados com EHSR (100mg/Kg, v.o.), indometacina (10

mg/kg, v.o.), Misoprostol (0,016mg/Kg v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 1:00h-2:00h antes da administração etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento das prostaglandinas foi avaliado pela administração do EHSR (100mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00h antes da indometacina (10 mg/kg, v.o.), sendo que após 02:00h desta foi administrado etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos analisados. O controle lesionado recebeu solução salina (0,2ml/animal) 30 minutos antes da administração do etanol e após, 30 minutos, o sacrifício. Um grupo de animais recebeu EHSR (100mg/Kg, v.o.) 01:00h antes do etanol e este, 30 minutos antes do sacrifício.

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

#### - Envolvimento dos Receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub>

Foram empregados camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00h, tratados com EHSR (100mg/Kg, v.o.), ioimbina (2 mg/kg, i.p.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 30 minutos antes da administração etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.).

O envolvimento dos receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub> foi avaliado pela administração do EHSR (100mg/Kg, v.o. – Grupo tratado) 01:00h antes da Ioimbina (2 mg/kg, i.p.) e após 30 minutos, administrou-se o etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo. O grupo controle foi tratado pela administração de ioimbina (2 mg/kg, i.p.) 30 minutos antes da administração do etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) e com 30 minutos, os animais receberam o sacrifício. Empregou-se o programa *Software GraphPad Prism* versão 5.0, Teste de Newman-Keuls, para expressão estatística.

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

Para avaliação do possível efeito potencializador do EHSR em associação à capsaicina, foram empregados camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=7), mantidos em jejum por 15:00h, tratados com EHSR (5mg/Kg, v.o.), capsaicina (0,2mg/kg, v.o.) ou veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.) 01:00h ou 30 minutos antes da administração etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.).

Administrou-se o EHSR (5mg/Kg; v.o. – Grupo tratado) 01:00h antes da capsaicina (0,2mg/kg, v.o.) e após 01:00h, administrou-se o etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol os animais foram sacrificados, os estômagos analisados conforme já referido nesse capítulo.

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

### 3.5.2.3 Determinação da Motilidade Intestinal (STICKNEY; NORTHUP, 1959 *apud* LAPA *et al*, 2008)

Para fins dessa investigação foram utilizados camundongos *Swiss*, ambos sexos, divididos em grupos (n=6), mantidos em jejum por 16:00h, os quais foram tratados com EHSR (5 e 100mg/Kg, v.o.), veículo (solução salina a 0,9%, 0,1ml/10g v.o.), Atropina (0,01g/Kg v.o.) e carvão ativado a 10% (0,1ml/10g v.o.). Procedeu-se então, a administração do EHSR, da Atropina ou veículo, e após 01:00h, administrou-se o carvão ativado. Decorridos 30 minutos deste, efetuou-se o sacrifício dos animais, os quais tiveram seu intestino delgado removido, procedendo-se então, a medição do comprimento total do intestino (da região gastropilórica até a junção ileocecal) e da distância percorrida pelo carvão do piloro à última porção do intestino que conteve pelo menos 1cm contínuo de carvão calculando a razão do último pelo primeiro.

O efeito da associação do EHSR à atropina foi realizado a partir da administração do extrato (5mg/Kg, v.o.) em um grupo, da atropina (0,001g/Kg, v.o.) em outro, e ainda, da combinação de ambos (EHSR e atropina, nessas doses) em um terceiro grupo, e após 01:00h, o carvão ativado a 10% (0,1ml/10g v.o.). Decorridos 30 minutos deste, efetuou-se o sacrifício dos animais, procedendo-se conforme descrito acima.

### 3.6 Expressão dos Dados e Análise Estatística

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

### 3.7 Instituições Parceiras e Financiamento

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

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



## 4. RESULTADOS

### 4.1 Prospecção Fitoquímica

Empregando-se reações fitoquímicas com vistas à identificação de classes de metabólitos secundários presentes no EHSR, observamos, a partir dos seguintes testes:

- » **Teste para Fenóis e Taninos:** Formação de uma coloração azul e formação de precipitado branco após a adição de gelatina, os quais denotaram a **presença de taninos pirogálicos;**
- » **Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides:** A não observância de modificações na coloração demonstrou a **presença de flavonas, flavonóis, xantonas e flavononóis;**
- » **Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas** A inalteração de cor no frasco 2, o qual foi acidualizado a pH=3, pode demonstrar a **presença de flavononas;** e ainda, a cor vermelho laranja do frasco 3, o qual recebeu processo de alcalinização a pH=11, pode revelar a **presença de flavononas** também;
- » **Teste para Chauconas e Auronas:** A coloração vermelho-púrpuro evidenciou a presença de **chauconas e auronas;**
- » **Teste para Alcalóides:** A formação de precipitado foi indicativa da **presença de alcalóides;**
- » **Teste para Esteróides e Triterpenóides:** A coloração verde indicou a **presença de esteróides.**

Assim, conforme descrito acima, a prospecção fitoquímica do EHSR permitiu identificar a presença de taninos pirogálicos, flavonas, flavonóis, flavononóis, xantonas, chalconas, flavononas e esteróides, possivelmente envolvidos nas propriedades bioativas avaliadas, conforme evidenciado na tabela 3.

**TABELA 3.** Prospecção Fitoquímica do Extrato Hidroalcoólico do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. – EHSR.

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
EHSR	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+

1 – Fenóis; 2 – Taninos Pirogálicos; 3 – Taninos Flobatênicos; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chauconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Alcalóides; 16 – Terpenos; 17 – Esteróides; (+) presença; (-) ausência.

## 4.2 Dados da Pesquisa Etnofarmacológica

### Informantes

Foram entrevistados 33 informantes, cujas características se encontram elencadas na tabela 04, a qual evidencia prevalência geográfica, 19 (51,52%) entrevistados para o município de Santana do Cariri – CE, e também 18 (54,55%) destes situados na faixa etária de 40 a 59 anos, 06 (18,19%) apresentando entre 50 a menos de 60 anos de residência na área, 17 (51,52%) participantes do sexo masculino, 25 (75,76%) exercem a ocupação de agricultores e 22 (66,67%) informaram não exercer atividade laboral com plantas medicinais.

**TABELA 4:** Perfil dos informantes da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Barbatimão) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri - CE.

<b>Município</b>	<b>Localidade</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Crato - CE	Sítio Matinha	02	6,06
	Sítio Mata Velha	04	12,12
	Sítio Barreiro Grande	05	15,15
	Sítio Baixa da Garganta	03	9,09
Santana do Cariri - CE	Sítio Lírio	02	6,06
	Sítio Guritiba	17	51,52
<b>Faixa etária</b>			
	23-39	08	24,24
	40-59	18	54,55
	60-80	07	21,21
<b>Sexo</b>			
	Masculino	17	51,52
	Feminino	16	48,48
<b>Tempo de residência na área</b>			
	< 5 anos	05	15,15
	≥ 5 < 10 anos	04	12,12
	≥ 10 < 20 anos	03	9,09
	≥ 20 < 30 anos	03	9,09
	> 30 < 40 anos	05	15,15
	> 40 < 50 anos	04	12,12
	≥ 50 < 60 anos	06	18,19
	> 60 < 75 anos	03	9,09
<b>Ocupação</b>			
	Agricultor(a)	25	75,76
	Motorista	01	3,03
	Domestica	01	3,03
	Comerciante	02	6,06
	Merendeira	01	3,03

Auxiliar de serviços gerais	01	3,03
Professora	01	3,03
Agente comunitário de saúde	01	3,03
<b>Atividade laboral com plantas medicinais</b>		
Sim	10	30,30
Não	22	66,67
Não informado	01	3,03

#### **Dados Etnofarmacológicos da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.**

O nível de fidelidade identificado para a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Barbatimão) a cerca do uso medicinal nas duas localidades investigadas (Crato e Santana do Cariri – CE) se encontra disposto na tabela 5. Dentre as indicações medicinais relatadas, o uso para ferimentos é apontado nas duas localidades apresentando para Crato e Santana do Cariri–CE, nível de fidelidade de 61,5% e 52,6%, respectivamente, sendo o maior para estes municípios. Merece destaque também o uso para inflamação que constituiu 46,1% e 42,1% para Crato e Santana do Cariri-CE, respectivamente. A indicação para gastrite é referida nas duas localidades, sendo de 38,5% para Crato-CE e 21% para Santana do Cariri-CE.

**TABELA 5:** Comparação do *Fidelity Level* (FL) sobre as indicações medicinais do *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Barbatimão) em áreas da Biorregião do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.

CRATO - CE		SANTANA DO CARIRI - CE	
DOENÇAS	FL	DOENÇAS	FL
Ferimentos	61.5	Ferimentos	52.6
Inflamação	46.1	Inflamação	42.1
Gastrite	38.5	Inflamações do aparelho reprodutor feminino	21.0
Inflamação vaginal	38.5	Gastrite/úlcera	21.0
Algias	30.8	Infecção	10.5
Infecção	23.0	Efeito abortivo	5.3
Algias osteomusculares	15.4	Neoplasia	5.3
Doenças da próstata	15.4	Doença sexualmente transmissível	5.3
Reumatismo	7.7	Hipertensão	5.3
Dermatoses	7.7	Queimaduras	5.3
Menopausa	7.7	Cicatrização pós-parto	5.3
Cálculo renal	7.7	Gripe	5.3
Doenças pulmonares	7.7		

A *Relative Frequency of Citation* (RFC) está reportada na tabela 6, sendo de 0,42 no município de Crato e 0,58 em Santana do Cariri-CE, com RFC total de 1,00.

**TABELA 6:** *Relative Frequency of Citation* (RFC) da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (Barbatimão) em áreas da Chapada do Araripe, Crato e Santana do Cariri – CE.

	Crato	Santana do Cariri	RFC Total
<b>Espécie</b>			
<i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart.	0,42	0,58	1,00

Evidencia-se, portanto, que a maior RFC esteve identificada para a localidade de Santana do Cariri-CE, tendo em vista que o maior percentual de entrevistados foi deste município.

A tabela 7 apresenta a descrição sobre as partes da planta utilizadas pelos informantes para fins medicinais. Assim, as cascas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. constituem a parte mais amplamente utilizada (86,11%), seguida pelas raízes (11,11%) e folhas (2,78%).

**TABELA 7:** Parte da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. utilizada pelos informantes.

Parte da espécie	Número de citações (36)	%
Casca	31	86,11
Raiz	4	11,11
Folha	1	2,78

Tendo em vista que a grande maioria dos informates utiliza as cascas para fins medicinais foi investigado o modo de preparo medicinal dessa parte da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., estando o mesmo descrito na tabela 08. Observou-se que a imersão em água e decocto com água representaram os modos mais prevalentes, estes situados em 53,19% e 27,65%, respectivamente.

**TABELA 8:** Modo de preparo das cascas para uso medicinal da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Modo de preparo	Número de citações (47)	%
Imersão em água	25	53,19
Imersão em aguardente	2	4,25
Decocto com água	13	27,65
Decocto com mel	1	2,12
Decocto com vinagre e eucalipto	1	2,12
Maceração	5	10,67

Os métodos de aplicação medicinal da espécie foram descritos pelas comunidades e se encontram reunidos na tabela 9. Desta forma, os modos de aplicação mais amplamente empregados para as espécies foram a ingestão oral, a aplicação tópica e o banho, sendo relatado os seguintes percentuais: 48,43, 25,00 e 14,06% respectivamente.

**TABELA 9:** Métodos de aplicação medicinal da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Métodos	Número de citações (64)	%
Oral	31	48,43
Tópica (contato direto)	16	25,00
Higiene íntima	7	10,94
Banho	9	14,06
Limpeza de ferimentos e lesões	1	1,57

Buscou-se ainda, identificar a relação entre a indicação medicinal, a duração do tratamento e a frequência de doses empregadas no uso medicinal da espécie, aspectos estes descritos na tabela 10.

Observou-se, portanto, para cada afecção referida, uma variação na duração da terapêutica e na frequência das doses. Como também, em relação ao tempo de tratamento empregado, pode-se verificar que este variou desde indeterminado até 30 dias, e ainda que a frequência da dose esteve situada entre 1 a 3 vezes por dia.

Em geral, para os processos inflamatórios e infecciosos o tratamento empregado pelas comunidades varia entre 3-10 dias e a frequência das doses entre 2-3 vezes/dia. Para a terapia antiúlcera, o tratamento seria mais duradouro, até no máximo 30 dias, sendo a dose administrada 1-3 vezes/dia. Para os processos álgicos, a terapia pode ser desde 2-3 dias até duração indeterminada.

**Tabela 10:** Indicação medicinal *versus* duração do tratamento e frequência de doses da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Indicação	Duração do tratamento	Frequência da dose
Gastrite/úlcera	10-30 dias	1-3 vezes/dia
Infecção/inflamação e ferimentos	3-10 dias	2-3 vezes/dia
Infecção vaginal	7 dias	3 vezes/dia; 1 higiene íntima ao dia
Dor	2-3 dias	2 vezes/dia
Dor osteomuscular	Indeterminada	3 vezes/dia
Abortivo	3 dias	2-3 vezes/dia
Doenças pulmonares	Indeterminada	2 vezes/dia

Os dados etnofarmacológicos sobre a espécie foram complementados com a investigação de possíveis restrições aos seus usos, a partir dos informantes, conforme elucidado na tabela 11. Dessa forma, merece destaque o fato dos informantes mencionarem que a espécie não apresenta restrições ao uso, sendo esta informação prevalente, representando 46,87%, seguida da restrição em gestantes, esta com 25,00%.

**TABELA 11:** Restrições ao uso medicinal da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart.

Restrições	Número de informantes (32)	%
Gestação	08	25,00
Em crianças	7	21,87
Cardiopatias	1	3,12
Hipotensão	1	3,12
Não apresenta	15	46,87

Analisando-se a literatura é possível mencionar a inexistência de estudos que esclareçam os efeitos tóxicos da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., o que denota a importância de se investir em investigações sobre esse efeito.



### 4.3 Dados sobre a Toxicidade Oral e Intraperitoneal Aguda do EHSR

A partir da compreensão da relevância de se conhecer os efeitos tóxicos do EHSR investigado e considerando, a inexistência de estudos anteriores em torno da toxicidade da espécie vegetal ora avaliada, realizou-se teste hipocrático para toxicidade oral e intraperitoneal aguda em camundongos, com observação por um período de 14 dias, empregando-se as doses de 17,5, 55, 175, 550, 2000 e 5000mg/Kg v.o. e de 17,5, 36, 55, 175, 550, 2000, intraperitoneal, segundo protocolo da OECD (2008). A dose de 36mg/Kg i.p. representou uma média entre as doses de 17,5 e 55mg/Kg, já que não houve morte do animal para a primeira dose, fato que ocorreu para a segunda dose.

Nesse sentido, não houve sinais de morbidade relevante, tampouco mortalidade no grupo tratado por via oral, com exceção do animal que recebeu a dosagem de 5000mg/Kg v.o., o qual evoluiu a óbito no 6º dia de acompanhamento. Com base nesses dados, a DL50% do EHSR para a administração por via oral foi de 3162.28mg/Kg, com intervalo de confiança de 95,00%.

No entanto, para os animais que receberam o EHSR via intraperitoneal, a única dose que não condicionou ao óbito foi a de 17.5mg/Kg, sendo que todas as demais o fizeram em até duas horas após a administração. Assim, a DL50% para a administração intraperitoneal do EHSR foi de 31.02mg/Kg, com intervalo de confiança de 95,00%.

Os animais que receberam as doses por via oral demonstraram diminuição da atividade locomotora e dispnéia, demonstrando recuperação em quatro horas. Entretanto, o grupo tratado com as doses de 36, 55, 175, 550 e 2000mg/Kg por via intraperitoneal apresentaram tremores, convulsões e rigidez muscular evoluindo a óbito entre 30 minutos a 2 horas, exceção feita ao animal tratado com 17.5mg/Kg, o qual manifestou passividade e dispnéia, recuperando-se em torno de quatro horas.

### 4.4 Atividade Microbiológica do EHSR

Para a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., a investigação da atividade moduladora de extrato hidroalcoólico obtido a partir das cascas representa um ensaio pioneiro e promissor para o surgimento de novas drogas antimicrobianas.

Desse modo, o EHSR demonstrou atividade antimicrobiana limitada (valores de CIM $\geq$ 512 $\mu$ g/mL). Entretanto, na concentração de 8 $\mu$ g/ml, quando combinado com os

antibióticos testados (tabela 12) demonstrou efeito potencializador importante quanto à ação antibacteriana das drogas utilizadas para controle.

**TABELA 12.** Valores de CIM ( $\mu\text{g/ml}$ ) e aminoglicosídeos na presença e ausência de  $8\mu\text{g/mL}$  de EHSR contra linhagens de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.

Antibióticos	EC 27		SA358	
	CIM + ATB*	CIM + EHSR (8 $\mu\text{g/mL}$ )	CIM	CIM + EHSR (8 $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Gentamicina</b>	2500	19,5	39	2,4
<b>Canamicina</b>	2500	62,5	2500	312,5
<b>Amicacina</b>	156,2	9,7	78,1	9,7
<b>Neomicina</b>	312,5	39	312,5	9,7

CIM = Concentração Inibitória Mínima do EHSR ( $512\mu\text{g/mL}$ )

\*ATB = Antibióticos.

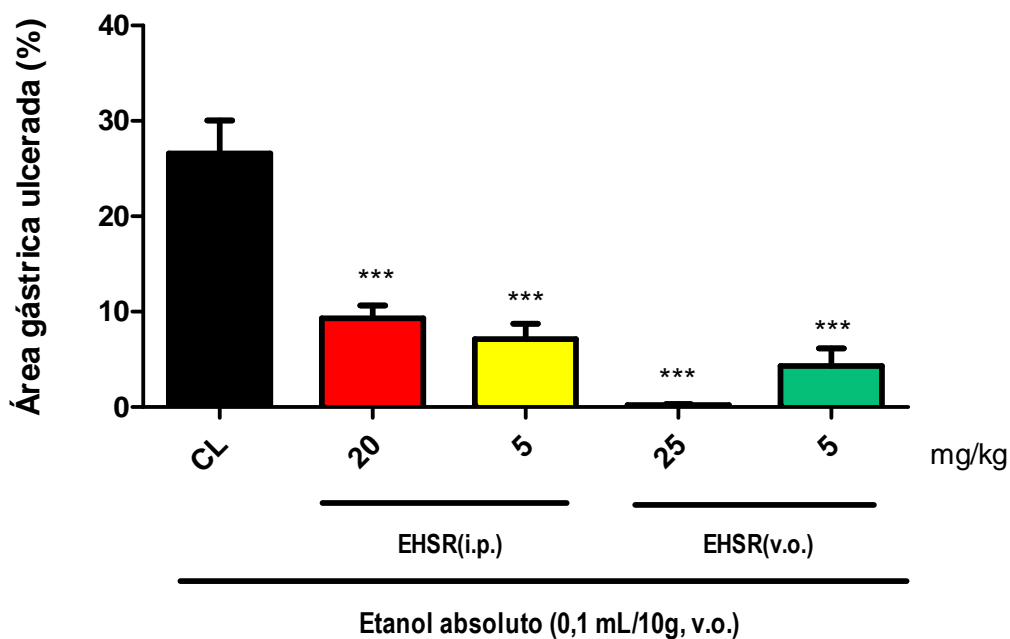
#### 4.5 Dados sobre o Efeito Antiulcerogênico e Mecanismos de Ação Gastroprotetora do EHSR

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

Os efeitos do EHSR em lesões gástricas induzidas por etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, i.p.) estão demonstrados na figura 7. Assim, os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram extensa área de lesão gástrica ( $26,60\pm 3,43\%$ ). O EHSR foi testado nas doses de 5 e 20mg/Kg; i.p., apresentando significativo ( $p<0,001$ ) efeito gastroprotetor, com percentuais de áreas ulceradas de  $7,13\pm 1,63\%$  e de  $9,30\pm 1,35\%$ , respectivamente, e ainda, percentuais de redução de lesões gástricas de 73,19% e 65,04%, respectivamente.

A administração do EHSR (5 e 25mg/Kg, v.o.), não evidenciou diferenças significativas nos percentuais de áreas ulceradas ( $4,31\pm 1,82\%$  e  $0,20\pm 0,11\%$ , respectivamente) quando comparadas às doses de 5 e 20mg/Kg (i.p.) vs controle

lesionado, embora tenham apresentado percentuais de redução de áreas ulceradas de 83,73% e 99,24%, respectivamente.

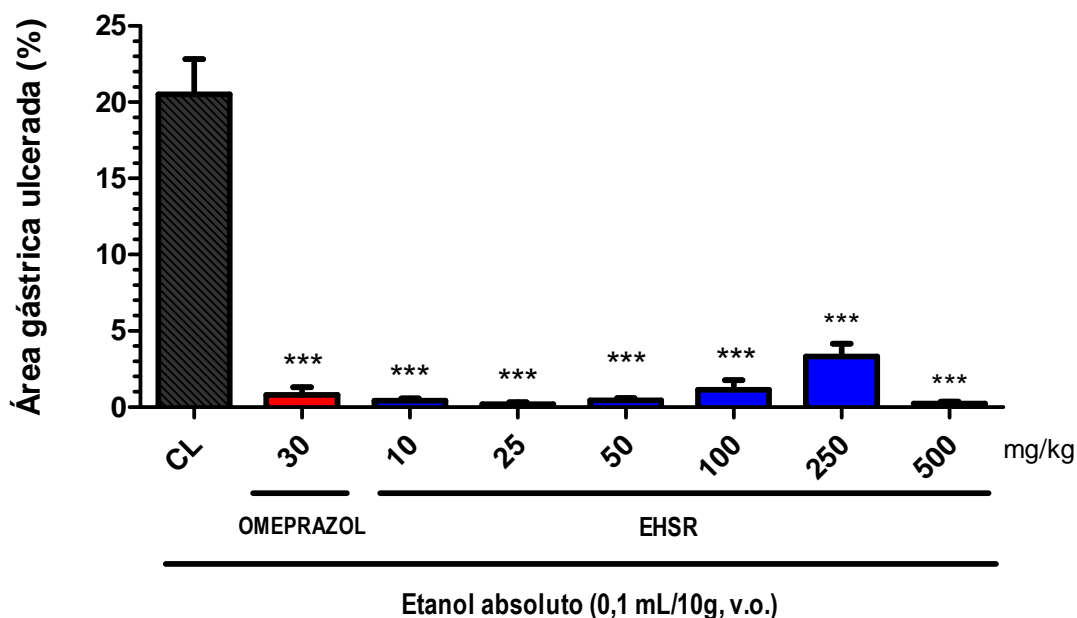


**FIGURA 07 - Efeito da administração intraperitoneal do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g; v.o.), o EHSR (5 e 20mg/Kg; i.p.) e EHSR (5 e 25mg/Kg; v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de etanol absoluto; (v.o.) Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significante  $p > 0,05$  e  $***p < 0,001$  vs CL (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).











#### 4.5.2 Efeito da administração oral do EHSR em lesões gástricas induzidas pela administração oral de etanol absoluto em camundongos.

Os efeitos do EHSR em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) estão demonstrados na figura 8. Assim, os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram extensa área de lesão gástrica ( $20,52 \pm 2,29\%$ ). O EHSR apresentou redução significativa nas áreas lesionadas por etanol<sub>abs</sub>, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 10mg/Kg ( $0,41 \pm 0,16\%$  e 98%), 25 mg/Kg ( $0,20 \pm 0,11\%$  e 99,02%), 50 mg/Kg ( $0,43 \pm 0,15\%$  e 97,90%), 100 mg/Kg ( $0,12 \pm 0,62\%$  e 99,41%), 250 mg/Kg ( $3,32 \pm 0,82\%$  e 83,82%) e 500mg/Kg ( $0,23 \pm 0,12\%$  e 98,87%), respectivamente, evidenciando valores de  $p < 0,001$  em todas as doses quando comparado ao controle lesionado. Os animais que receberam omeprazol (30mg/Kg v.o.)

também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de úlceras, sendo estes de  $0,80 \pm 0,50\%$  e  $96,10\%$ , respectivamente, com valores de  $p < 0,001$  comparado ao controle.



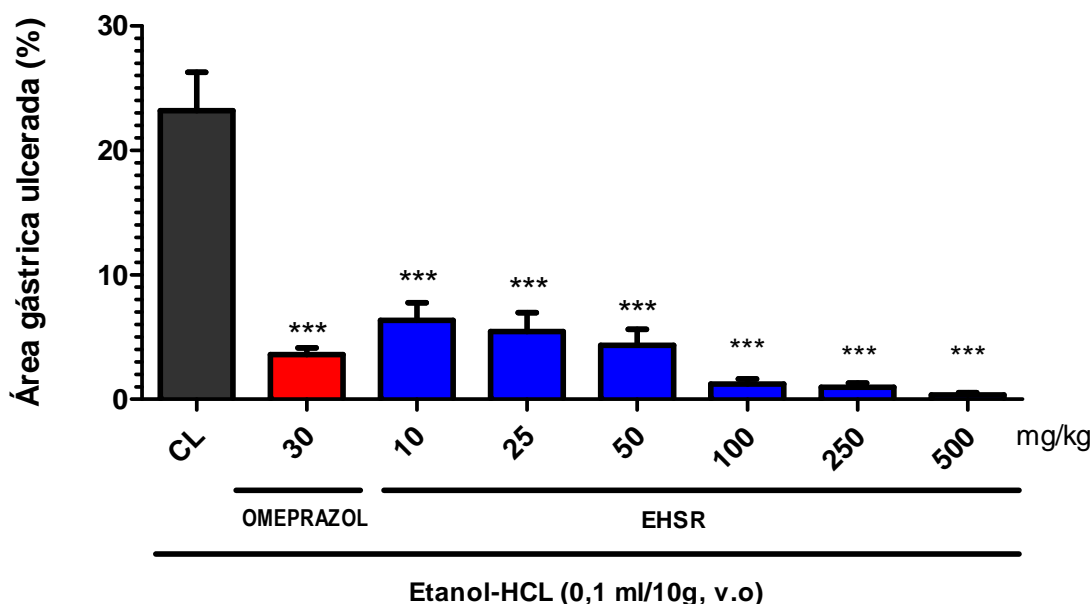
**FIGURA 08 - Efeito da administração oral do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), o EHSR (10, 25, 50, 100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30mg/kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e  $***p < 0,001$ , significativo quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com omeprazol (30mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (500mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (250mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (50mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (25mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHFCC (10mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (5mg/Kg, i.p.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (20mg/Kg, i.p.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal)

**FIGURA 09** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto.






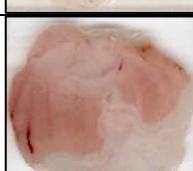


#### 4.5.3 Efeito do EHSR em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.

Os efeitos do EHSR em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado (0,2 mL/animal, v.o.) estão demonstrados na figura 10. Desse modo, os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol acidificado obtiveram extensa área de lesão gástrica ( $23,19 \pm 3,09\%$ ). O EHSR apresentou redução significativa nas áreas lesionadas por administração de etanol acidificado, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 10mg/Kg ( $6,35 \pm 1,42\%$  e  $72,62\%$ ), 25 mg/Kg ( $5,45 \pm 1,50\%$  e  $76,50\%$ ), 50 mg/Kg ( $4,34 \pm 1,29\%$  e  $81,29\%$ ), 100 mg/Kg ( $1,22 \pm 0,40\%$  e  $94,74\%$ ), 250 mg/Kg ( $0,99 \pm 0,30\%$  e  $95,73\%$ ) e 500mg/Kg ( $0,36 \pm 0,16\%$  e  $98,44\%$ ), respectivamente, evidenciando valores de  $p < 0,001$  em todas as doses quando comparado ao controle. Os animais que receberam omeprazol (30mg/Kg v.o.) também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de úlceras, sendo estes de  $3,58 \pm 0,56\%$  e  $84,57\%$ , respectivamente, com valores de  $p < 0,001$  comparado ao controle.



**FIGURA 10 - Efeito do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.** Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), o EHSR (10, 25, 50, 100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30mg/kg, v.o.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam 0,2 mL de uma solução 0,3 M de HCl em etanol 60 %. Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e  $***p < 0,001$

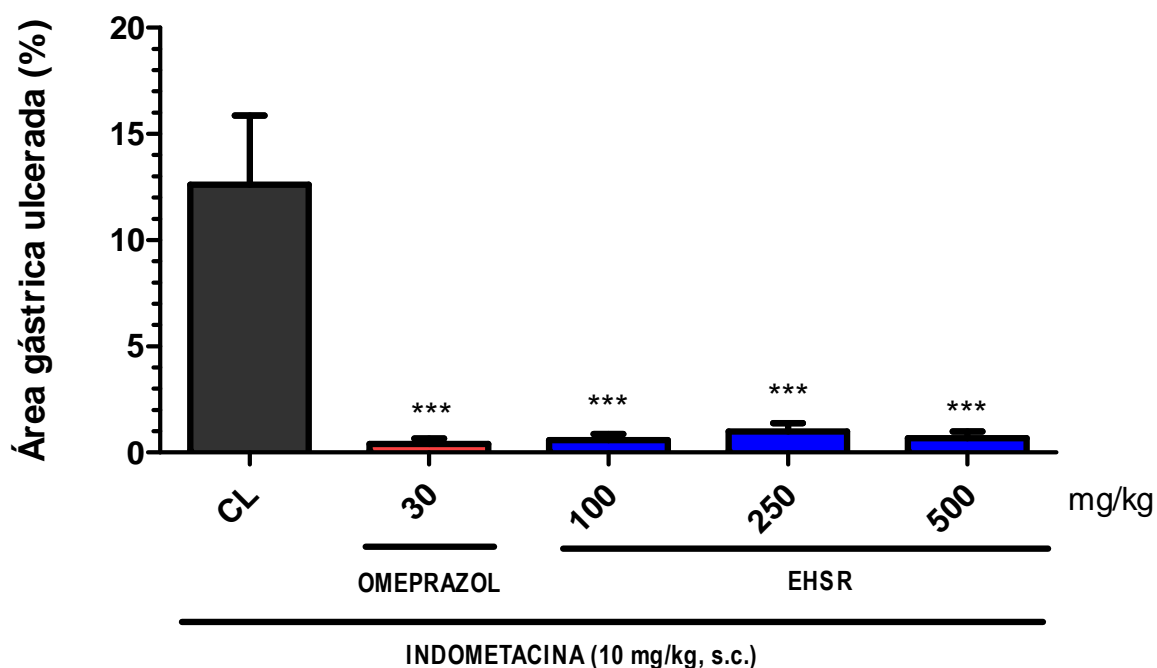
significante quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com omeprazol (30mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (500mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (250mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (50mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (25mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (10mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol acidificado (0,2 mL/animal)

**FIGURA 11** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por etanol acidificado.

#### 4.5.4 Efeito do EHSR em lesões gástricas induzidas por DAINE (Indometacina) em camundongos.






Os efeitos do EHSR em várias dosagens, em lesões gástricas induzidas por indometacina (10mg/Kg, s.c.) estão demonstrados na figura 12. Dessa forma, os animais que receberam somente veículo em associação à administração subcutânea de indometacina obtiveram maior área de lesão gástrica ( $12,61 \pm 3,27\%$ ). O EHSR apresentou redução significativa nas áreas lesionadas por administração de indometacina, em todas as doses testadas e significativo percentual de redução de úlceras, as quais foram de: 100 mg/Kg ( $0,59 \pm 0,28\%$  e 95,32%), 250 mg/Kg ( $0,99 \pm 0,39\%$  e 92,14%) e 500mg/Kg ( $0,67 \pm 0,31\%$  e 94,68%), respectivamente, evidenciando valores de  $p < 0,001$  em todas as doses quando comparado ao controle. Os animais que receberam omeprazol (30mg/Kg v.o.) também demonstraram redução significativa nas áreas gástricas lesionadas e significativo percentual de redução de úlceras, sendo estes de  $0,40 \pm 0,24\%$  e 96,82%, respectivamente, com valores de  $p < 0,001$  comparado ao controle.



**FIGURA 12 - Efeito do EHSR sobre as lesões gástricas induzidas por DAINE (Indometacina) em camundongos.** Os animais foram tratados com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), o EHSR (100, 250 e 500 mg/Kg, v.o.), ou o omeprazol (30mg/kg, v.o.). Uma hora após a administração da indometacina (10mg/Kg, s.c.) e após três horas, foram repetidos os tratamentos com o veículo, o EHSR e o omeprazol.



Cada grupo representa a média de 6 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e  $***p < 0,001$ , significativo quando comparado ao grupo controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman Keuls).

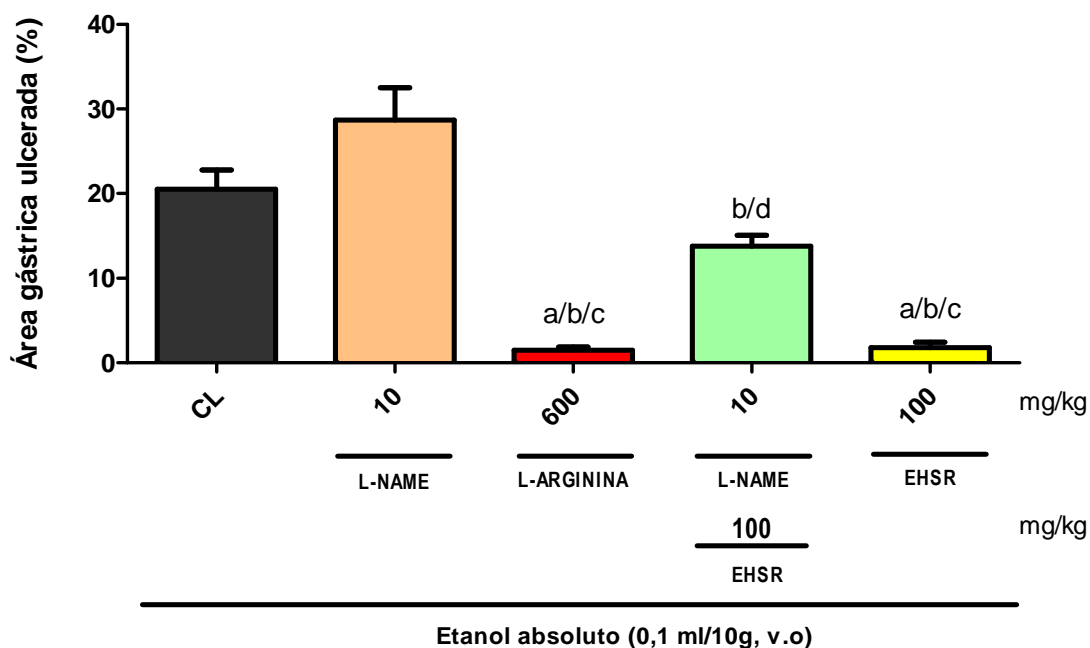
ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via subcutânea de indometacina (10mg/Kg)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com omeprazol (30mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via subcutânea de indometacina (10mg/Kg)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via subcutânea de indometacina (10mg/Kg)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (250mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via subcutânea de indometacina (10mg/Kg)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (500mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via subcutânea de indometacina (10mg/Kg)

**FIGURA 13** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos em modelo de lesão gástrica induzida por DAINÉ (indometacina).

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






Os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram área de lesão gástrica ( $20,52 \pm 2,29\%$ ). Os animais que receberam L-NAME (10mg/Kg, i.p.), um inibidor da NOS – óxido nítrico sintetase, associado ao etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) também apresentaram grande percentual de área ulcerada ( $28,73 \pm 3,83\%$ ). Já os animais que receberam L-Arginina (600mg/Kg, v.o.), um precursor para a síntese de óxido nítrico, em associação ao etanol<sub>abs</sub> obtiveram redução de área lesionada ( $1,47 \pm 0,38\%$ ), com percentual de redução das úlceras de 92,83%.

O EHSR (100mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa ( $p < 0,001$ ) redução de área ulcerada  $1,73 \pm 0,63\%$  e percentual de redução de 91,56% quando comparado ao controle. No entanto, o EHSR (100mg/Kg, v.o.) quando associado ao L-NAME (10mg/Kg, i.p.), teve seu efeito bloqueado de modo importante demonstrando, portanto, percentual de área ulcerada de  $13,79 \pm 1,28\%$  e percentual de redução de úlceras de 32,79%, dados dispostos na figura 14.



**FIGURA 14: Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (solução salina, 0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes do L-NAME (10mg/kg, i.p.) e este, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). A L-Arginina foi administrada 1 hora antes do etanol e após 30 minutos deste, os animais receberam o sacrifício. Um grupo foi tratado com o EHSR

(100mg/Kg, v.o.) também 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e <sup>a</sup> $p < 0,001$  vs CL, <sup>b</sup> $p < 0,001$  vs L-NAME (10mg/Kg, v.o.), <sup>c</sup> $p < 0,001$  vs L-NAME (10mg/kg, v.o.) + EHSR (100mg/kg, v.o.) e <sup>d</sup> $p < 0,05$  vs CL (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

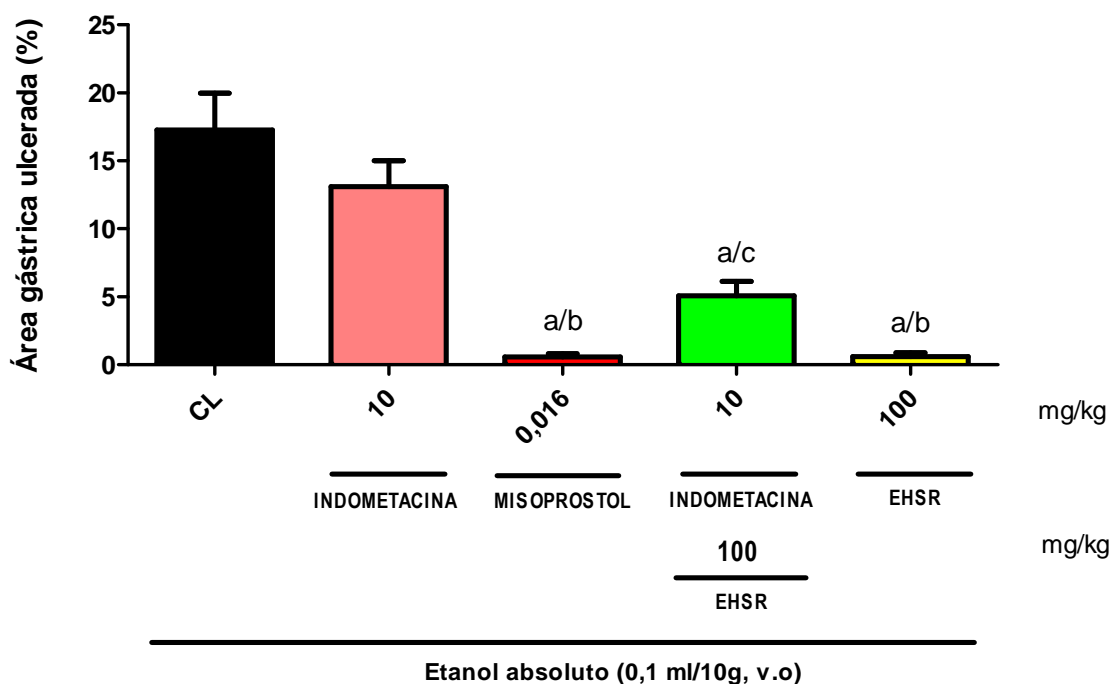
ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com L-NAME (10mg/Kg, i.p.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com L-Arginina (600mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via intraperitoneal de L-NAME (10mg/Kg)

**FIGURA 15** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento do óxido nítrico.

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






Os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram área de lesão gástrica ( $17,28 \pm 2,70\%$ ). Os animais que receberam indometacina (10mg/Kg, s.c.), um inibidor da síntese de prostaglandinas, associado ao etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram percentual de área ulcerada ( $13,09 \pm 1,92\%$ ). Já os animais que receberam misoprostol (0,016mg/Kg, v.o.), um análogo sintético da prostaglandina, em associação ao etanol<sub>abs</sub> obtiveram redução de área lesionada ( $0,57 \pm 0,25\%$ ), com percentual de redução das úlceras de 96,70%.

O EHSR (100mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa ( $p < 0,001$ ) redução de área ulcerada  $0,59 \pm 0,28\%$  e percentual de redução de 96,58% quando comparado ao controle. Ademais, o EHSR (100mg/Kg, v.o.) quando associado à indometacina (10mg/Kg, s.c), teve seu efeito em parte, reduzido demonstrando, portanto, percentual de área ulcerada de  $5,07 \pm 1,07\%$  e percentual de redução de úlceras de 70,65%, dados observados na figura 16.



**FIGURA 16: Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes da indometacina (10mg/Kg, v.o.), e

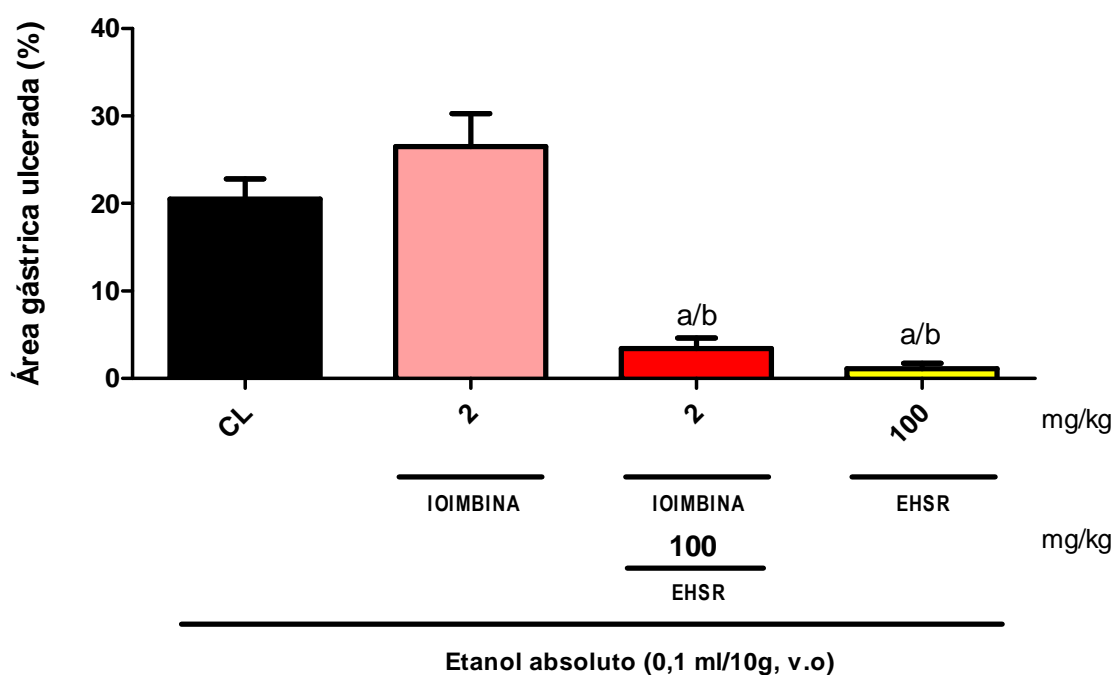
esta droga 2 horas antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). O misoprostol foi administrado 1 hora antes do etanol e após 30 minutos deste, os animais receberam o sacrifício. Um grupo foi tratado com o EHSR (100mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e  $^a p < 0,001$  vs CL,  $^b p < 0,001$  vs indometacina (10mg/Kg, v.o.),  $^c p < 0,01$  vs indometacina (10mg/Kg, v.o.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com indometacina (10mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com misoprostol (0,016mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de indometacina (10mg/Kg)





**FIGURA 17** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento das prostaglandinas.

#### 4.5.7 Papel dos receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub> no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram área de lesão gástrica (17,28±2,70%). Os animais que receberam ioimbina (10mg/Kg, i.p.), um agente antagonista dos receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub>, associado ao etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram extensa área ulcerada (30,34±4,96%). O EHSR (100mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa (p<0,001) redução de área ulcerada 1,12±0,62% e percentual de redução de 96,30% quando comparado ao controle. E ainda, o EHSR (100mg/Kg, v.o.) quando associado a ioimbina (2mg/Kg, i.p.), manteve seu efeito gastroprotetor de forma significativa (p<0,001) com percentual de área ulcerada (3,42±1,19%) e percentual de redução de úlceras de 88,72%, dados apresentados na figura 18.



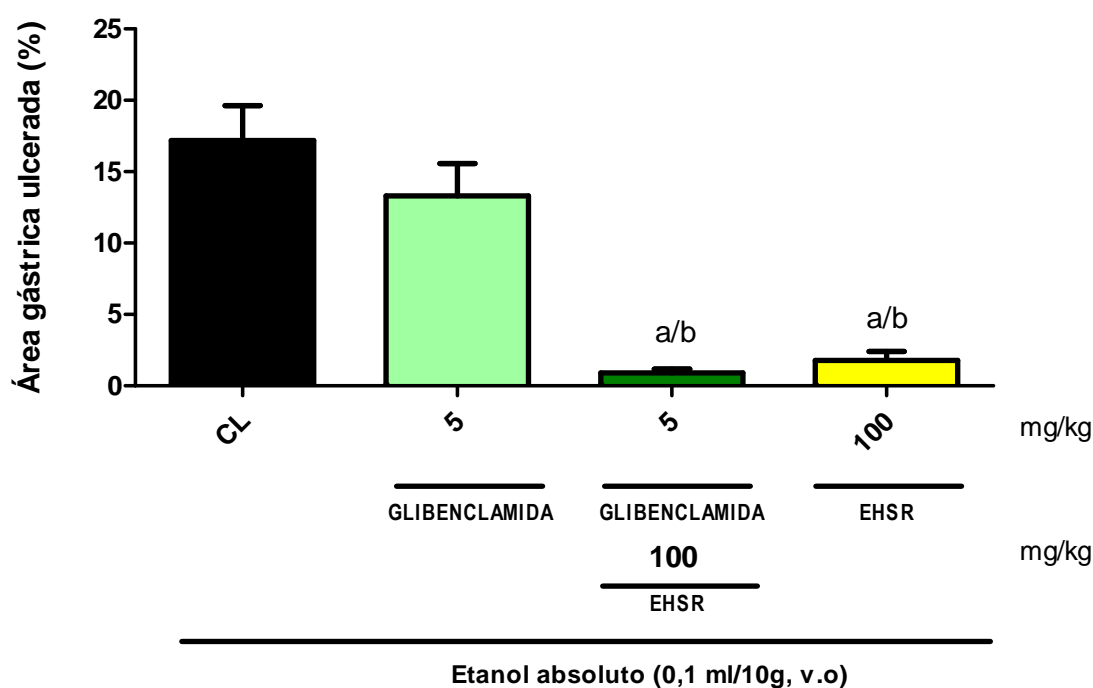
**FIGURA 18: Papel dos receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub> no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes da ioimbina (2mg/Kg, i.p.) e esta, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHSR (100mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo p>0,05 e <sup>a</sup>p< 0,001 vs CL, <sup>b</sup>p<0,001 vs ioimbina (2mg/kg, i.p.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com ioimbina (2mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via intraperitoneal de ioimbina (2mg/Kg)

**FIGURA 19** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento dos receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$ .





#### 4.5.8 Papel dos canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

Os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram área de lesão gástrica (18,77±2,61%). Os animais que receberam glibenclamida (5mg/Kg, i.p.), um bloqueador dos canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP, associado ao etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram área ulcerada (13,30±2,25%). O EHSR (100mg/Kg, v.o.) demonstrou significativa (p<0,001) redução de área ulcerada 1,77±0,63% e percentual de redução de 86,69% quando comparado ao controle. E ainda, o EHSR (100mg/Kg, v.o.) quando associado a glibenclamida (5mg/Kg, i.p.), manteve seu efeito gastroprotetor de forma significativa (p<0,001) com percentual de área ulcerada (0,90±0,25%) e percentual de redução de úlceras de 93,23%, dados demonstrados na figura 20.



**FIGURA 20: Papel dos Canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes da glibenclamida (5mg/Kg, i.p.) e esta, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHSR (100mg/Kg, v.o.), 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo p>0,05 e <sup>a</sup>p< 0,001 vs CL, <sup>b</sup>p<0,001 vs glibenclamida (5mg/kg, i.p.) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).



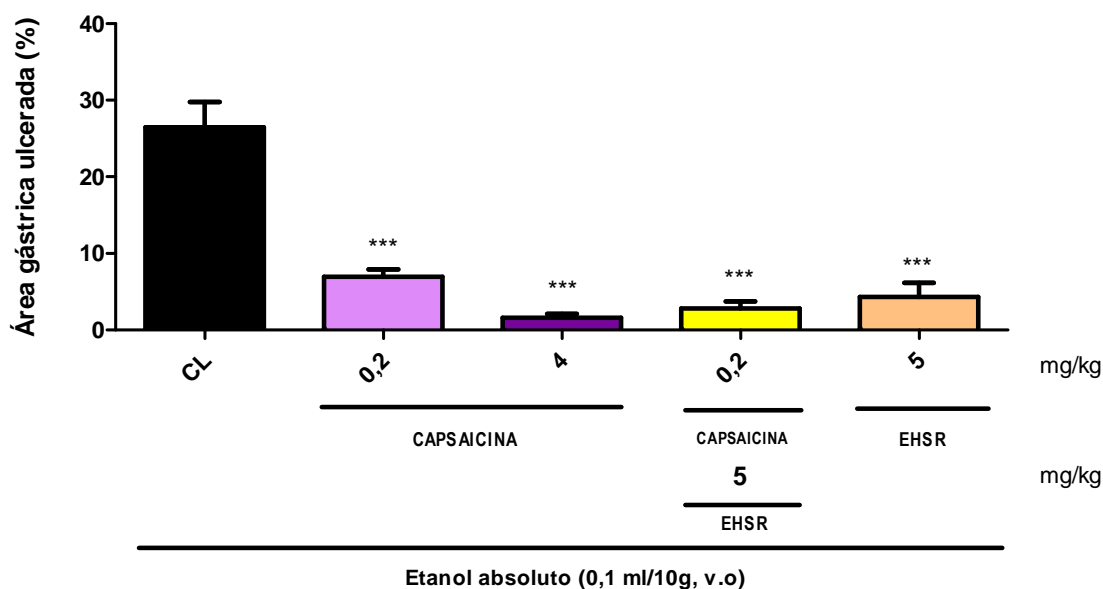
ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com glibenclamida (5mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via intraperitoneal de glibenclamida (5mg/Kg)

**FIGURA 21** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos no envolvimento dos Canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP .

#### 4.5.9 Envolvimento do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.







Os animais que receberam somente veículo em associação à administração oral de etanol<sub>abs</sub> obtiveram grande área de lesão gástrica ( $23,80 \pm 3,80\%$ ). Os animais que receberam Capsaicina (0,2 e 4mg/Kg; v.o.), um agente protetor gástrico, associado ao etanol<sub>abs</sub> (0,2 mL/animal, v.o.) apresentaram significativa ( $p < 0,001$ ) redução de área ulcerada ( $6,94 \pm 0,96\%$  e  $1,60 \pm 0,49\%$ , respectivamente) e percentual de redução de úlceras de 73,78% e 93,27%, respectivamente. O EHSR (5mg/Kg; v.o.) também demonstrou significativa ( $p < 0,001$ ) redução de área ulcerada ( $4,31 \pm 1,82\%$ ) e percentual de redução de úlceras de 83,71% quando comparado ao controle.

A avaliação do efeito potencializador do EHSR em associação à Capsaicina foi testada a partir da administração de ambos em baixas doses (5 e 0,2mg/Kg; v.o., respectivamente), sendo que essa associação foi capaz de demonstrar efeito gastroprotetor significativo ( $p < 0,001$ ) comparado ao controle lesionado, com percentual de área ulcerada ( $2,82 \pm 0,87\%$ ) e percentual de redução de úlceras de 89,34%, dados evidenciados na figura 22.



**FIGURA 22: Envolvimento do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.** Administrou-se tratamento com o EHSR (5mg/Kg; v.o.), veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) ou Capsaicina (0,2 e 4mg/Kg; v.o.), 1 hora antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo foi tratado com o EHSR (5mg/Kg; v.o.) 01 hora antes da administração da Capsaicina (0,2mg/Kg; v.o.). Após 01 hora estes animais

receberam do etanol absoluto. Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e  $***p < 0,001$  vs controle lesionado (CL) (ANOVA e Teste de Student Newman-Keuls).

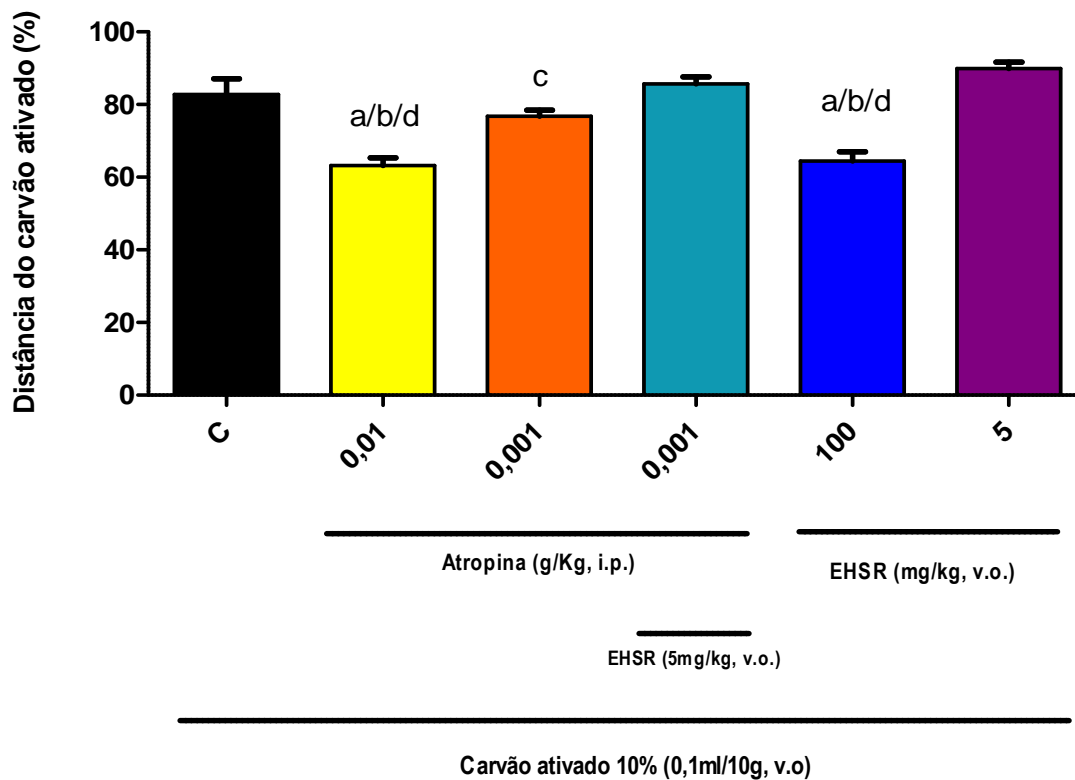
ASPECTO MACROSCÓPICO	DESCRIÇÃO
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com veículo (solução salina 0,9%) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com capsaicina (4mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com capsaicina (0,2mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (5mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (100mg/Kg, v.o.) 1h antes da administração via oral de etanol absoluto (0,2mL/animal)
	Estômago aberto pela grande curvatura de um camundongo tratado com EHSR (5mg/Kg; v.o.) 1h antes da administração via oral de capsaicina (0,2mg/Kg)

**FIGURA 23** - Aspectos macroscópicos de estômagos de camundongos na associação de EHSR à capsaicina.

#### 4.6 Dados relativos à Atividade do EHSR sobre a Motilidade Intestinal

A porcentagem da distância percorrida pelo marcador colorido no intestino delgado de camundongos foi de  $82,77 \pm 4,29\%$ . Observou-se que somente os animais que receberam dose mais elevada do EHSR ( $100\text{mg/Kg}$ ; v.o.) apresentaram diminuição na motilidade intestinal, sendo que o marcador percorreu  $63,21 \pm 2,60\%$ . Foi possível observar também, a diminuição da motilidade intestinal no grupo tratado com Atropina ( $0,01\text{g/Kg}$ , i.p.), um antagonista muscarínico, de forma significativa quando comparado ao controle veículo, com valor de  $p < 0,001$ , sendo a distância percorrida pelo marcador de  $63,21 \pm 2,05\%$ . No entanto, o grupo tratado com Atropina ( $0,001\text{g/Kg}$ ; i.p.) não manifestou alteração na motilidade intestinal de forma significativa quando comparado ao grupo controle, sendo então, a distância percorrida pelo carvão nesse grupo, de  $76,77 \pm 1,65\%$ .

Contrariamente, o grupo tratado com dose mais baixa de EHSR ( $5\text{mg/Kg}$ ; v.o.) não evidenciou alteração na motilidade intestinal, sendo a distância percorrida pelo marcador de  $89,84 \pm 1,77\%$ . E ainda, a associação de EHSR ( $5\text{mg/Kg}$ ; v.o.) à Atropina em dose mais baixa ( $0,001\text{g/Kg}$ ; i.p.) também não foi capaz de alterar a motilidade intestinal, cuja distância percorrida pelo carvão foi de  $85,59 \pm 2,01\%$ , comparados ao controle veículo conforme dados evidenciados na figura 24.



**FIGURA 24: Efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal em camundongos.** Cada grupo de animais foi tratado com veículo (solução salina 0,9%, 0,1 mL/10g, v.o.), ou EHSR (5 e 100mg/Kg, v.o.) ou Atropina (0,01 e 0,001g/Kg, i.p.). Uma hora após os tratamentos, os animais receberam carvão ativado 10% (0,1ml/10g, v.o.). Cada grupo representa a média de 7 animais. Na análise estatística, foi considerado não significativo  $p > 0,05$  e <sup>a</sup> $p < 0,001$  vs controle, <sup>b</sup> $p < 0,001$  vs EHSR (5mg/Kg), <sup>c</sup> $p < 0,01$  vs EHSR (5mg/Kg) e <sup>d</sup> $p < 0,001$  vs EHSR (5mg/Kg) + atropina (0,001g/Kg).

## 5. DISCUSSÃO

Considerando a perspectiva histórica é possível observar que os produtos naturais assumem papel relevante para a descoberta de novas drogas, estando ao longo da evolução da humanidade, presentes no uso para cura e tratamento de doenças (DAVID; DAVID, 2006; NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003), o que certamente tem mobilizado o interesse de pesquisadores de diversas áreas no sentido de identificar propriedades bioativas a partir de produtos naturais.

Dados da Organização Mundial da Saúde - OMS estimam que 80% da população de países em desenvolvimento utilizam plantas medicinais. Nas últimas três décadas, 25% de todas as prescrições de farmacêuticos nos Estados Unidos apresentam princípios ativos obtidos de plantas. Os fármacos derivados de produtos naturais constituem, sobretudo, os antineoplásicos, antimicrobianos e antivirais, que representam 51%, 78% e 70%, respectivamente, dos fármacos aprovados pela *Food and Drug Administration* – FDA no período de 1983-1994 (DAVID; DAVID, 2006).

Assim, o uso de plantas, extratos de plantas e derivados químicos para o tratamento de doenças representa uma modalidade terapêutica. Nesse contexto, atropina, efedrina, reserpina, quinina, aspirina, digoxina, morfina, entre outros, são exemplos de drogas originadas a partir de produtos naturais, através de estudos sobre o conhecimento tradicional dos povos indígenas (GILANI; ATA-UR-RAHMAN, 2005).

O estudo buscou avaliar, portanto, as propriedades antiúlcera e antimicrobiana das cascas secas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., e ainda, realizar um levantamento etnofarmacológico em comunidades da Chapada do Araripe, municípios de Crato e Santana do Cariri no Estado do Ceará e investigar a toxicidade oral e intraperitoneal aguda para determinação da DL50% do EHSR.

### 5.1 Dados Etnofarmacológicos

Espécies do gênero *Stryphnodendron* têm sido empregadas amplamente na medicina tradicional para o tratamento de diarreia, leucorréia, como anticoagulante e cicatrizante, sendo que estudos com as cascas dessas espécies têm revelado atividade antimicrobiana (SANCHEZ *et al.*, 2005), antiviral (FELIPE *et al.*, 2006), cicatrizante (LOPES *et al.*, 2005), antiinflamatória (LIMA; MARTINS; DE SOUZA, 1998),

antioxidante e antiúlcera (LOPES *et al.*, 2005; AUDI *et al.*, 1999). Enfatize-se que os dados etnofarmacológicos levantados na presente investigação mantêm correlação com esses usos populares descritos na literatura, o que nos faz afirmar a coerência das informações coletadas junto às comunidades tradicionais da Chapada do Araripe (Crato e Santana do Cariri-CE).

É importante considerar que o uso de espécies do Gênero *Stryphnodendron* para várias indicações medicinais, ainda é carente de investigação científica. Encontra-se que a espécie mais estudada é o *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (LOPES *et al.*, 2003) para a qual são reportadas atividades antiinflamatória, analgésica e protetora da mucosa gástrica (REBECCA *et al.*, 2002) e ainda, antioxidante e antimicrobiana em extratos obtidos a partir da casca do caule da planta, propriedades estas aluídas à presença de taninos (SOUZA *et al.*, 2007). Os extratos das cascas desta mesma espécie demonstraram também ação antifúngica para *Candida* spp. (ISHIDA *et al.*, 2006) e antimicrobiana para *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (SANTOS *et al.*, 2002).

Quanto aos modos de preparo descritos na literatura, tem-se o uso popular de espécies do Gênero na forma de decocto em água, para as leucorréias e problemas ginecológicos, como antibacteriano, antihemorrágico, antiulcerogênico, para diarreia, processos inflamatórios, como adstringente e anti-séptico, diurético e para limpeza e cicatrização de feridas, sendo ainda, estas propriedades atribuídas ao teor de taninos presentes nas espécies deste gênero (VASCONCELOS *et al.*, 2004; SILVA, 2006; SILVA, 2007). É importante referir que a pesquisa também identificou como principal parte da planta usada pelos informantes, as cascas sob a forma de decocto.

Em relação às atividades biológicas de espécies do Gênero *Stryphnodendron*, estudo recente e pioneiro foi desenvolvido com a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., no Estado do Ceará, o qual investigou as atividades antimicrobiana e antiulcerogênica do extrato etanólico das cascas, evidenciando ação protetora gástrica contra danos causados à mucosa induzidos pelo uso do etanol e atividade antibacteriana. Os autores atribuíram essas propriedades possivelmente às classes de metabólitos secundários de taninos e flavonóides (RODRIGUES *et al.*, 2008). Nesse contexto, a prospecção química do EHSR identificou a presença desses compostos, levando-nos a considerar que os mesmos estariam envolvidos com as atividades demonstradas no estudo.

Conforme elucidado, as propriedades biológicas observadas nas espécies do Gênero *Stryphnodendron* são atribuídas em boa parte, aos compostos fenólicos, incluindo taninos e flavonóides, os quais têm seus usos terapêuticos como agentes antiinflamatórios, antifúngicos, antioxidantes e ainda, propriedades cicatrizantes (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Nesse contexto, os taninos teriam importante papel antiinflamatório e por isso, o uso no tratamento de ferimentos. Os flavonóides participariam da ativação de enzimas nos processos antiinflamatórios (MIDDLETON; KADASWAMI; THEOHARIDES, 2008; OKUDA, 2005). Também um estudo realizado com a *Aniba Riparia* (Nees) Mez (Lauraceae), a qual apresenta flavonóides, em sua composição química, foi capaz de revelar ação antinociceptiva atribuída à propriedade antiinflamatória (ARAÚJO, 2007).

Os taninos promovem a cicatrização de feridas por ação antioxidante, atuando como sequestradores de radicais de oxigênio, favorecendo o processo de fibroplastia, a reorganização do leito capilar, a proliferação de queratinócitos e a diferenciação celular (FERNANDEZ *et al.*, 2000; DETERS *et al.*, 2001).

Adicionalmente, pesquisa etnofarmacológica envolvendo plantas medicinais contendo taninos e flavonóides no Estado de Pernambuco, Brasil, identificou indicações terapêuticas para gastrite, ferimentos, doenças de pele, inflamação, inflamações femininas, dentre outras, relacionadas a espécies que apresentam esses compostos químicos (ARAÚJO *et al.*, 2008).

Não obstante, a literatura reporta o uso de espécies do gênero *Stryphnodendron* na forma de decocto e infusão das cascas do caule para diversas afecções como, diarreia, leucorréias e distúrbios inflamatórios (REBECCA *et al.*, 2002). Assim, os dados da pesquisa permitem inferir que os constituintes químicos descritos na literatura possivelmente estão envolvidos nas propriedades bioativas informadas sobre a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart..

Evidências científicas confirmam o uso das cascas obtidas do caule de espécies do gênero *Stryphnodendron* para diversas afecções. Nesse sentido, investigação avaliando o efeito de extratos de espécies deste gênero, obtidos a partir das cascas do caule, demonstrou atividade cicatricial por aumento de tecido epitelial em feridas produzidas em ratos. Frações dos extratos também foram empregadas para identificação de propriedade bacteriana contra *Staphylococcus aureus* e bactérias gram-negativas, demonstrando também efeito inibitório do crescimento e propriedades antioxidantes. As espécies continham entre 12-19% de taninos nas cascas do caule (LOPES *et al.*, 2003).



Também há relatos de dados de avaliação de atividades biológicas atribuídas às sementes da espécie *Stryphnodendron obovatum* Benth., muito embora, o uso desta parte da planta não tenha sido referido pelos informantes nessa pesquisa. Assim, o extrato salino de *Stryphnodendron obovatum* Benth. apresentou ação antioxidante (VASCONCELOS *et al.*, 2004).

Na medicina tradicional, o decocto das cascas do caule do *Stryphnodendron adstringens* Mart. é amplamente utilizado para o tratamento de inflamações vaginais e limpeza de ferimentos (NUNES, 2003; MACEDO; FERREIRA, 2004), comprovando, portanto, os dados apontados nessa pesquisa.

Em relação ao tratamento de feridas, estudo comparativo sobre o efeito da *Calendula officinalis*, do *Symphytum officinale* e do *Stryphnodendron barbatiman* em cicatrização por segunda intenção em equinos revelou que o último facilitou o processo de fibroplasia, ações atribuídas às propriedades adstringentes dos taninos com a formação de crostas espessas e ressecadas, acumulação de fibrina e migração centrípeta, diminuindo, portanto, o leito da ferida. E ainda, redução da vascularização e do edema. Um dos aspectos mais relevantes da pesquisa a ser considerado nessa abordagem, é o tempo médio, em dias, da cicatrização das feridas com o uso tópico do Barbatimão, quando comparado aos outros agentes, 21 dias para o Barbatimão, 26,1 para a Calêndula e 21,6 para o Confrei (MARTINS *et al.*, 2003).

Em parte, o uso tópico relatado pelos informantes, sobretudo, em ferimentos, guarda correlação com as pesquisas demonstradas. Nesse contexto, para o tratamento de inflamações/ferimentos, estudos descritos na literatura com espécies do gênero *Stryphnodendron*, demonstraram efeito cicatrizante entre 4-10 dias (LOPES *et al.*, 2003) mantendo relação com os dados apontados pelos informantes. Também o efeito antinociceptivo agudo da espécie *Stryphnodendron adstringens* Mart. (administração oral nas doses de 200, 400 e 800mg/Kg), extratos das cascas, foi evidenciado em ratos (MELO *et al.*, 2007).

Com efeito, o uso oral foi predominante entre os informantes, o que pode estar relacionado à baixa toxicidade de espécies do gênero *Stryphnodendron*, por via oral (REBECCA *et al.*, 2002; AUDI *et al.*, 1999). Quanto à espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., avaliação da atividade antiúlcera do extrato etanólico das cascas em camundongos, nas doses de 200 e 400mg/kg via oral, demonstrou gastroproteção contra lesões induzidas por etanol, sendo que os autores correlacionam essa propriedade

à presença de taninos e flavonóides na espécie. É importante mencionar que não foi relatado ocorrência de morte nos animais tratados com o extrato (RODRIGUES *et al.*, 2008).

## 5.2 Dados da Toxicidade do EHSR

A avaliação toxicológica revelou que o EHSR apresenta baixa toxicidade oral, fato que não ocorreu na avaliação da toxicidade pela via intraperitoneal.

Nesse sentido, estudos sobre a toxicidade oral das cascas da espécie *Stryphnodendron adstringens* revelaram baixa toxicidade com valores de DL50% de 400mg/Kg (LIMA; MARTINS; SOUZA, 1999), 800mg/Kg (AUDI *et al.*, 1999).

Outra avaliação efetuada com ratos tratados por 7 dias com extrato de barbatimão, determinou uma DL50% de 2699mg/Kg e ainda, a ocorrência de hipoatividade nos animais tratados, não sendo observada morte dos animais (REBECCA *et al.*, 2002).

Entretanto, é importante mencionar que em avaliação da toxicidade aguda por via intraperitoneal, do extrato hidroalcoólico das folhas da espécie *Stryphnodendron adstringens*, pode-se evidenciar uma  $DL50\% = 0,25\text{mg/mL}^{-1}$  (ALMEIDA *et al.*, 2009).

Esses dados, portanto, são similares aos encontrados em nosso estudo, tanto em relação a DL50%, como no que concerne à observação de diminuição de atividade locomotora. É importante ainda considerar que as semelhanças residem, sobretudo, em se tratando da avaliação efetuada a partir das cascas das espécies vegetais.

## 5.3 Atividade Antimicrobiana do EHSR

A investigação das propriedades microbiológicas demonstrou que o EHSR apresenta limitada atividade antimicrobiana, uma vez que atividades relevantes de uso clínico apresentam  $CIM \leq 256 \mu\text{g/mL}$  (HOUGHTON *et al.*, 2007). No entanto, pode-se observar importante efeito modulador de antibióticos aminoglicosídeos.

Nessa perspectiva, pesquisas sobre o sinergismo entre produtos naturais e fármacos antibacterianos vêm sendo realizadas com outras espécies vegetais, a exemplo da *Mentha arvensis* (COUTINHO *et al.*, 2009d), do *Hyptis martuisii* Benth

(COUTINHO *et al.*, 2009c), da *Momordica charantia* L. (COUTINHO *et al.*, 2009a) e da *Turnera ulmifolia* L. (COUTINHO *et al.*, 2009b).

Ensaio realizados com extratos de plantas ricas em taninos têm demonstrado ação bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991), antiviral (DE BRUYNE *et al.*, 1999), e atividade antioxidante (MOURE *et al.*, 2001). Como visto, esses compostos foram identificados através da prospecção fitoquímica do EHSR.

Provavelmente a atividade moduladora do EHSR para os antibióticos aminoglicosídeos usados no controle, esteja relacionada à capacidade atribuída aos taninos, de formar complexos com proteínas, a qual é bem aceita como a base para a proteção contra insetos, fungos e bactérias, bem como, outras propriedades farmacológicas aluídas a esses compostos. Os mecanismos exatos pelos quais os taninos exercem atividade antimicrobiana não estão claramente elucidados. Entretanto, são levantadas três hipóteses. Uma seria a inibição de enzimas de bactérias e fungos e/ou a complexação de substratos dessas; outro mecanismo estaria representado pela ação sobre as membranas celulares dos microrganismos, alterando-se o metabolismo; e um terceiro, seria a complexação com íons metálicos (MILA; SCALBERT; EXPERT, 1996), reduzindo a disponibilidade desses elementos para o metabolismo (SANTOS; MELLO, 2004, HO *et al.*, 2001, SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001).

Considerando que a ação antibacteriana dos aminoglicosídeos se deve à capacidade de inibição da síntese de proteínas e redução da fidelidade do mRNA no ribossoma (KATZUNG, 2007), é possível que compostos presentes no EHSR possam estar interferindo na síntese proteica e assim, favorecendo a atividade antibacteriana dessas drogas.

Compostos fenólicos, incluindo taninos e flavonóides têm demonstrado seu potencial terapêutico como agentes antiinflamatórios, antifúngicos, antimicrobianos, antioxidantes e cicatrizantes (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Desse modo, observa-se que o incremento na ocorrência de infecções multiresistentes tem impulsionado o desenvolvimento de pesquisas para avaliação de atividades antimicrobianas de produtos naturais (ARANGO; SÁNCHEZ; GALVIS, 2004). Várias propriedades biológicas são atribuídas ao gênero *Stryphnodendron* e ensaios *in-vitro* com extratos obtidos de espécies desse gênero têm mostrado atividade antibacteriana (AUDI *et al.*, 2004; HOLETZ *et al.*, 2005).

Dados da literatura confirmam o uso das cascas obtidas do caule de espécies do gênero *Stryphnodendron* para diversas afecções. Investigações para avaliação do efeito

de extratos de espécies deste gênero, obtidos a partir das cascas do caule, têm demonstrado a presença de taninos e flavonóides, seus usos como agente antimicrobiano (SINGH *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2003; MATOS, 1997). Frações dos extratos também foram empregadas para identificação de propriedade bacteriana contra *Staphylococcus aureus* e bactérias gram-negativas, demonstrando também efeito inibitório do crescimento e propriedades antioxidantes (LOPES *et al.*, 2003).

Entretanto, pesquisas empregando-se testes de suscetibilidade pelo método de difusão, dos extratos aquosos e etanólico do *Stryphnodendron adstringens* para *Staphylococcus mutans*, *S. aureus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Candida albicans* revelaram significativa atividade antibacteriana para ambos extratos avaliados, sendo ainda que para o extrato etanólico, foi possível identificar também ação antifúngica (SANTOS *et al.*, 2009). No entanto, é importante mencionar que o método por microdiluição, empregado na presente investigação, representa na atualidade, a técnica mais aceita para este bioensaio (HADACEK; GREGER, 2000).

Outros estudos com frações de extratos obtidos das cascas do *Stryphnodendron adstringens*, pela técnica de microdiluição, revelaram atividade antifúngica contra *Candida spp.*, atribuída ao teor de taninos presentes na espécie (ISHIDA *et al.*, 2006). Nesse contexto, avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana das cascas de *Stryphnodendron adstringens*, por diluição, pode verificar presença das propriedades antioxidante e antimicrobiana, sendo que ambas ações bioativas foram associadas à presença de compostos fenólicos totais, como taninos e flavonóides (SOUZA *et al.*, 2007).

Uma variedade de estudos tem demonstrado as propriedades antimicrobiana e antifúngica dos flavonóides (RAUHA *et al.*, 2000; SOHN *et al.*, 2004). Esses compostos químicos possuem a capacidade de formar complexos com proteínas solúveis extracelulares que se ligam à parede celular bacteriana (TSUCHIYA *et al.*, 1996).

No entanto, na presente investigação esses compostos químicos não parecem exercer efeito antimicrobiano significativo do ponto de vista clínico, empregando-se a técnica de microdiluição.

Estudos evidenciam que muitos compostos naturais alteram a permeabilidade da membrana celular, favorecendo a penetração dos antibióticos. A interação com enzimas bacterianas também pode estar relacionada ao mecanismo de sinergismo de produtos naturais com antibióticos, o qual pode ser obtido a partir de um extrato ou da

combinação entre extratos, produtos sintéticos e antibióticos e entre produtos naturais (WENDAKOON; SAKAGUCHI, 1995), HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008; WAGNER; ULRICH-MERZENICH, 2009), esse mecanismo possivelmente seria responsável pela potencialização da atividade antibiótica observada pela combinação das drogas ao EHSR.

### 5.3 Atividade Antiulcerogênica do EHSR

Compreende-se que a úlcera péptica é considerada um problema de saúde pública de ordem mundial que afeta um grande número de pessoas. Essa desordem gástrica é causada pelo desequilíbrio entre os fatores protetores (integridade da mucosa gástrica) e agressores (secreção ácida gástrica). Dentre os fatores que contribuem para sua ocorrência, podemos citar o estresse, o tabagismo, a ingestão de álcool, as deficiências nutricionais, o uso de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (DAINES), e particularmente, a infecção pelo *Helicobacter pylori* (CHAN; LEUNG, 2002; BELAICHE *et al.*, 2002).

A doença péptica decorrente do uso de DAINES é um grave problema clínico. Esses agentes terapêuticos provocam a inibição da Ciclooxygenase e reduzem assim, a habilidade intrínseca de resistência da mucosa gástrica a processos lesivos (HAWKEY; LANGMAN, 2003).

Nesse contexto, o uso de plantas com a finalidade de tratamento de distúrbios gástricos é bastante comum na medicina tradicional, o que vem despertando o interesse de pesquisadores para a descoberta de novas drogas através de produtos naturais (BORELLI; IZZO, 2000; TOMA *et al.*, 2003).

Desse modo, a presente investigação pode demonstrar o efeito gastroprotetor do EHSR, empregando-se a via oral, contra lesões gástricas induzidas pela administração oral de etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina e pela via intraperitoneal, contra lesões induzidas por etanol absoluto.

Entretanto, é possível considerar que a administração oral do extrato pode exercer efeito de barreira física na proteção da mucosa gástrica, uma vez que compostos antioxidantes, a exemplo de taninos e flavonóides (MOURE *et al.*, 2001; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004), estão presentes no extrato. Isto pode ser evidenciado tendo em vista que o uso da via oral apresentou maior atividade gastroprotetora comparado à via

intraperitoneal, porém, não foi observada diferença estatística significativa entre as doses de 5mg intraperitoneal e oral.

Nesse contexto, observa-se que vêm sendo realizados estudos com espécies do Gênero *Stryphnodendron*, a exemplo de uma investigação desenvolvida com fração acetônica do extrato metanólico das cascas do *Stryphnodendron adstringens* nas doses de 400 e 800mg/Kg v.o., a qual demonstrou inibição na formação de úlceras gástricas induzidas por etanol (62% e 98%) e estresse hipotérmico (89% e 88%), respectivamente, em ratos. Os autores atribuem ao extrato capacidade antioxidante. Contrariamente, o extrato não foi efetivo contra lesões gástricas induzidas pela administração de indometacina, fato que os autores atribuem à inibição da síntese de prostaglandinas (MARTINS; LIMA; RAO, 2002).

É importante considerar também a possibilidade de que o efeito gastroprotetor do EHSR tenha relação com a atividade antioxidante, uma vez que esta é referida na literatura para espécies vegetais que possuem taninos e flavonóides em sua composição química (SOUZA *et al.*, 2007).

Outra investigação com a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. também demonstrou gastroproteção contra lesões induzidas por etanol, na administração oral do extrato etanólico das cascas nas doses de 200 e 400mg/Kg em camundongos (RODRIGUES *et al.*, 2008). A ação cicatrizante de extratos obtidos a partir das cascas das espécies *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron obovatum* também foi evidenciada para feridas cutâneas em ratos (LOPES *et al.*, 2005).

Assim, em se tratando dos diferentes agentes agressores da mucosa gástrica, o etanol merece destaque como o mais prevalente dentre os fatores incidentes na população masculina, sendo que o seu efeito sobre a mucosa gástrica é bem relatado na literatura e seus mecanismos estão relacionados ao desenvolvimento de um processo inflamatório aguda, o que aumenta a permeabilidade capilar e o extravasamento de líquidos, interferindo na função de barreira da mucosa gástrica (SANTOS; RAO, 2001).

O tratamento oral com etanol é comumente utilizado como agente ulcerogênico, o qual provoca depleção do muco gástrico, hiperemia, edema, necrose, hemorragia submucosa e distúrbios circulatórios (SULEYMAN *et al.*, 2001; KINOSHITA; TSUNEHISA; TAMAKI, 1995; OATES; HAKKINEN, 1988). Esses mecanismos têm relação com o efeito do etanol sobre a redução da motilidade gástrica e diminuição do fluxo sanguíneo. Essas ações, por sua vez, resultam em um incremento de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> e da secreção de pepsina. Não obstante, o etanol também provoca lesão direta à célula

gástrica, liberação de radicais livres e diminuição da substância P, envolvida na proteção da mucosa gástrica (SZABO, 1987; MATSUDA *et al.*, 2003).

Também a indometacina, potente droga antiinflamatória não-esteroidal é empregada como agente ulcerogênico em lesões gástricas produzidas em modelos animais pela sua capacidade de causar lesões gástricas pela supressão da síntese de prostaglandinas (WALLACE, 2001). Evidências confirmam que essa droga é capaz de inibir a contração tissular e provocar um decréscimo na produção de colágeno, mecanismos que impedem a regeneração celular e inibem a proliferação tecidual. Contrariamente, as prostaglandinas endógenas contribuem para a manutenção da integridade e defesa da mucosa gástrica, pois estimulam a secreção de bicarbonato e muco e regulam a reparação tissular (HAYLLAR; BJARNASON, 1995; OKABE; AMAGASE, 2005). Portanto, esses mecanismos foram empregados na ulcerogênese em modelos animais, para os quais o EHSR mostrou importante efeito na prevenção da úlcera gástrica.

Em relação ao estudo dos mecanismos através dos quais o EHSR possivelmente exerceria sua ação gastroprotetora, demonstrou-se que o efeito do extrato é dependente da presença de óxido nítrico e em menor intensidade, da presença de prostaglandinas endógenas, tendo em vista que a ação protetora gástrica do mesmo foi parcialmente bloqueada através da administração de substâncias antagonistas desses agentes protetores da mucosa gástrica. Isso nos leva a afirmar que compostos químicos presentes no extrato atuam na gastroproteção por meio das vias que envolvem o efeito citoprotetor gástrico do óxido nítrico e das prostaglandinas. Assim, o EHSR poderia estar favorecendo uma maior disponibilidade de NO por aumento da NOc. Em adição, o EHSR poderia também aumentar a liberação de prostaglandinas e em conseqüência, as funções protetoras da mucosa gástrica produzidas por essas substâncias.

E ainda, é possível correlacionar estudos que demonstram a associação entre espécies vegetais que apresentam taninos e flavonóides em suas composições químicas e o efeito gastroprotetor dessas (MARTINS; LIMA; RAO, 2002; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2008), o que provavelmente também, estaria ocorrendo com a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart..

Nesse contexto, tem-se que o óxido nítrico – NO está envolvido em uma diversidade de processos fisiológicos, incluindo o relaxamento muscular liso, vasodilatação, controle da pressão arterial e inflamação. São reconhecidas três isoformas de NOS que utilizam a L-arginina como substrato. O envolvimento do NO na

manutenção da integridade da mucosa gástrica é bem conhecido e aceito, como um importante regulador da secreção ácida gástrica, de muco e na circulação sanguínea gástrica e ainda, participa na modulação da integridade da mucosa gástrica pela interação com neuropeptídeos sensoriais e com as prostaglandinas endógenas. Nesse sentido, os estudos esclarecem que o NO é capaz de reduzir efetivamente as lesões sobre a mucosa gástrica decorrentes da exposição a agentes químicos, efeito observado em baixas concentrações de NO, entretanto, altas concentrações poderiam favorecer a formação de radicais de nitrogênio com seus efeitos tóxicos (SHAH *et al.*, 2004; TEPPERMAN; WHITTLE, 1992; KHALIF *et al.*, 2002; KAWANO; TSUJI, 2000; CHANDRANATH; BASTAKI; SINGH, 2002).

A eNOS (endotelial) é a isoforma responsável pela regulação da vasodilatação do trato gastrointestinal. Encontra-se expressa em abundância nas células endoteliais desempenhando relevantes papéis fisiológicos, a exemplo da função de barreira protetora da mucosa gástrica. No entanto, é importante salientar que excesso de NO associado ao estado inflamatório, desencadeia um aumento na permeabilidade epitelial e diminuição da função de barreira (SHAH *et al.*, 2004).

Sabe-se que a integridade da mucosa gástrica depende, substancialmente, da atividade da prostaglandina E2 (PGE2) e da prostraciclina (PGI). Assim duas isoenzimas da ciclooxigenase – COX convertem o ácido araquidônico em prostaglandina. O ácido araquidônico é o mais importante dentre os precursores dos eicosanóides. São reconhecidas duas isoformas de COX, sendo a prostaglandina sintetase-1 (COX-1), uma enzima constitutiva, enquanto que a prostaglandina sintetase-2 (COX-2), uma enzima induzível através de estímulos. A COX-1 apresenta função de manutenção, a exemplo da citoproteção gástrica, enquanto que a COX-2 é produto da resposta imune e inflamatória. A indometacina, uma droga antiinflamatória não-esteroidal, é altamente seletiva para a COX-1, alterando, portanto, suas funções fisiológicas. Desse modo, o ensaio realizado nesta investigação para atividade antiulcerogênica do EHSR contra lesões gástricas induzidas por Indometacina revelou importante proteção.

Várias pesquisas têm evidenciado a participação da COX-2 na proteção da mucosa gástrica e reparo da úlcera gástrica. Considerando a necessidade dos processos de proliferação celular e da angiogênese para a cicatrização das lesões ulcerosas, compreende-se que os agentes seletivos e não seletivos que exercem efeitos inibidores da COX provocam alteração na fisiologia desse reparo. Nesse sentido, a supressão da



síntese de prostaglandina, por DAINES, por exemplo, aumenta a vulnerabilidade da mucosa gástrica a lesões, especialmente, pelo decréscimo na síntese de óxido nítrico (TARNAWSKI; HOLLANDER, 1987; WALLACE, 2005; WALLACE; GRANGER, 1996; ALLEN *et al.*, 1993).

Pesquisas evidenciam que as prostaglandinas exercem o efeito gastroprotetor por inibição da secreção ácida, estimulação da secreção de muco e bicarbonato, inibição da ativação celular, decréscimo da aderência leucocitária à parede endotelial, inibição da apoptose, aumento da irrigação sanguínea com prevenção da isquemia (TARNAWSKI; HOLLANDER, 1987; WALLACE; GRANGER, 1996). Assim, a ação citoprotetora das prostaglandinas foi definida por Robert na década de 1970 para uma variedade de lesões gástricas provocadas por diversos agentes (aspirina, indometacina) e agentes necrosantes (etanol absoluto, ácido clorídrico, hidróxido de sódio). Logo, a formação contínua de prostaglandinas é um processo fisiológico necessário à manutenção da integridade gástrica (ROBERT *et al.*, 1997).

Evidências científicas esclarecem que em tecidos ulcerados a produção de PGE2 é significativamente mais elevada que em tecidos normais, bem como o papel crucial da COX-2 na cicatrização de úlceras gástricas, tendo em vista que bioensaios a partir da inibição seletiva da COX-2 provocaram desenvolvimento de lesões gástricas, demonstrando o papel fundamental da COX-2 na regeneração da úlcera gástrica (SHIGETA; TAKAHASHI; OKABE, 1998).

Nessa perspectiva, estudos clínicos têm evidenciado que DAINES inibem a cicatrização gástrica, pois exercem mecanismos não seletivos, suprimindo a COX-1 que tem papel importante na fisiologia. Os experimentos com prostaglandina demonstraram angiogênese em lesões provocadas por etanol, enquanto que a indometacina aboliu a angiogênese gástrica. Os mecanismos pelos quais a PGE2 promovem a cicatrização de úlceras gástricas envolvem a formação de tecido de granulação, a contração do tecido ulcerado e a reepitelização (TARNAWSKI; STACHURA; DOUGLAS, 1991). Logo, drogas que possuam menor efeito adverso sobre a fisiologia gástrica têm sido uma preocupação para o tratamento em substituição aos DAINES (HAGIWAMA *et al.*, 2005).

Reconhece-se que o NO é capaz de atuar adicionalmente (modulação sinérgica) ao efeito gastroprotetor das prostaglandinas, estimulando a vasodilatação, a permeabilidade vascular e a produção dessas substâncias. Em modelos animais de úlcera gástrica, a inibição da óxido nítrico sintetase – NOS com L-NAME tem

provocado o agravamento das lesões (KHATTAB; GAD; ABDALLAH, 2001), enquanto que a administração do seu precursor (a L-Arginina), tem demonstrado efeito gastroprotetor contra lesões gástricas, por aumento da cicatrização das úlceras e estimulação da angiogênese (KONTUREK *et al.*, 1993; KHATTAB; GAD; ABDALLAH, 2001).

Nesse sentido, também o misoprostol, um derivado da PGE1, uma prostaglandina citoprotetora, tem sido empregada na prevenção da úlcera péptica (FOEGH; RAMWELL, 2005). Estudos apontam que esse fármaco exerce efeito gastroprotetor através da inibição da secreção ácida gástrica, aumento da circulação sanguínea e da produção de bicarbonato, sendo útil na restauração da barreira protetora da mucosa gástrica em pacientes que fazem uso crônico de ácido acetilsalicílico ou agentes antiinflamatórios não-esteroides (SANTOS; SILVA, 2006; RANG *et al.*, 2004).

Na presente investigação, portanto, foi possível demonstrar a relação entre o efeito protetor gástrico das prostaglandinas e do óxido nítrico, tendo em vista que a ação gastroprotetora do EHSR foi reduzida quando da administração da indometacina e significativamente reduzida na presença de L-NAME, ambos ensaios que bloquearam a produção dessas substâncias com ação gastroprotetora.

O EHSR foi capaz de manter seu efeito gastroprotetor na presença de glibenclamida e da ioimbina, um agente bloqueador dos canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP e um bloqueador dos receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$ , respectivamente, o que evidencia que o mesmo não atuaria, em seu efeito protetor sobre a mucosa gástrica, através dessas vias.

Desse modo, a participação dos canais K<sup>+</sup> ATP-dependentes se dá através do relaxamento da musculatura lisa, causando vasodilatação. Esses canais também exercem efeito sobre a secreção de ácido e o fluxo sanguíneo do estômago. A literatura reporta que a Glibenclamida provavelmente exerceria efeito agressor à mucosa gástrica através da diminuição do fluxo sanguíneo (BEECH *et al.*, 1993; TOROUDI *et al.*, 1999).

E ainda, a modulação da atividade dos receptores  $\alpha_2$  periféricos, localizados nos gânglios parassimpáticos intramurais, diminui a descarga vagal da Acetilcolina, o que conseqüentemente, provoca redução da secreção e motilidade gástrica e aumenta o fluxo sanguíneo. Esses receptores atuam, portanto, na defesa gástrica contra agentes agressores tais como o etanol (YELKEN *et al.*, 1999). A ioimbina, por sua vez, consiste em um alcalóide indólico que atua bloqueando os receptores  $\alpha_2$  pré-sinápticos (HOFFMAN, 2007),

Em relação à citoproteção gástrica, reconhece-se o efeito da capsaicina, a qual consiste em uma substância obtida a partir da pimenta vermelha – *Pipper*, que em pequenas doses atua na proteção gástrica a partir dos receptores aferentes sensíveis à capsaicina, atuando sobre a microcirculação através do óxido nítrico (SZOLCSANYI; BARTHO, 2001). E ainda, essa substância atua na defesa da mucosa gástrica através das prostaglandinas, do aumento da secreção de muco e bicarbonato, da dilatação das arteríolas da submucosa e aumento da vasodilatação. Também, a capsaicina promove o aumento na produção de óxido nítrico, via cNO (KATO *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2004).

A capsaicina está envolvida na proteção da mucosa gástrica contra agentes ulcerogênicos, atividade esta que envolve neuropeptídeos como a calcitonina. Nesse contexto, estudos têm evidenciado que a administração oral de Capsaicina exerce proteção gástrica contra lesões induzidas por etanol (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999; PARK *et al.*, 2000).

Desse modo, o EHSR em associação à capsaicina, ambos em baixas doses, foi capaz de potencializar o efeito gastroprotetor dessa substância, fato que nos leva a supor que o extrato pode atuar adicionalmente à capsaicina em sua atividade citoprotetora sobre a mucosa gástrica.

Esse aspecto pode também estar relacionado à interação dos componentes químicos do EHSR com as prostaglandinas endógenas e o óxido nítrico, tendo em vista vez que o bloqueio da síntese desses compostos, pelo emprego de antagonistas específicos, foi capaz de reduzir de modo significativo, a ação gastroprotetora do extrato na presença de L-NAME, e diminuir de modo mais discreto o efeito gastroprotetor do EHSR quando da administração de Indometacina, evidenciando que o mesmo mantém uma relação de dependência desses constituintes para seu efeito protetor gástrico, e ainda, conforme já mencionado, a capsaicina é capaz de aumentar a produção de NO e ainda, tem sua ação relacionada à presença de prostaglandinas, o que nos permite sugerir que a potencialização gastroprotetora observada do extrato quando da associação a essa substância pode ter correlação com a via do NO e das prostaglandinas.

#### **5.4 Efeito do EHSR sobre a Motilidade Intestinal**

As funções fisiológicas do trato gastrointestinal são reguladas por processos complexos que envolvem a participação do sistema nervoso central, hormônios, sistema

nervoso autônomo, plexo mioentérico e neurotransmissores. A Acetilcolina se caracteriza como um dos neurotransmissores cujo papel se encontra mais amplamente elucidado, a qual exerce estimulação gastrintestinal. É um neurotransmissor endógeno das sinapses e junções neuroefetoras colinérgicas do sistema nervoso central e periférico, cujas ações são mediadas por receptores nicotínicos e muscarínicos. Desse modo, os antagonistas muscarínicos exercem efeitos inibitórios prolongados na atividade motora do estômago, duodeno, do jejuno, do íleo e do colo intestinal, caracterizados pela redução do tônus e na amplitude e na frequência das contrações peristálticas. Assim, a atropina bloqueia a ação muscarínica da Acetilcolina, pela ação competitiva dos receptores muscarínicos nas células efetoras e nas células ganglionares autônomas (GUYTON; HALL, 2006).

A via colinérgica responsável pela inervação da camada muscular lisa do trato gastrintestinal, através dos receptores muscarínicos M1 e M3, exerce efeito imperioso sobre a motilidade intestinal, sendo que a alteração dessa função está correlacionada ao aparecimento de distúrbios gastroesofágicos. Reconhece-se que a Acetilcolina estimula diretamente a secreção de ácido através da ativação dos receptores M3 nas células parietais (HANSEN, 2003).

Assim, a presente investigação demonstrou que o EHSR em dose maior (100mg/Kg; v.o.) foi capaz de reduzir a motilidade intestinal. Entretanto, esse efeito não foi observado pela administração de EHSR em baixa dose (5mg/Kg; v.o.). O EHSR combinado à atropina em baixa dose também não alterou a motilidade intestinal de forma significativa, o que nos permite inferir que o extrato não exerce efeito sobre os receptores muscarínicos M1 e M3, pois não foi capaz de atuar na redução da motilidade intestinal em associação com a atropina, antagonista muscarínico.

As evidências da pesquisa também nos levam a crer que provavelmente o efeito do EHSR, em dose mais elevada, sobre a redução da motilidade intestinal, tem relação com o conteúdo mais acentuado de constituintes químicos presentes no extrato, no intestino delgado dos camundongos quando do emprego de maior dose deste.

Nesse contexto, estudos sobre a avaliação do trânsito intestinal em camundongos demonstraram significativa redução da motilidade intestinal dos animais após administração dos extratos metanólico e hidrometanólico de *Byrsonima cinera*, em doses de 1000mg/Kg, espécie vegetal que apresenta flavonóides, aos quais foram atribuídas propriedades anti-diarréica em ratos e redutora da motilidade do trânsito intestinal de camundongos (GALVEZ *et al.*, 1993; GALVEZ *et al.*, 1996; RAO *et al.*,

1997). É possível, portanto, que a ação do EHSR em dose mais elevada, sobre a diminuição da motilidade intestinal, mantenha relação com a presença de flavonóides em sua composição química.

O estudo das propriedades bioativas atribuídas ao EHSR permite afirmar que o mesmo traz perspectivas reais de utilização da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. como produto natural para descoberta de novas drogas com potencial biológico, sobretudo, para as propriedades avaliadas em modelos *in vivo* (gastroproteção) e *in vitro* (importante atividade moduladora de antibióticos aminoglicosídeos), ao passo em que se espera também que a pesquisa possa contribuir para o interesse de pesquisadores da área da bioprospecção farmacológica.

## 6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos a partir desse estudo, o qual buscou identificar atividades bioativas (antiúlcera e antimicrobiana), e ainda, desenvolver levantamento etnofarmacológico e realizar teste hipocrático de toxicidade aguda com determinação da DL50% do extrato hidroalcoólico das cascas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., possibilita elaborar as seguintes conclusões:

- As cascas da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. são utilizadas por comunidades residentes na Chapada do Araripe para fins medicinais em ferimentos, infecções, inflamação, gastrite, dor e outras afecções à saúde, especialmente, na forma de decocto e imersão em água;

- O EHSR, na avaliação da toxicidade oral aguda, não apresentou morbidade e mortalidade com exceção da dose de 5000mg/Kg. No entanto, o mesmo foi capaz de conduzir ao óbito em todas as doses testadas por via intraperitoneal com exceção à dose de 17.5mg/Kg;

- A DL50% obtida a partir da toxicidade oral aguda e intraperitoneal do EHSR foi de 3162,28mg/Kg e 31,02mg/Kg, respectivamente, o que demonstra baixa toxicidade para a via oral e efeito tóxico importante para a via intraperitoneal;

- O EHSR não apresentou atividade antimicrobiana clinicamente significativa pela técnica de microdiluição, no entanto, o mesmo apresentou importante ação moduladora frente às drogas antimicrobianas utilizadas;

- O EHSR evidenciou significativa atividade gastroprotetora contra lesões gástricas induzidas por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina;

- O estudo dos mecanismos de ação gastroprotetora do EHSR revelou que essa atividade é dependente da presença de óxido nítrico e de prostaglandinas;

- O EHSR associado à capsaicina, ambos em baixas doses, foi capaz de potencializar o efeito gastroprotetor da mesma;

- O EHSR, em dose mais elevada, foi capaz de reduzir a motilidade intestinal em camundongos, fato que não ocorreu em menor dose, tampouco, quando da associação deste à atropina, o que nos permite afirmar que não há interação do EHSR com a via colinérgica;

Portanto, a investigação sobre as propriedades bioativas (gastroproteção e efeito antimicrobiano) do EHSR permite evidenciar que a espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. representa uma promissora fonte natural para utilização na terapêutica farmacológica, sobretudo, considerando-se seu potencial antiulcerogênico e modulador da atividade antibiótica para fármacos aminoglicosídeos, sendo importante nessa perspectiva, investimentos em outros biensaíais com a espécie, utilizando-se como referência as informações etnofarmacológicas e os ensaios pré-clínicos desse estudo.

**REFERÊNCIAS**

- ABITOL, R. A. Doença ulcerosa péptica. **Medstudentes**. 2005
- AIHARA, E. *et al.* Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. **Life Sciences**, v. 80, p. 2446-2453, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P.; LUCENA, R. F. P.; CUNHA, L. V. F. C. **Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica**. Recife: Comunigraf; 2008.
- ALLEN, A. *et al.* Gastroduodenal mucosal protection. **Physiological Reviews**, v.73, p. 823-857, 1993.
- ALMEIDA, A. C. *et al.* Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Ciência Rural**, 2009.
- ARANGO, A. C. M.; SÁNCHEZ, J. G. B.; GALVIS, L. A. B. Productos naturales con actividad antimicótica. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 17, p. 325–331, 2004.
- ARAÚJO, T. A. S. *et al.* A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents form the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 72-80, 2008.
- ARAÚJO, F. L. O. **Estudo dos efeitos antinociceptivos e antiinflamatórios de (Ometil)-N-benzoil tiramina (riparina I) de *Aniba riparia* (NEES) MEZ (Lauraceae) em camundongos [dissertação]**. Fortaleza; 2007.
- ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S.; DUBOIS, A. Eicosanoids and the stomach. **Prostaglandins e other Lipid Mediators**, v. 61, p. 105-124, 2000.



AUDI, E .A. *et al.* Biological activity and quality control of extract and stem bark from *Stryphnodendron adstringens*. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 23, p.328–333, 2004.

AUDI, E. A. *et al.* Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 264-266, 1999.

AUGUSTO, L. G. S.; GÓES, M. L. Compreensões integradas para a vigilância da saúde em ambiente de floresta: o caso da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.23, p. 549-558, 2007.

BAZZANO, F. C. O. Aspectos Éticos da Pesquisa Científica, p. 149-180. In: SILVA, José Vitor da (Org.) et al. **Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa**. 1. ed. São Paulo: Iátria, 2006.

BEECH, D. J. *et al.* K channel activation by nucleotide diphosphates and its inhibition glibenclamide in vascular smooth muscle cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, p. 573-582, 1993.

BELAICHE, J. *et al.* Study group of NSAID-GI complications. Observational survey of NSAID-related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. **Acta Gastroenterology Belgium**, v. 65, p. 65-73, 2002.

BERNE, R. M. *et al.* **Physiology**. 15.ed. Mosby, 2007.

BESANI-AMADO, C. A. *et al.* Avaliação das atividades antiinflamatória e antibacteriana do estrato bruto do *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). In: **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. UFSC, 1996, p. 14.

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

BIRDANE, F. M. *et al.* Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 4, p. 607-611, 2007.

BOOTHE, D. M. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. **Gastrointestinal Pharmacology**, v. 29, n.2, p. 343-376, 1999.

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

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

\_\_\_\_\_. Resolução Nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. **Bioética**, v. 4, n. 2, p. 15-25, 1996.

BRODY, T. **Nutritional biochemistry**. Academic Press, San Diego, 1994.

BRZOSOWSKI, T. *et al.* Grapefruit-seed extract attenuates ethanol and stress-induced gastric lesions via activation of prostaglandin, nitric oxide and sensory nerve pathways. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, n. 41, p. 6450-6458, 2005.

CARVALHO, J. E. **Atividade antiulcerogênica e anticâncer de produtos naturais e de síntese**. Divisão de Farmacologia e Toxicologia. Universidade de Campinas, 2006.

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

CHANDRANATH, S. I.; BASTAKI, S. M.; SINGTH, J. A comparative study on the activity of lansoprazole, omeprazole and PD-136450 on acidified ethanol- and indomethacin-induced gastric lesions in the rat. **Clinical Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 29, p. 173-180, 2002.

CHANG, L. C.; KINGHORN, A. D. Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents. In: TRINGALI, C. (ed). **Bioactive Compounds from Natural Sources**. London, Taylor & Francis, 2001.

COUTINHO, H. D. M.; CORDEIRO, L. N.; BRINGEL, K. P. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from the population of Juazeiro do Norte – Ceará. **Revista Brasileira de Ciência e Saúde**, v. 9, p. 127-138, 2005.

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

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

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

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

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. **The New York Botanical Garden**, p. 261-449, 1988.

DAVID, J. P. de L.; DAVID, J. M. Plantas medicinais. Fármacos derivados de plantas. In: PENILDON, S. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 22, p. 149-159, 2006.

DE BRUYNE, T. *et al.* Biological evaluation of proanthocyanidins and related polyphenols. **Journal of Natural Products**, v. 62, p.954-958, 1999.

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

DETERS, A. *et al.* High molecular compounds (polysaccharides and proanthocyanidins) from *Hamamelis virginiana* bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. **Phytochemistry**, v. 58, p. 949-958, 2001.

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

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

DURSUN, H. *et al.* Antiulcer activity of fluvoxamine in rats and its effect on oxidant and antioxidant parameters in stomach tissue. **BMC Gastroenterology**, v. 9, n.36, 2009.

EKBLAD, E.; MEI, Q.; SUNDLER, F. Innervation of the gastric mucosa. **Microscopy Research and Technique**, v.48, p.241-257, 2000.

EURIDES, D. *et al.* Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas em camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 2/3, n.1, p. 30-40, 1996.

**FALCAO, H.S. et al. Plants of the American continent with antiulcer activity. Phytomedicine, p. 15-132, 2008.**

FARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. 4.ed. (Fasc.4, monografia 176). São Paulo: Atheneu, 2002.

FELIPE, A. M. M. *et al.* Antiviral effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on poliovirus and bovine herpesvirus. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, p. 1092-1095, 2006.

FERNANDEZ, O. *et al.* Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, p. 564-568, 2000.

FERRO, D. História da fitoterapia. In: **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Editora Atheneu, cap. 01, p. 01-08, 2006.

FOEGH, M. L.; RAMWELL, P. W. Os Eicosanóides: prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e compostos relacionados. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia: básica e clínica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 18, p. 252-263, 2005.

FONSECA, P.; LIBRANI, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*) **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 2, p. 1-8, abr./jun. 2008.

GALVEZ, J. *et al.* Antidiarrheic activity of quercitrin in mice and rats. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 45, n. 2, p. 157-159, 1993.

GALVEZ, J. *et al.* Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. **Phytotherapy Research**, v. 10, n. 1, p. 66-69, 1996.

GANGAROSA, L. M.; SEIBERT, D. G. Fármacos utilizados nas doenças gastrintestinais. In: LIPPINCOTT; WILLIANS; WILKINS. **Farmacologia moderna e aplicações clínicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 40, p. 440-452, 2005

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

GANONG, W. F. Regulação da função intestinal. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia médica**. 19.ed. Mc Graw Hill, cap. 26, Seção V, p. 348-372, 2000.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5.ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GILANI, A. H.; ATTA-ur-RAHMAN. Trends in ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 43-49, 2005.

GUPTA, M. B. *et al.* Antiulcer activity of some plant flavonoids. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 73, p. 649-652, 1981.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. 11. ed. Elsevier, 2006.

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

HAGIWAMA, M. *et al.* Inhibitory effect of fluvastatin on ileal ulcer formation in rats induced by nonsteroidal anti-inflammatory drug. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11, p. 1040-1043, 2005.

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

HANSEN, M. B. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. **Physiological Research**, v. 52, p. 1-30, 2003.

HAYLLAR, J.; BJARNASON, I. NSAIDs, Cox-2 inhibitors, and the gut. **Lancet**, v. 346, p. 521-522, 1995.

HAWKEY, C. J.; LANGMAN, M. J. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors. **Gut**, v. 52, p. 600-608, 2003.

HEIDELBERG, B. **Fitoterapia**. São Paulo: Editora Manole, 2001.

HEMAISWARYA, S.H.; KRUTHIVENTI A.K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against diseases. **Phytomedicine**, v. 15, p. 639-652, 2008.

HO, K. Y. *et al.* Antimicrobial activity os tannin components from *Vaccinium vitisiadaea* L. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 187-91, 2001.

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

HOLETZ, F. B. *et al.* Biological effects of extracts obtained from *Stryphnodendron adstringens* on *Herpetomonas samuelpe-soai*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 397–401, 2005.

HOU, W.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p. 593–598, 2006.

HOUGHTON, P. J. *et al.* Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 391–400, 2007.

HULLEY, S. B. *et al.* **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2003.

ISHIDA, K. *et al.* Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growyh and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p. 942-949, 2006.

JAVADPOUR, M. M. *et al.* De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 3107-3113, 1996.

KATO, S. *et al.* Expression of vanilloid receptors in rat gastric epithelial cells: role in cellular protection. **Biochemical Pharmacology**, v. 66, p. 1115-1121, 2003.

KATZUNG, B. G. **Basic □ Clinical Pharmacology**. 10. ed. McGraw-Hill Companies, 2007.

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

KHALIF, M. A. *et al.* Evaluation of the anti-ulcer activity of pibutidine hydrochloride (IT-066): the new histamine H<sub>2</sub>-receptor antagonist, in cold-restraint stress- and ethanol-induced ulcer models in rats. **Al Azhar Medical Journal**, v. 31, p. 33-47, 2002.

KHATTAB, M. M.; GAD, M. Z.; ABDALLAH, D. Protective role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric ulceration by a mechanism independent of gastric acid secretion. **Pharmacology Research**, v. 43, p. 463-467, 2001.

KINOSHITA, M.; TSUNEHISA, N.; TAMAKI, H. Effect of a combination of ecabet sodium and cimetidine on experimentally induced gastric-lesions and gastric-mucosal resistance to ulcerogenic agents in rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 18, p. 223-226, 1995.

KONTUREK, S. *et al.* Inhibition of nitric oxide synthase delays healing of chronic gastric ulcers. **European Journal of Pharmacology**, v. 239, p. 215-217, 1993.

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

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Inflamação aguda e crônica. In: \_\_\_\_\_. **Patologia: bases patológicas das doenças**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 2, p. 49-89, 2005.

KYOGOKU, K. *et al.* Anti-ulcer effect of isoprenyl flavonoids. II. Synthesis and anti-ulcer activity of new chalcones related to saphoradin. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 2943-2954, 1979.



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

LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; DE SOUZA, JR. P. T. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 218-220, 1998.

LIPOF, T.; SHAPIRO, D.; KOZOL, R. A. Surgical perspectives in peptic ulcer disease and gastritis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, p. 1248-3252, 2006.

LIU, C.; CRAWFORD, J. M. O trato gastrointestinal. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia: bases patológicas das doenças.** 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 17, p. 837-918, 2005.

LOPES, G. C. *et al.* Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n.1, p. 135-143, 2009.

LOPES, G. C. *et al.* Estudo físico-químico, químico e biológico de extrato das cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, p. 24-27, 2003.

LOPES, G. C. *et al.* Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. 2005.

LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

LUIZE, P. S. *et al.* Effects of medicinal extracts on growth of *Leishmania* (L.) *amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, p. 1-10, 2005.

MACEDO, M.; FERREIRA, A.R. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 40-44, 2004.

MACHADO, J. G. S. *et al.* Análise bioética da legislação brasileira aplicável ao uso de animais não-humanos em experimentos científicos, p. 45-62. In: GARRAFA, Volnei; CORDÓN, Jorge (Orgs.). **Pesquisas em bioética no Brasil de hoje**. São Paulo: Gaia, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTIN, G. R.; WALLACE, J. L. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair. **Experimental Biology and Medicine**, v. 231, n. 2, p. 130-137, 2006.

MARTINS, D. T. O.; LIMA, J. C. S.; RAO, V. S. N. The acetone soluble form bark extract of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville inhibits gastric acid secretion and experimental gastric ulceration in rats. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 427-431, 2002.

MARTINS, P. S. *et al.* Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em eqüinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n.2, p. 1-7. 2003.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Editora UFC, 1997.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2.ed. Fortaleza: IU, 2000.

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

MATSUDA, H. *et al.* Protective effects of steroid saponins from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* on ethanol – or indometacin-induced gastric mucosal lesions in rats: Structural requirement for activity and mode of action. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, 2003, p. 1101-1106.

MAZA, P. K. *et al.* Effects of *Stryphnodendron adstringens* of ultrastructures of promastigote forms of *Leishmania amazonensis*. In: Programs and Abstracts Nineteenth Congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalysis. **Acta Microscopia**, v. 12, p. 317-318, 2003.

MELO, J. O. *et al.* Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) bark on animal models of nociception. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 3, p. 465-469, 2007.

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, New York. v. 41, p. 807-813, 1996.

MIDDLETON, JR.; KADASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p. 673-751, 2008.

MILA, I.; SCALBERT, A.; EXPERT, D. Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1551-1555, 1996.

MIZUI T.; SHIMONO N.; DOTEUCHI M. A possible mechanism of protection by polyamines against gastric damage induced by acidified ethanol in rats: polyamine protection may depend on its antiperoxidative properties. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 43-50, 1987.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOREIRA, R. C. T. *et al.* Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 205-211, 2002.

MOURE A. *et al.* Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

MULLER-KUHRT, L. Putting nature back into drug discovery. **Nature Biotechnology**, v.21, n.6, 2003.

MURPHY, H. S.; WARD, P. A. Inflamação. In: RUBIN, E. *et al* **Patologia: bases clinicopatológicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 2, p. 42-85, 2006.

NEVES, M. C. L. *et al.* Estudo dos efeitos farmacológicos produzidos pelo extarto aquoso de hamamelis e barbatimão. In: **VIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental FesBE**. 1992.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NISHIO, H. *et al.* Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodoacetamide treatment. **Life Sciences**, v. 79, p. 1523-1530, 2006.

NUNES, G.P. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 83-92, 2003.

OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, p. 421-427, 1988.

OECD. OECD Guidelines for the testing of chemicals. **Acute Oral Toxicity-Up-and-Down-Procedure (UDP)**, 2008.

OKABE, S.; AMAGASE, K. An overview of acetic acid ulcer models – The history and state of the art of peptic ulcer research. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 8, p. 1321-1341, 2005.

OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2012-2031, 2005.

OLIVEIRA, I. G.; CARTAXO, S. L.; SILVA, M. A .P. Plantas utilizadas na farmacopéia popular em Crato, Juazeiro e Barbalha (Ceará, Brasil). **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v.5, p. 189-191, jul. 2007.

PALMER, R. M.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, p.524-26, 1987.

PARK, J. S. *et al.* Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. **Life Science**, v. 67, n. 25, p. 3087-3083, 2000.

PEREIRA, M. N. S.; ANDRADE, A. C. U.; PILÓ-VELOSO, D. Isolamento e identificação de metabólitos secundários das folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. In: **Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, 17, Cuiabá, UFMT, 2002.

PLANTAMED. *Stryphnodendron barbatiman* Mart. – Barbatimão, 2010. Disponível em [www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Stryphnodendron\\_barbatiman.htm](http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Stryphnodendron_barbatiman.htm)

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

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

RAO C. V. *et al.* Antiulcer activity of *Uleria salicifolia* rhizome extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 243-249, 2004.

RAO, V. S. N. *et al.* Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Médica**, v.63, n. 2, p. 146-149, 1997.

RANG, H.P. *et al.* **Farmacologia**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora: 2004.

RAUHA, J. P. *et al.* Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, p. 3-12, 2000.

REBECCA, M. A. *et al.* Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 101-104, 2002.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used is popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 523-534, 2006.

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização da fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v. 36, n. 3, p. 282-288. 2002.

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.

ROBERT *et al.* Protection by prostaglandins in rat. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCL, hypertonic NaCL, and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433-443, 1997.

RODRIGUES, F. F. G. *et al.* Antiulcer and antimicrobial activities of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. **Pharmacognosy Magazine**, v. 4, n. 15, p. 1931-1996, 2008.

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

SAMONINA, G. E. *et al*. Antiulcer effects of amylin: a review. **Phatophysiology**, v. 11, p. 01-06, 2004.

SANCHES, A. C. C. *et al*. Atividades antioxidante e antifúngica de extratos e taninos condensados de casca *obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n, 1, jan, 2005.

SANTOS, D. R. D.; SILVA, L. R. farmacologia clínica das drogas ulcerosas e antidispépticas. In: PENILDON, S. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 88, p. 883-887, 2003.

SANTOS, F. A; RAO, V. S. N. 1,8-Cineol, a o flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, 2001, p. 331-337.

SANTOS, S. C.; MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O. (Org.) **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 24, p. 615-656, 2007.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 16, p. 403-434, 2007.

SANTOS, S. C. *et al*. Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**, v. 73, p. 292-299, 2002.

SANTOS, C. A. M.; TORRES, K. R.; LEONART, R. Plantas medicinais (Herbarium Flora et Scientia). Curitiba, **Scientia et Labor**, p. 39, 1987.

SANTOS, V. R. *et al*. Susceptibility of oral pathogenic microorganisms to aqueous and ethanolic extarcts of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **Internatioanl Journal of Dentistry**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2009.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883, 1991.

SCHELLACK, G. **Farmacologia**: uma abordagem didática. São Paulo: Editora Fundamento Educacional, 2005.

SCHOFIELD, P. D., MBUGUA, M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 21-40, 2001.

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

SHAH, V. *et al.* Nitric Oxide in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, v. 126, p. 903-913, 2004.

SHIGETA, J-I.; TAKAHASHI, S.; OKABE, S. Role of cicloxygenase-2 in the healing of gastric ulcers in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 286, p. 1383-1390, 1998.

SHIRIN, H. *et al.* Helicobacter pillory decreases gastric mucosal glutathione. **Cancer Letters**, v. 26, n. 2, p. 127-133, 2001.

SILVA, C. H. T. P. **Validação de metodologia analítica para matéria-prima e produto acabado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville.** [Dissertação], 2007. 75p.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, 1999.

SINGH, G. *et al.* Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* oil and its acetone extract. **Food Control**, v. 17, p. 745-752, 2006.

SIQUEIRA, K. M. *et al.* Crenças populares referentes à saúde: apropriação de saberes sócio-culturais. **Texto & Contexto – Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 68-73. 2006.



SOARES, S. P. *et al.* Atividade antibacteriana do extrato hidroalcolico de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odontologia e Ciência**, v. 23, n. 2, p. 141-144, 2008.

SOHN, H. Y. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L. *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. **Phytomedicine**, v. 11, p. 666-672, 2004.

SOUZA, T. M. *et al.* Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2007.

SULEYMAN H. *et al.* Antiulcerogenic effect of *Hippophae rhamnoides* L. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 625-627, 2001.

SZABO, S. Mechanisms of mucosal injury in the stomach and duodenum: time-sequence analysis of morphologic, functional, biochemical and histochemical studies. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 127, p. 21-28, 1987.

SZOLCSANYI, J.; BARTHO, L. Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: a update. **The Journal of Physiology**, v. 95, n. 1-6, p. 181-188, 2001.

TAKEUCHI, K. *et al.* Prostaglandin EP receptor subtypes and gastric cytoprotection. **Inflammopharmacology**, v. 10, n. 4-6, 2002, p. 303-312.

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

TARNAWSHI, A. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences** v. 50, s. 1, p. 24-33, 2005.

TARNAWSKI, A. *et al.* Indomethacin impairs quality of experimental gastric ulcer healing: a quality histologic and ultrastructural analysis. In: GARNER, A.; O'BRIAN, P.E.J, editors. **Mechanism of injury, protection and repair of the upper gastrointestinal tract.** Chester: Wiley & Sons, p. 521-531, 1991.

TARNAWSKI, A.; HOLANDER, D. Cytoprotection of gastric and duodenal mucosa. The Royal Society of Medicine. **Current Medicinal Literature Gastroenterology**, v. 6, p. 3-9, 1987.

TEPPERMAN, B .I.; WHITTLE, B. J. R. Endogenous nitric oxide and sensory neuropeptides interact in modulation of the rat gastric microcirculation. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 105, p. 171-175, 1992.

TOMA, W. Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 19-23, 2003.

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

TOROUDI, H. P. *et al.* Potassium channel modulators and indometacin-induced gastric ulceration in rats. **Scand Journal Gastroenterology**, v. 34, n. 10, p. 962-966, 1999.

TSUCHIYA, H. *et al.* Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavonones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 50, p. 27-34, 1996.

TULP, M.; BOHLIN, L. Unconventional natural sources for future drug discovery. **Drug Discovery Today**, v.9, n.10, p. 450-458, 2004.

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

UPADHYAY, B. *et al.* Ethnomedicinal and ethnopharmaco-statistical studies of Eastern Rajasthan, Índia. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 1-23, 2010.

VASCONCELOS, M. C. A. *et al.* Avaliação das atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, 2004, p. 121-127.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**, v. 16, p. 97-110, 2009.

WAGNER, H.; WISENAUER, M. **Fitofármacos, farmacologia e aplicações clínicas**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2006

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

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

WALLACE, J. L. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. **American Journal of Medicine**, v. 110, p. 19-22, 2001.

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

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, information retrieval. 1992. Disponível em: <http://delta-intkey.com/angio/www/legumino.htm>.

WENDAHOON, C.; SAKAGUCHI, M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. **Journal Food Protection**, v. 58, p. 280-283, 1995.

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

YAO, X.; FORTE, J. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. **Annual Review of Physiology**, v. 65, p. 103-131, 2003

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

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

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Editora da UFSC; cap. 23, p. 577-614, 2007.

**ANEXOS**

**Anexo 1** – Tabelas de resultados sobre os testes de gastroproteção com os dados dos percentuais de área ulcerada e de redução de lesão gástrica; Análise de Variância – ANOVA;

**Anexo 2** – Formulário da pesquisa etnofarmacológica.

**TABELA 13.** Efeito do EHSR no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	20,52±2,29	-
Controle positivo (Omeprazol)	30 (v.o.)	0,80±0,50***	96,10
EHSR	10 (v.o.)	0,41±0,16***	98,00
	25 (v.o.)	0,20±0,11***	99,02
	50 (v.o.)	0,43±0,15***	97,90
	100 (v.o.)	0,12±0,62***	99,41
	250 (v.o.)	3,32±0,82***	83,82
	500 (v.o.)	0,23±0,12***	98,87

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

**TABELA 14. Análise de Variância (ANOVA) - Modelo de lesões gástricas induzidas por Etanol absoluto (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	8			
F	57,21			
R squared	0,9133			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	71,41			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	2044	7	292,1	
Residual (within columns)	194,0	38	5,105	
Total	2238	45		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
EHSR (25mg/kg) vs CL	-20,31	22,02	Yes	***
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-3,113	3,375	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,9197	---	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs OMEPRAZOL 30mg/kg	-0,5917	---	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-0,2300	---	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-0,2100	---	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (500mg/kg)	-0,02667	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs CL	-20,28	21,99	Yes	***
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-3,087	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,8930	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs OMEPRAZOL 30mg/kg	-0,5650	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-0,2033	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-0,1833	---	No	ns
EHSR (10mg/kg) vs CL	-20,10	21,79	Yes	***
EHSR (10mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-2,903	---	No	ns
EHSR (10mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,7097	---	No	ns
EHSR (10mg/kg) vs OMEPRAZOL 30mg/kg	-0,3817	---	No	ns
EHSR (10mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-0,02000	---	No	ns

EHSR (50mg/kg) vs CL	-20,08	21,77	Yes	***
EHSR (50mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-2,883	---	No	ns
EHSR (50mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,6897	---	No	ns
EHSR (50mg/kg) vs OMEPRAZOL 30mg/kg	-0,3617	---	No	ns
OMEPRAZOL 30mg/kg vs CL	-19,72	20,38	Yes	***
OMEPRAZOL 30mg/kg vs EHSR (250mg/kg)	-2,522	---	No	ns
OMEPRAZOL 30mg/kg vs EHSR (100mg/kg)	-0,3280	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs CL	-19,39	20,04	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-2,194	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs CL	-17,20	18,64	Yes	***



**TABELA 15.** Efeito do EHSR (via intraperitoneal) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo)	-	26,60±3,43	26,60±3,43
	5(i.p.)	7,13±1,63***	73,19
EHSR	20 (i.p.)	9,30±1,35***	65,04
	5(v.o.)	4,31±1,82***	83,71
	25 (v.o.)	0,20±0,11***	99,24

Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHSR (5mg/Kg e 20mg/Kg; i.p.; 5mg/Kg e 25mg/Kg; v.o.) ou o veículo (0,1ml/10g, v.o., para o grupo controle lesionado), 30 minutos antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 6 animais por grupo. \*\*\*p<0,001 vs controle lesionado (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

**TABELA 16. Análise de Variância (ANOVA) - Modelo de lesões gástricas induzidas por Etanol absoluto (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	16,96			
R squared	0,6863			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	40,03			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	3929	4	982,3	
Residual (within columns)	1796	31	57,93	
Total	5725	35		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
EHSR (25mg/kg, v.o.) vs CL	-26,40	9,809	Yes	***
EHSR (25mg/kg, v.o.) vs EHSR (20mg/kg, i.p.)	-9,093	2,927	No	ns
EHSR (25mg/kg, v.o.) vs EHSR (5mg/kg, i.p.)	-6,927	---	No	ns
EHSR (25mg/kg, v.o.) vs EHSR (5mg/kg, v.o.)	-4,105	---	No	ns
EHSR (5mg/kg, v.o.) vs CL	-22,29	8,284	Yes	***
EHSR (5mg/kg, v.o.) vs EHSR (20mg/kg, i.p.)	-4,988	---	No	ns
EHSR (5mg/kg, v.o.) vs EHSR (5mg/kg, i.p.)	-2,822	---	No	ns
EHSR (5mg/kg, i.p.) vs CL	-19,47	7,235	Yes	***
EHSR (5mg/kg, i.p.) vs EHSR (20mg/kg, i.p.)	-2,167	---	No	ns
EHSR (20mg/kg, i.p.) vs CL	-17,30	6,430	Yes	***

**TABELA 17.** Efeito do EHSR no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	23,19±3,09	-
Controle positivo (Omeprazol)	30 (v.o.)	3,58±0,56***	84,57
EHSR	10 (v.o.)	6,35±1,42***	72,62
	25 (v.o.)	5,45±1,50***	76,50
	50 (v.o.)	4,34±1,29***	81,29
	100 (v.o.)	1,22±0,40***	94,74
	250 (v.o.)	0,99±0,30***	95,73
	500 (v.o.)	0,36±0,16***	98,44

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

**TABELA 18. Análise de Variância (ANOVA) - Modelo de lesões gástricas induzidas por Etanol acidificado (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	8			
F	18,70			
R squared	0,7705			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	62,21			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	3345	7	477,8	
Residual (within columns)	996,4	39	25,55	
Total	4341	46		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
EHSR (500mg/kg) vs CL	-22,83	12,37	Yes	***
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-5,985	2,765	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (25mg/kg)	-5,091	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-3,975	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs OMEPRAZOL (30mg/kg)	-3,218	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,8630	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-0,6310	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs CL	-22,20	11,34	Yes	***
EHSR (250mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-5,354	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs EHSR (25mg/kg)	-4,460	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-3,344	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs OMEPRAZOL (30mg/kg)	-2,587	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,2320	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs CL	-21,96	11,22	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-5,122	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (25mg/kg)	-4,228	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-3,112	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs OMEPRAZOL (30mg/kg)	-2,355	---	No	ns
OMEPRAZOL (30mg/kg) vs CL	-19,61	10,62	Yes	***
OMEPRAZOL (30mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-2,767	---	No	ns
OMEPRAZOL (30mg/kg) vs EHSR (25mg/kg)	-1,873	---	No	ns

OMEPRAZOL (30mg/kg) vs EHSR (50mg/kg)	-0,7567	---	No	ns
EHSR (50mg/kg) vs CL	-18,85	9,630	Yes	***
EHSR (50mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-2,010	---	No	ns
EHSR (50mg/kg) vs EHSR (25mg/kg)	-1,116	---	No	ns
EHSR (25mg/kg) vs CL	-17,74	9,060	Yes	***
EHSR (25mg/kg) vs EHSR (10mg/kg)	-0,8940	---	No	ns
EHSR (10mg/kg) vs CL	-16,84	8,603	Yes	***

**TABELA 19.** Efeito do EHSR no modelo de lesões gástricas induzidas por DAINÉ (Indometacina) em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	12,61±3,27	-
Controle positivo (Omeprazol)	30 (v.o.)	0,40±0,24***	96,82
	100 (v.o.)	0,59±0,28***	95,32
EHSR	250 (v.o.)	0,99±0,39***	92,14
	500 (v.o.)	0,67±0,31***	94,68

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

**TABELA 20. Análise de Variância (ANOVA) – Modelo de lesões gástricas induzidas por Indometacina (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	16,45			
R squared	0,7247			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	47,07			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	596,1	4	149,0	
Residual (within columns)	226,5	25	9,060	
Total	822,6	29		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
OMEPRAZOL 30 (mg/kg) vs CL	-12,20	9,790	Yes	***
OMEPRAZOL 30 (mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-0,5910	0,4991	No	ns
OMEPRAZOL 30 (mg/kg) vs EHSR (500mg/kg)	-0,2693	---	No	ns
OMEPRAZOL 30 (mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,1860	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs CL	-12,01	9,322	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-0,4050	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (500mg/kg)	-0,08333	---	No	ns
EHSR (500mg/kg) vs CL	-11,93	9,258	Yes	***
EHSR (500mg/kg) vs EHSR (250mg/kg)	-0,3217	---	No	ns
EHSR (250mg/kg) vs CL	-11,61	9,008	Yes	***

**TABELA 21.** Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	20,52±2,29	-
Controle Lesionado + L-NAME	10 (i.p.)	28,73±3,83**	-
Controle Lesionado + L-Arginina	600 (v.o.)	1,47±0,38***	92,83
EHSR + L-NAME	100 (v.o.) + 10 (i.p.)	13,79±1,28*	32,79
<b>EHSR</b>	<b>100 (v.o.)</b>	<b>1,73±0,63***</b>	<b>91,56</b>

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes, do L-NAME por via intraperitoneal, e este, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). A L-Arginina foi administrada 1 hora antes do etanol e após 30 minutos deste, os animais receberam o sacrifício. Um grupo foi tratado com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. \*\*\*p<0,001 vs controle, \*\*p<0,01 vs controle e \*p<0,05 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).



**TABELA 22. Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento do Óxido nítrico no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	34,18			
R squared	0,8402			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	26,49			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	3512	4	878,0	
Residual (within columns)	667,9	26	25,69	
Total	4180	30		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
L-ARGININA (600mg/kg) vs L-NAME (10mg/kg)	-27,25	13,67	Yes	***
L-ARGININA (600mg/kg) vs CL	-19,04	9,550	Yes	***
L-ARGININA (600mg/kg) vs L-NAME (10mg/kg) + EHSR (100mg/kg)	-12,31	6,175	Yes	***
L-ARGININA (600mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,2976	0,1493	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs L-NAME (10mg/kg)	-26,95	13,03	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs CL	-18,74	9,059	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs L-NAME (10mg/kg) + EHSR (100mg/kg)	-12,02	5,807	Yes	***
L-NAME (10mg/kg) + EHSR (100mg/kg) vs L-NAME (10mg/kg)	-14,94	7,220	Yes	***
L-NAME (10mg/kg) + EHSR (100mg/kg) vs CL	-6,728	3,252	Yes	*
CL vs L-NAME (10mg/kg)	-8,210	3,968	Yes	**

**TABELA 23.** Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	17,28±2,70	-
Controle Lesionado + Indometacina	10 (s.c.)	13,09±1,92	-
Controle Lesionado + Misoprostol	0,016 ,(v.o.)	0,57±0,25****	96,70
EHSR + Indometacina	100 (v.o.) + 10 (s.c.)	5,07±1,07****	70,65
<b>EHSR</b>	<b>100 (v.o.)</b>	<b>0,59±0,28****</b>	<b>96,58</b>

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Administrou-se tratamento com o EHSR (100mg/Kg, v.o.) ou veículo (0,1ml/10g para o grupo controle lesionado) por via oral, 1 hora antes da indometacina (10mg/Kg, s.c.) e esta, 2 horas antes da administração do etanol absoluto (0,2 mL/animal). O misoprostol foi administrado 1 hora antes do etanol e após 30 minutos deste, os animais receberam o sacrifício. Um grupo foi tratado com o EHSR, 30 minutos antes da administração do etanol absoluto. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do etanol. Foram utilizados 7 animais por grupo. \*\*\*\*p<0,001 vs controle (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

**TABELA 24. Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento das Prostaglandinas no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	18,23			
R squared	0,7017			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	37,05			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	1688	4	422,0	
Residual (within columns)	717,6	31	23,15	
Total	2406	35		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
MISOPROSTOL (0,016mg/kg) vs CL	-16,71	9,491	Yes	***
MISOPROSTOL (0,016mg/kg) vs INDOMETACINA (10mg/kg)	-12,52	7,300	Yes	***
MISOPROSTOL (0,016mg/kg) vs INDOMETACINA (10mg/kg)+EHSR(100 mg/kg)	-4,505	2,380	No	ns
MISOPROSTOL (0,016mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,02167	---	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs CL	-16,69	9,084	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs INDOMETACINA (10mg/kg)	-12,49	6,968	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs INDOMETACINA (10mg/kg)+EHSR(100 mg/kg)	-4,483	---	No	ns
INDOMETACINA (10mg/kg)+EHSR(100 mg/kg) vs CL	-12,21	6,644	Yes	***
INDOMETACINA (10mg/kg)+EHSR(100 mg/kg) vs INDOMETACINA (10mg/kg)	-8,011	4,468	Yes	**
INDOMETACINA (10mg/kg) vs CL	-4,196	2,538	No	ns

**TABELA 25.** Papel dos receptores noradrenérgicos alfa<sub>2</sub> no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	20,52±2,29	-
Controle Lesionado + ioimbina	2 (i.p.)	26,52±3,75	-
EHSR + ioimbina	100 (v.o.) + 2 (i.p.)	3,42±1,19***	88,72
<b>EHSR</b>	<b>100 (v.o.)</b>	<b>1,12±0,62***</b>	<b>96,30</b>

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

**TABELA 26. Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento dos Receptores noradrenérgicos  $\alpha_2$  no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	4			
F	26,92			
R squared	0,8096			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	12,60			
P value	0,0056			
P value summary	**			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	2686	3	895,4	
Residual (within columns)	631,9	19	33,26	
Total	3318	22		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
EHSR (100mg/kg) vs IOIMBINA (2mg/kg)	-25,39	10,28	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs CL	-19,39	7,852	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs IOIMBINA (2mg/kg)+EHSR(100mg/kg)	-2,299	0,9309	No	ns
IOIMBINA (2mg/kg)+EHSR(100mg/kg) vs IOIMBINA (2mg/kg)	-23,09	9,808	Yes	***
IOIMBINA (2mg/kg)+EHSR(100mg/kg) vs CL	-17,09	7,259	Yes	***
CL vs IOIMBINA (2mg/kg)	-6,002	2,549	No	ns

**TABELA 27.** Papel dos Canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR em modelos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	17,17±2,44	-
Controle Lesionado + glibenclamida	5 (i.p.)	13,30±2,25	-
EHSR + glibenclamida	100 (v.o.) + 5 (i.p.)	0,90±0,25***	93,23
<b>EHSR</b>	<b>100 (v.o.)</b>	<b>1,77±0,63***</b>	<b>86,69</b>

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

**TABELA 28. Análise de Variância (ANOVA) – Envolvimento dos Canais de K<sup>+</sup> dependentes de ATP no efeito gastroprotetor do EHSR (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	4			
F	19,01			
R squared	0,7038			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	25,55			
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	1334	3	444,5	
Residual (within columns)	561,1	24	23,38	
Total	1895	27		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
GLIBENCLAMIDA (5mg/kg)+EHSR(100mg/kg) vs CL	-16,27	8,552	Yes	***
GLIBENCLAMIDA (5mg/kg)+EHSR(100mg/kg) vs GLIBENCLAMIDA (5mg/kg)	-12,39	7,193	Yes	***
GLIBENCLAMIDA (5mg/kg)+EHSR(100mg/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-0,8690	0,4569	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs CL	-15,40	7,800	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs GLIBENCLAMIDA (5mg/kg)	-11,52	6,395	Yes	***
GLIBENCLAMIDA (5mg/kg) vs CL	-3,874	2,150	No	ns

**TABELA 29.** Envolvimento do EHSR em associação à Capsaicina em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/kg (via)</b>	<b>ÁREA GÁSTRICA ULCERADA (%)</b>	<b>PERCENTUAL DE REDUÇÃO (%)</b>
Controle Lesionado (veículo – solução salina 0,9%)	-	23,80±3,80	-
Controle Lesionado + Capsaicina	4 (v.o.)	1,60±0,49***	93,27
Controle Lesionado + Capsaicina	0,2(v.o.)	6,94±0,96***	73,78
EHSR + Capsaicina	5 (v.o.) + 0,2 (v.o).	2,82±0,87***	89,34
<b>EHSR</b>	<b>5 (v.o.)</b>	<b>4,31±1,82***</b>	<b>83,71</b>

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



**TABELA 30. Análise de Variância (ANOVA) – Associação do EHSR à Capsaicina (via oral).**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	5			
F	35,93			
R squared	0,8569			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	16,38			
P value	0,0026			
P value summary	**			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	Yes			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	2235	4	558,8	
Residual (within columns)	373,2	24	15,55	
Total	2609	28		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
CAPSAICINA (4mg/kg) vs CL	-24,86	15,23	Yes	***
CAPSAICINA (4mg/kg) vs CAPSAICINA (0,2mg/kg)	-5,339	3,270	No	ns
CAPSAICINA (4mg/kg) vs EHSR (5mg/kg)	-2,706	---	No	ns
CAPSAICINA (4mg/kg) vs CAPSAICINA (0,2mg/kg)+EHSR(5mg/kg)	-1,221	---	No	ns
CAPSAICINA (0,2mg/kg)+EHSR(5mg/kg) vs CL	-23,64	14,00	Yes	***
CAPSAICINA (0,2mg/kg)+EHSR(5mg/kg) vs CAPSAICINA (0,2mg/kg)	-4,118	---	No	ns
CAPSAICINA (0,2mg/kg)+EHSR(5mg/kg) vs EHSR (5mg/kg)	-1,485	---	No	ns
EHSR (5mg/kg) vs CL	-22,16	13,12	Yes	***
EHSR (5mg/kg) vs CAPSAICINA (0,2mg/kg)	-2,633	---	No	ns
CAPSAICINA (0,2mg/kg) vs CL	-19,52	11,07	Yes	***

**TABELA 31.** Efeito do EHSR sobre a motilidade intestinal em camundongos.

<b>GRUPOS</b>	<b>DOSE mg/Kg (via)</b>	<b>DISTÂNCIA PERCORRIDA PELO MARCADOR (%)</b>
Controle (veículo)	-	82,77±4,29
<b>EHSR</b>	<b>100; (v.o.)</b>	<b>63,21±2,60***</b>
<b>EHSR</b>	<b>5; (v.o.)</b>	<b>89,84±1,77</b>
Atropina	0,01g/Kg; (i.p.)	63,21±2,05***
Atropina	0,001g/Kg; (i.p.)	76,77±1,65
Atropina + EHSR	0,001g/Kg(i.p.) + 5mg/Kg(v.o.)	85,59±2,01

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da distância percorrida pelo marcador. Administrou-se tratamento com o EHSR (5 e 100mg/Kg; v.o.), atropina (0,01 e 0,001g/Kg; i.p.) ou o veículo (solução salina, 0,1ml/10g), 01 hora antes da administração oral de carvão ativado 10% (0,1 mL/10g, v.o.). Também empregou-se a administração de EHSR (5mg/Kg; v.o.) em associação à atropina (0,001g/Kg; i.p.) 01 antes do carvão. Os animais foram sacrificados 30 minutos após a administração do marcador. Foram utilizados 6 animais por grupo. \*\*\*p<0,001 vs controle (veículo) (ANOVA, Teste de Student Newman-Keuls).

**TABELA 32. Análise de Variância (ANOVA) – Efeito do EHSR sobre a Motilidade Intestinal.**

Table Analyzed	Data 1			
One-way analysis of variance				
P value	< 0.0001			
P value summary	***			
Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes			
Number of groups	6			
F	20,90			
R squared	0,7600			
Bartlett's test for equal variances				
Bartlett's statistic (corrected)	6,354			
P value	0,2733			
P value summary	ns			
Do the variances differ signif. (P < 0.05)	No			
ANOVA Table	SS	df	MS	
Treatment (between columns)	4267	5	853,4	
Residual (within columns)	1348	33	40,84	
Total	5615	38		
Newman-Keuls Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary
ATROPINA (0,01g/kg) vs EHSR (5mg/kg)	-26,63	10,91	Yes	***
ATROPINA (0,01g/kg) vs EHSR (5mg/kg)+ATROPINA(0,001g/kg)	-22,38	8,902	Yes	***
ATROPINA (0,01g/kg) vs C	-19,56	7,496	Yes	***
ATROPINA (0,01g/kg) vs ATROPINA (0,001g/kg)	-13,56	4,956	Yes	**
ATROPINA (0,01g/kg) vs EHSR (100mg/kg)	-1,217	0,4842	No	ns
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (5mg/kg)	-25,42	10,87	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs EHSR (5mg/kg)+ATROPINA(0,001g/kg)	-21,16	8,762	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs C	-18,34	7,295	Yes	***
EHSR (100mg/kg) vs ATROPINA (0,001g/kg)	-12,34	4,665	Yes	**
ATROPINA (0,001g/kg) vs EHSR (5mg/kg)	-13,07	5,074	Yes	**
ATROPINA (0,001g/kg) vs EHSR (5mg/kg)+ATROPINA(0,001g/kg)	-8,820	3,333	No	ns
ATROPINA (0,001g/kg) vs C	-5,997	---	No	ns
C vs EHSR (5mg/kg)	-7,076	2,899	No	ns
C vs EHSR	-2,823	---	No	ns

(5mg/kg)+ATROPINA(0,001g/kg)				
EHSR (5mg/kg)+ATROPINA(0,001g/ vs EHSR (5mg/kg)	-4,252	---	No	ns

**MODELO DE FORMULÁRIO PARA PESQUISA ETNOFARMACOLÓGICA  
SOBRE O BARBATIMÃO**

**1. LOCAL DE COLETA DAS INFORMAÇÕES:**

MUNICÍPIO: \_\_\_\_\_ UF: \_\_\_\_\_

LOCALIDADE: \_\_\_\_\_

**2. DADOS DO INFORMANTE:**

NOME: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_ SEXO: F ( ) M ( ) NATURALIDADE: \_\_\_\_\_

TEMPO QUE RESIDE NA ÁREA: \_\_\_\_\_ OCUPAÇÃO: \_\_\_\_\_

**3. DADOS SOBRE A PLANTA E SEU USO:**

NOME(S) POPULAR (ES) DA PLANTA: \_\_\_\_\_

PARTE UTILIZADA: \_\_\_\_\_ VIA: \_\_\_\_\_

TEMPO EM QUE SE UTILIZA A PLANTA: \_\_\_\_\_

MODO DE PREPARO:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

INDICAÇÕES GERAIS PARA USO:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

MODO GERAL DE UTILIZAÇÃO:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

VARIAÇÃO NO MODO DE UTILIZAÇÃO *versus* INDICAÇÃO:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

FREQUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO *versus* INDICAÇÃO:

\_\_\_\_\_

---

---

---

DURAÇÃO DO TRATAMENTO *versus* INDICAÇÃO:

---

---

---

RESTRICÇÕES AO USO:

---

---

QUEM MAIS UTILIZA?                      HOMEM? \_\_\_\_\_ MULHER? \_\_\_\_\_  
CRIANÇA? \_\_\_\_\_ IDOSO? \_\_\_\_\_

FAIXA DE IDADE QUE MAIS UTILIZA: \_\_\_\_\_

RESULTADOS GERAIS OBTIDOS COM O USO?

---

---

---

---

<sup>1</sup> Modelo de formulário adaptado de Matos (1998).