



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA– DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR
MESTRADO ACADÊMICO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, GASTROPROTETORA,
CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DE *Astronium fraxinifolium* Schott
ex.Spreng.(Gonçalavo)**

CRATO-CE

2013

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, GASTROPROTETORA,
CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DE *Astronium fraxinifolium* Schott
ex.Spreng.(Gonçalavo)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular, do Departamento de Química Biológica da Universidade Regional do Cariri, como requisito parcial, para obtenção do título de mestre.

Área de concentração: Bioprospecção de produtos naturais

Orientador (a): Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes

Co-Orientador (a): Prof. Dra. Marta Regina Kenrtopf

CRATO-CE

2013

Martins, Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra.

M379a Identificação do perfil químico e avaliação das atividades antioxidante, gastroprotetora, cicatrizante e antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex. Spreng. (Gonçalvo)

)/ Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins. – Crato-CE, 2013.
95p.; il.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular do Departamento de Química Biológica da Universidade Regional do Cariri - URCA

Orientador (a): Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes

Co-Orientador (a): Prof. Dra. Marta Regina Kenrtopf

1. *Astronium fraxinifolium*; 2. Perfil químico; 3. antioxidante;
4. Gastroprotetora; I. Título.

CDD: 581

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, GASTROPROTETORA,
CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DE *Astronium fraxinifolium* Schott
ex.Spreng.(Gonçalvo)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular, do Departamento de Química Biológica da Universidade Regional do Cariri, como requisito parcial, para obtenção do título de mestre. Área de concentração: Bioprospecção de produtos naturais

A citação de qualquer texto desta dissertação é permitida, de acordo com as normas da ética científica, e encontra-se a disposição da biblioteca setorial do referido programa.

DISSERTAÇÃO APRESENTADA EM 04/03/2013

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes (Orientador)
Departamento de Química Biológica

Prof. Dra. Marta Regina Kenrtopf (Co-Orientadora)
Departamento de Química Biológica

Prof. Dr. Iri Sandro Pampolha Lima (Membro Externo)
Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho (Membro Interno)
Departamento de Química Biológica

CRATO-CE

2013

*Dedico aos meus pais, pelo amor, dedicação e educação;
Por fazerem de tudo para me oferecer o melhor...
Sou eternamente grata pelo privilégio de tê-los como pais!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a Deus pelo dom da vida e por se fazer presente em todos os momentos da minha vida, me guiando, protegendo e dando forças para vencer os obstáculos;

Aos meus pais, Américo José Brito Pereira e Maria Cicleide de Oliveira pelo amor, dedicação em todos os momentos da minha vida... E a minha irmã, Germana Oliveira Brito Pereira pela amizade, carinho e sua serenidade... Amor eterno e incondicional...

Ao meu amor, André Luiz Bezerra Martins, pelo amor, dedicação e carinho, por ser meu companheiro diário de emoções, professor de otimismo, editor das minhas caras e bocas, tradutor das minhas tristezas em alegrias, compartilhando momentos especiais;

A minha família pela força, amizade e carinho nos momentos de decisão, angústia e alegria, sou muito grata por ter vocês ao meu lado: tio (a)s, primo (a)s, e demais agregados. Em especial a minha pessoa João Victor, razão de carinho e amor... E as pessoinhas Davi e Sofia... A minha avó Zifa "vovó de baixo" (*in memoriam*) e ao meu avô Cipriano (*in memoriam*)... Saudades... e aos meus avós de cima Gledson e Adalgisa... Como é grande o meu amor por vocês...

A minha segunda família; sogro (a), cunhado (a)s, sobrinhas e os demais, que me acolheram com muito amor, durante este árduo trabalho;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes, pela orientação, paciência em me aguentar, pelos sábios "puxões de orelha", imprescindíveis para o desenvolvimento, pelos conselhos concedidos após muitos obstáculos e pelo carinho que sei que tem por mim;

A minha co-orientadora, Prof. Dra. Marta Regina Kenrtopf, pela orientação, carinho, atenção e preocupação durante todo esse período, com a finalidade de ajudar para que tudo desse certo e por me aceitar como sua co-orientanda;

A todos os professores do programa pelos conhecimentos transmitidos á nossa turma;

As coordenadoras do Programa de pós-graduação, Prof. Dra. Marta Almeida e Maria Arlene Pessoa, pelos auxílios prestados no decorrer do curso;

A minha banca de qualificação pelas considerações, elogios e críticas a este trabalho, e por ter aceitado o convite de participação;

A presente banca por ter aceitado gentilmente o convite de participação de avaliação desta dissertação;

Em especial á minha amiga Ana Luiza, pelas suas sábias palavras de experiência, amizade, carinho, respeito, por não ter tempo ruim, sempre disposta ajudar e por ter me ensinado muita coisa, na tentativa de amadurecer atitudes e angústias... Por ter ao seu lado uma pessoa muito especial David Carvalho, pelo qual tenho um carinho enorme... Muita agradecida por tudo e pela nossa amizade sincera... Amiga, amo vocês...

A minha amiga Renatinha, quero agradecer de forma especial, pois sem ela teria sido muito difícil. Sempre muito calma e disposta, me ensinou muitas técnicas, não se esquecendo dos bons momentos vividos de alegria, durante esse tempo, choramos, brigamos, rimos e dividimos muitas das nossas experiências e emoções. Amiga, muito grata por ter sua amizade!

A minha amiga Jack (Jacqueline), pela sua amizade, paciência, carinho, por estar sempre disposta a ajudar, não tenho palavras para agradecer o quanto você é importante pra mim. Agradeço todas as colaborações que foram relevantes para realização deste trabalho. Amiga, muito grata pela sua amizade e do grande amigo Helder Beserra, vocês são especiais para mim!

As minhas amigas: Zé da paz (Larissa), Laura, Damiana, Daniele e Gerlânia por tão pouco tempo de convivência, tenho certeza que vocês se fazem presentes na minha vida. Amigas de todas as horas, sempre dispostas a ajudar a quem precisa... Esse será sempre nosso lema...

Aos meus fiéis ajudantes de teste, em especial á Gerlânia, Laura, Luís Pereira, Thales, Denício e Datiane, ajuda de vocês foi essencial para conclusão deste trabalho;

A família LFQM, e demais amigos de laboratório, não menos importantes: Barbosa Neto, Cinara, Luiz Jardelino, Andreza, Valter, Kelly, Sharlene, Demonthier, Mariana, Heloísa, Norma, Alaiane, Natasha, Tharley, Angélica e os estagiários novatos. Todos momentos ficaram guardados no coração e na memória;

Aos amigos e colegas de mestrado: Gillena, Leonardo, Thiago, Patrícia, Olga, Natallyanea, Nayana, Renata Lima e Diógenes, pela agradável convivência durante esse período e pela dedicação em conjunta na conquista do curso;

Ao Laboratório de Botânica e Herbário Caririense Dárdano de Andrade e Lima pela identificação da espécie, catalogação da exsicata e atenção recebida;

Ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Molecular, pela colaboração nos ensaios microbiológicos, em especial ao Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho e a Flaviana (Flaví) pela amizade e considerações otimistas, e aos estagiários que acompanharam os testes;

Ao Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, pelo apoio nos ensaios fitoquímicos, em especial ao Prof. Dr. Galberto Martins da Costa, a Prof. Ma. Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues, pela amizade e confiança, e ao amigo Erlânio, merecedor de muito sucesso;

A Universidade de Santa Maria pela colaboração e auxílio nos experimentos químicos;

A Universidade Regional do Cariri pela oportunidade de realização deste curso;

Agradeço em especial e com todo respeito, a todos os animais que doaram suas vidas, para tornarem possível realização deste estudo;

A Faculdade de Medicina do Juazeiro do Norte pela participação essencial para realização deste trabalho, através do fornecimento de animais de laboratório;

Aos funcionários da segurança, limpeza e transporte, por terem colaborado de forma direta, durante feriados, finais de semanas, coletas e congressos, transmitindo alegria e satisfação nas suas funções, sendo enriquecedores para os nossos dias;

As secretárias Lenira Pereira e Anderciele Rolim, pela enorme assistência e dedicação no Programa de pós-graduação;

Aos amigos de graduação, que mesmo com caminhos profissionais diferentes, estiveram presentes em vários momentos deste trabalho;

A CAPES, FUNCAP E CNPQ pelo auxílio financeiro;

*O valor das coisas não está no tempo
que elas duram, mas na intensidade
com que elas acontecem, por isto existem
momentos inesquecíveis, coisas
inexplicáveis e pessoas incomparáveis.*

(Fernando Pessoa)

RESUMO

A espécie *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng pertence a família Anarcadiaceae e o gênero *Astronium*. Tem como sinônimos populares: gonçalavo, gonçalo-alves e gonçaleiro, é utilizada na medicina popular para o tratamento de diarreia, infecções e úlceras de pele, tosse, expectorante, resfriado e outros processos inflamatórios. O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil químico e as atividades antimicrobiana, gastroprotetora e cicatrizante do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* (EHAF). O perfil químico foi determinado através da prospecção fitoquímica, que qualificou a presença de compostos derivados do metabolismo secundário, dentre eles, taninos hidrolisáveis, flavonas, flavononóis, flavonóis, xantonas, auronas, chalconas e catequinas. A cromatografia (CLAE) quantificou os seguintes compostos: ácido clorogênico (4,25%), ácido gálico (2,11%), ácido cafeico (0,73%), rutina (0,09%) e quercetina (0,28%). O EHAF apresentou teor significativo de flavonóides (0,034g de quercetina/gramas de extrato) e fenóis totais (0,538g de ácido gálico/gramas de extrato), corroborando com as classes de metabólitos encontrados na prospecção. A atividade antioxidante foi determinada através do método espectrofotométrico de captura de radical livre DPPH, em que o extrato necessita de 0,010 g para capturar g DPPH, e em relação ao potencial de redução de ferro (FRAP), o extrato utiliza 0,003 g para reduzir g de sulfato ferroso, demonstrando atividade antioxidante significativa entre os dois métodos. O EHAF demonstrou atividade gastroprotetora, frente aos modelos clássicos de lesão gástrica aguda nas doses 50, 100 e 200 mg/Kg(v.o) e barreira física na dose de 50mg/Kg(v.o/v.i.p), demonstrando as seguintes percentagens de proteção, respectivamente: etanol absoluto (22,07%; 16,63% e 1,68%), etanol acidificado (23,54%; 25,28%; 28,68%), indometacina (34,27 %; 20,59 %; 13,68 %) e barreira física (23,47%; 29,56%). Em relação a atividade cicatrizante o EHAF (100mg/g) apresentou 24,85% de taxa de retração tecidual em relação ao controle, entre os dias 0° e 7°, porém em relação ao 11° e 14 °, não houve diferença significativa. A atividade antimicrobiana foi verificada a partir do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo a amostra testada em concentrações variando de 1024-8 µg/mL. As linhagens padrões de bactérias foram *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e fungos: *Candida albicans*, *krusei* e *tropicalis*. A Concentração Inibitória Mínima de todos os microrganismos foi ≥ 1024 µg/mL, e quando avaliado em relação à atividade moduladora associado a antibióticos e antifúngicos, não apresentou efeito significativo frente á bactérias e fungos, porém quando associado a combinação (Imipenem + cilastina sódica) demonstrou efeito antagônico frente à bactéria multirresistente *Escherichia coli*, no entanto o EHAF não demonstrou atividade antimicrobiana. Os resultados obtidos neste estudo fornecem evidências biológicas em relação ao potencial antioxidante, efeito gastroprotetor e cicatrizante do extrato de *Astronium fraxinifolium*.

Palavras-chave: *Astronium fraxinifolium*, perfil químico, antioxidante, gastroprotetora, cicatrizante, antimicrobiana

ABSTRACT

The species *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng belonging to family Anarcadiaceae and gender *Astronium*, is popular synonyms: gonçalavo, Goncalo- alves and gonçaleiro, is used in folk medicine to treat diarrhea, infections and skin ulcers, cough, expectorant, colds and other inflammatory processes. The present study aimed to evaluate the chemical profile and antimicrobial activities, gastroprotective and healing hydroalcoholic of barks *Astronium fraxinifolium* (EHAF). The chemical was determined by phytochemical screening, which described the presence of compounds derived from secondary metabolism, among them, hydrolysable tannins, flavones, flavononois, flavonols, xanthones, auronas, chalcones and catechins. Chromatography (HPLC) analysis quantified the following compounds: chlorogenic acid (4.25%), gallic acid (2.11%), caffeic acid (0.73%), rutin (0.09%) and quercetin (0.28 %). The quantification of the flavonoid content was equivalent (0.034 g quercetin / g of extract) and total phenols (0.538 g gallic acid / g extract) demonstrating significant quantities, corroborating the classes of metabolites found in prospecting. The antioxidant activity was determined by the spectrophotometric method of capturing free radical DPPH, wherein the extract needs to capture 0.010 g DPPH g and in relation to the reduction potential of iron (FRAP), using the extract to reduce 0.003 g ferrous sulfate g, demonstrating significant antioxidant activity between the two methods. The EHAF demonstrated gastroprotective activity, compared to the classical models of acute gastric injury at doses 50, 100 and 200 mg / kg (v.o) and the dose of physical barrier 50mg/Kg (v.o / v.i.p), with the following percentages respectively of protection: absolute ethanol (22,07%, 16,63% and 1,68%), acidified ethanol (23, 54%; 25,28%; 28,68%), indomethacin (34,27%; 20,59%; 13,68%) and physical barrier (23,47%; 29,56%). Regarding the healing activity EHAF (100 mg/g) showed a 24% rate of contraction compared to control tissue, between 0° and 7°, but over the 11° and 14°, there was no significant difference. Antimicrobial activity was checked by the method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and the samples were tested at concentrations ranging from 1024-8 / mL. Strains patterns of bacteria were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and fungi: *Candida albicans*, *tropicalis* and *krusei*. The Minimum Inhibitory Concentration of all microorganisms was ≥ 1024 mg / mL, and when evaluated for modulating activity associated with antibiotics and antifungals, had no significant effect when opposite the bacteria and fungi, but when coupled with the combination (Imipenem + cilastina sodium) showed antagonistic effect against the multidrug resistant *Escherichia coli* bacteria. The results of this study provide biological evidence regarding the potential antioxidant, gastroprotective effect and healing of *Astronium fraxinifolium*.

Keywords: *Astronium fraxinifolium*, chemical profile, antioxidant, gastroprotective, antimicrobial, healing

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% – Percentagem

< – Menor que

± – Mais ou menos

® – Marca registrada

°C – Grau Celsius

abs – Absoluto

ACh – Acetilcolina

AINE's – Antiinflamatórios não-esteróides

AMPC – Adenosina monofosfato cíclico

ANOVA – Análise de variância

ATCC – *American Type Culture Collection*

ATP – Adenosina trifosfato

C18–Camada de número 18

Ca⁺² – Íon de cálcio

CAPES–Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CAT – Catalase

CCBS – Centro de Ciências Biológicas e Saúde

CCK 1– Colecistocinina ou colecistoquinina do tipo 1

CCK 2– Colecistocinina ou colecistoquinina do tipo 2

CE – Estado do Ceará (Brasil)

CEUA – Comissão de ética no uso de animais

CIM – Concentração inibitória mínima

CIM/8 – Concentração subinibitória

CLAE–Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

cm – Centímetros

COXs – Cicloxigenases

COX-1 – Cicloxigenase do tipo 1

COX-2 – Cicloxigenase do tipo 2

DQB – Departamento de Química Biológica

DNA– Ácido desoxirribonucleico

DP – Desvio padrão

DPPH – 2,2-difenil,1- picrihidrazila

DSM – Diferença significativa mínima
E.P.M. – Erro padrão da média
EAG– Equivalente de ácido gálico
ECL – Células enterocromafins
EHAF – Extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* Schott. ex.Spreng
EQ – Equivalente de quercetina
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
et al – e outros; e colaboradores (latim)
FMJ – Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte
FRAP–Fração redutora de ferro
g – Grama(s)
GMPc – Guanosina monofosfato cíclico
GPS–Sistema de posicionamento global
GPx – Glutathione peroxidase
GSH – Glutathione reduzida
GSSH – Glutathione oxidada
GTP – Guanosina trifosfato
h – Hora(s)
H⁺ – Íon de hidrogênio
H⁺/K⁺ ATP ase–Bomba de prótons
H₂ – Receptor tipo 2 da histamina
H₂O₂ –Peróxido de hidrogênio
HCDAL – Herbário Cariariense Dárdano de Andrade-Lima
HCl–Ácido clorídrico
HI – Heart Infusion Agar
KATP – Canais de Potássio ATP-dependentes
Kg – Quilograma(s)
L – Litro
M – Concentração molar
m – Metro
M₃ – Receptor muscarínico do tipo 3
mg – Miligrama
min. – Minuto(s)
mL – Mililitro
MS – Ministério da Saúde

n – Número de amostras
NaOH– Hidróxido de sódio
NCCLS – *National Comite for Clinical Laboratory Standards 13*
ON – Óxido nítrico
ONS – Óxido nítrico sintase
OH– Hidroxila
ON – Óxido nítrico
p – Nível de significância
PG's – Prostaglandinas
PGE₂–Prostaglandina do tipo E
PGI₂–Prostaglandina do tipo I
pH–Potencial hidrogeniônico
RNA–Ácido ribonucleico
ROS – Espécies reativas de oxigênio
SNC – Sistema nervoso central
SOD – Superóxido dismutase
SST–Somostatina
TGI – Trato gastrointestinal
TPTZ–(2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina)
tR–Tempo de retenção
UFC–Unidade formadora de colônia
URCA – Universidade Regional do Cariri
v.o. – Via oral
µg – Micrograma
µL – Microlitros

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fotografia da árvore adulta da espécie de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng.	22
Figura 2	Principais fatores que podem influenciar no conteúdo de metabólitos secundários das plantas	24
Figura 3	Divisão anatômica do estômago e elementos constituintes da mucosa gástrica	25
Figura 4	Controle fisiológico da secreção gástrica através de células, receptores, hormônios e mediadores	27
Figura 5	Desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e agressão na mucosa gástrica	30
Figura 6	Fases do processo de cicatrização de feridas	35
Figura 7	Exsicata da espécie depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Universidade Regional do Cariri – URCA, sob número de 6760	41
Figura 8	Cromatograma dos compostos quantificados no extrato hidroalcoólico de <i>Astronium fraxinifolium</i> ex. Schott. Spreng. (Sistema HPLC)	52
Figura 9	Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos	58
Figura 10	Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos	59
Figura 11	Efeito do teste de barreira, ao avaliar a administração intraperitoneal em relação a oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos	60
Figura 12	Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos	61
Figura 13	Efeito da atividade cicatrizante do EHAF em relação ao grupo controle.	63
Figura 14	Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por diferentes agentes indutores.	89
Figura 15	Efeito da atividade cicatrizante do EHAF e do grupo controle, nos 0°, 7° e 14°.	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Origem bacteriana e perfil da resistência a antibióticos	45
Tabela 2	Determinação de área lesionada através do sistema de scores	48
Tabela 3	Classes de metabólitos secundários encontradas no extrato hidroalcoólico de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng. (EHAF)	51
Tabela 4	Determinação de flavonóides e ácidos fenólicos no extrato hidroalcoólico de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott. ex.Spreng., através do sistema HPLC.	53
Tabela 5	Atividades biológicas evidenciadas nos flavonóides: quercetina e rutina e ácidos fenólicos: gálico, caféico e clorogênico.	56
Tabela 6	Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição	57
Tabela 7	Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por etano acidificado expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição	59
Tabela 8	Efeito do teste de barreira, ao avaliar administração intraperitoneal em relação a oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição	60
Tabela 9	Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por indometacina expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição	61
Tabela 10	Efeito da atividade cicatrizante do EHAF em feridas cutâneas expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição	62
Tabela 11	Concentração Inibitória Mínima do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng.	87
Tabela 12	Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng em combinação com aminoglicosídeos	87
Tabela 13	Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng em combinação com betalactâmicos	87
Tabela 14	Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng em combinação com antifúngicos	88

1.INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1 Plantas medicinais

O tratamento de várias doenças a partir de plantas medicinais ocorre há anos, em virtude do conhecimento que as antigas civilizações tinham sobre o poder medicinal e do cultivo de informações culturais a cada geração (FEIJÓ, 2012). No Brasil, por ser considerado um dos maiores centros de biodiversidade do planeta, e, por apresentar uma flora diversificada em toda sua extensão, ainda existem vegetações de características e compostos bioativos desconhecidos (VARANDA, 2006).

A utilização de plantas medicinais neste país teve origem a partir da cultura indígena, na busca do tratamento de diversas enfermidades, em virtude da sua riqueza em diversos produtos terapêuticos e por incluir em seu território os cinco principais biomas: cerrado, caatinga, pantanal, floresta amazônica e mata atlântica. No entanto, esta riqueza se encontra pouco explorada em relação ao seu potencial medicinal quando comparada a outros países como: Alemanha, Canadá e Estados Unidos (CALIXTO, 2000; RATES, 2001; VEIGA JUNIUR, 2008).

Dentre seus biomas, o cerrado é considerado o segundo mais extenso, com aproximadamente 200 milhões de hectares, compreendendo cerca de 25% do território nacional, predominando no Centro-Oeste, mas tendo suas disjunções na Amazônia Setentrional, no interior do Nordeste, na Bacia do Rio Paraná e na Região Sudeste (FARNSWORTH, 1988).

Em estudo realizado por CONCEIÇÃO et al., (2011), as espécies medicinais do cerrado mais vendidas e usadas, em Teresina, Piauí, são *Hancornia speciosa*, *Eugenia dysenterica*, *Bowdichia virgilioides*, *Myracrodruon urundeuva*, *Amburana cearensis*, *Caryocar coriaceum*, *Vernonia ferruginea*, *Mauritia flexuosa* e *Ximenia americana*, incluindo *Astronium fraxinifolium*, apesar de moderada utilização. O estudo observou que as espécies são comercializadas por partes, em destaque a casca e a entrecasca, seguidas de folhas, frutos e raízes, para diversos tratamentos como reumatismo, bronquite, hemorragias, diarreias, dermatite, gripe, febre, problemas cardíacos, dentre outras.

1.2 *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng

A espécie (figura 1) em estudo pertence a divisão Magnoliophyta, a classe Magnoliopsida, se inclui na subclasse Rosidae e ordem Sapindales, pertencente a família

Anacardiaceae e o gênero *Astronium*, e tem como sinônimos populares, gonçalavo, gonçalo-alves e gonçaleiro (CRONQUIST, 1981).

A família anacardiaceae compreende cerca de 76 gêneros e 600 espécies, sendo eles subdivididos entre cinco tribos: Anacardieae, Dobineae, Rhoeeae, Semecarpeae e Spondiadeae, sendo conhecida pela sua característica frutífera e por ser produtora de madeira de qualidade, incluindo gonçalavo (*Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng.), aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), aroeira branca (*Lithraea molleoides* Engl.) e braúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) (CORREIA, 1984; MONTANARI, 2010; VOGL, MITCHELL, 1996).

O gênero de *Astronium* foi estabelecido por Jacquin em 1760, é neotropical e reúne espécies arbóreas, com frutos de cálice persistente e crescentes, com aspecto de estrela, sendo esta a característica que nomina o gênero (SANTIN, 1991). Diversos autores afirmam que, apesar de semelhanças em relação ao *Myracrodruon*, os mesmos não podem ocupar o mesmo táxon genérico, devido a diferença entre o tipo de fruto, pois o gênero de *Astronium* o possui na forma de baga e *Myracrodruon* no formato de drupa, tendo um endocarpo anguloso (CARMELLO-GUERREIRO, SARTORI PAOLI, 2000).

A espécie *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng apresenta grande importância na economia, em razão da produção de madeira de excelente qualidade, sendo pesada, compacta, rígida e com durabilidade a diversas condições naturais, adequada e utilizada na construção civil e naval. Em aspectos ecológicos, é encontrada comumente em terrenos rochosos e secos, com presença de agrupamentos descontínuos. Sua floração ocorre durante os meses de agosto e setembro, sendo despida de folhagem, mas com grande produção de sementes (LORENZI, 2002).

Esta espécie é amplamente distribuída no Brasil, porém de acordo com a Portaria estabelecida pelo IBAMA: n.37-N, de 3 de abril de 1992, *Astronium fraxinifolium* uma espécie arbórea do cerrado brasileiro, se encontra na categoria vulnerável de extinção (IBAMA, 1992), é bastante utilizada na medicina popular, de acordo com suas partes, dentre elas a casca apresenta característica adstringente que auxilia no tratamento de hemorróidas e diarreias, as folhas com ação anti-séptica, nas úlceras de pele e as raízes quando maceradas e sob um processo de infusão, atuam no tratamento de reumatismo (LORENZI, 2002).

Em estudo realizado por LEITE (2002), demonstrou que esta espécie *Astronium fraxinifolium* é rica em substâncias tânicas e chalconas, as quais representam uma variedade de atividades relacionadas entre elas: ação anti-séptica, analgésica, anti-hemorrágica, antimicrobiana, antiparasitária, antiinflamatória e cicatrizante. A pesquisa realizada por CONCEIÇÃO *et al.*, (2011) corrobora com o estudo anterior, já que, as informações de

raizeiros e vendedores indicam suas partes cascas, folhas e flores, para o tratamento de febre, diarreia, hemorróidas, reumatismo e outras enfermidades.

Figura 1: Fotografia da árvore adulta da espécie de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng.



Fonte: Autora

1.3 Metabólitos secundários: princípios ativos das plantas medicinais

Os metabólitos secundários apresentam atividades biológicas interessantes, tendo importância comercial na área farmacêutica, de perfumaria, alimentar e agrônômica, originando-se a partir do metabolismo da glicose, através de dois intermediários o ácido chiquímico e acetato.

O ácido chiquímico é precursor de várias classes de metabólitos dentre elas: alcalóides indólicos e quinólicos, lignanas, ligninas, cumarinas, protoalcalóides, taninos hidrolisáveis e o acetato precursor de terpenóides, esteróis, ácidos graxos. Alguns metabólitos são derivados dos dois intermediários como as antraquinonas, flavonóides e taninos condensados (SANTOS, 2010).

Os flavonóides são biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, compondo a classe de substâncias de origem natural, que não realiza síntese na espécie humana, possuindo

uma série de propriedades biológicas. São considerados estáveis, por demonstrarem resistência à diversos fatores, dentre eles: altas temperaturas, variações de acidez e processos oxidativos (PETERSON, DWYER, 1998). Em relação aos sistemas biológicos, vários efeitos já foram comprovados através destes compostos: antiulcerogênico (MOTA *et al.*, 2009), antiinflamatório (HARBORNE, WILLIAMS, 2000) e antioxidante (TRUEBA, SANCHEZ, 2001).

Os taninos são definidos como substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e 3000 Dalton, ou seja, com alto peso molecular, abrangendo a capacidade de formar complexos insolúveis de água com alcalóides, gelatina e outras proteínas. Desde a antiguidade, os taninos têm sua importância, pelo fato de apresentarem propriedades com a finalidade de transformar a pele dos animais em couro de qualidade e durabilidade, que durante este curtimento são formadas ligações entre as fibras de colágeno, apresentando características de resistência ao calor, abrasivos e água (SANTOS, MELLO, 2010). São divididos em dois grupos: hidrolisáveis e condensados, com diferenças entre si, embora que em relação à sua estrutura molecular, todos tenham poli-hidroxifenóis ou seus derivados (BATTESTIN *et al.*, 2004).

Várias espécies ricas em substâncias tânicas são empregadas na medicina no tratamento de diversas enfermidades, como diarreias, reumatismo, hemorragias, queimaduras, feridas, hipertensão arterial, problemas renais e estomacais, como a úlcera gástrica e gastrite, e alguns processos inflamatórios no geral (HASLAM, 1996; DE BRUYNE *et al.*, 1999; DUFRESNE, FARNWORTH, 2001). Dentre essas atividades na medicina popular, algumas já foram comprovadas como bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991), antioxidante (HAGGERMAN *et al.*, 1998; MOURE *et al.*, 2001) e antiulcerogênica (CARLINI *et al.*, 2010).

Os taninos são encontrados em abundância nas raízes, frutos, flores, cascas e folhas de plantas medicinais, e que são utilizadas na alimentação e na fabricação de bebidas, entre eles chás verdes e vinhos tintos (BERNAYS *et al.*, 1989; HARBONE *et al.*, 1991), podendo sua concentração variar, de acordo com a idade, tamanho, parte coletada ou época em relação à espécie (MONTEIRO *et al.*, 2005).

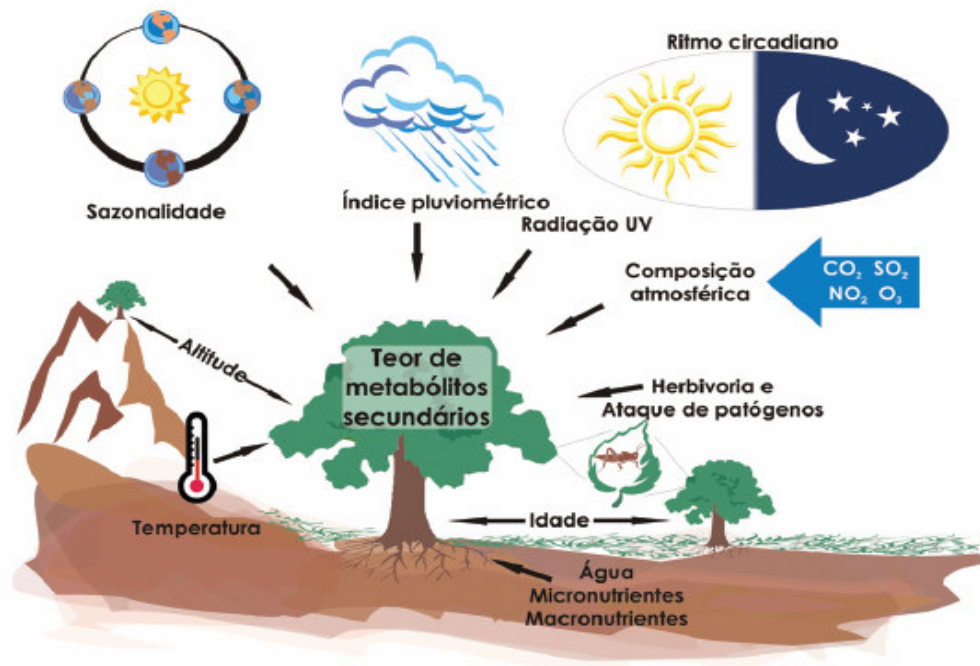
Inúmeros são os fatores que podem influenciar no conteúdo de metabólitos secundários nos vegetais (Figura 2) como a sazonalidade, uma vez que a natureza dos constituintes ativos não é constante o ano inteiro, outro é o ritmo circadiano (ciclo dia/noite) e a idade (GOBBO-NETO, LOPES, 2006). Embora cada espécie possua uma adaptação ao seu habitat, as mesmas podem existir em uma faixa de temperatura, que ocorre em variações anuais, mensais e diárias, como também o efeito da seca e chuva, um dos fatores

influenciáveis para o desenvolvimento, podendo afetar a produção de metabólitos (EVANS, 1996).

A existência de diferentes espécies está adaptada a uma enorme variação de intensidade e quantidade de incidência luminosa, além da crescente preocupação com efeitos do aumento da radiação ultravioleta, decorrente da depleção constante da camada de ozônio (GOBBO-NETO, LOPES, 2006; EVANS, 1996; WATERMANN, MOLE, 1989; SALISBURY, ROSS, 1991).

A adição de nutrientes para aumentar a biomassa consiste em outro parâmetro que pode afetar não somente o metabolismo primário, mas também a produção de metabólitos secundários (GERSHENZON, 1984). Outros fatores que exercem efeitos sobre os metabólitos são: a altitude, a poluição atmosférica e os fatores mecânicos ou ataque de patógenos, aos quais as plantas estão susceptíveis. Todavia outros fatores como a coleta, estocagem e estabilização podem exercer influências na qualidade do material (SAKAMOTO, 2005; CALIXTO, 2000; EVANS, 1996).

Figura 2: Principais fatores que podem influenciar no conteúdo de metabólitos secundários das plantas



Fonte: Adaptado de GOBBO-NETO, LOPES, 2006

De acordo com a utilização medicinal, a composição química e a comprovação de diversas atividades biológicas em relação à família e gênero, existem alguns efeitos que podem estar associadas à espécie em estudo, dentre elas: ação de proteção a mucosa gástrica, inibição do crescimento de bactérias e fungos e potencial antioxidante e cicatrizante.

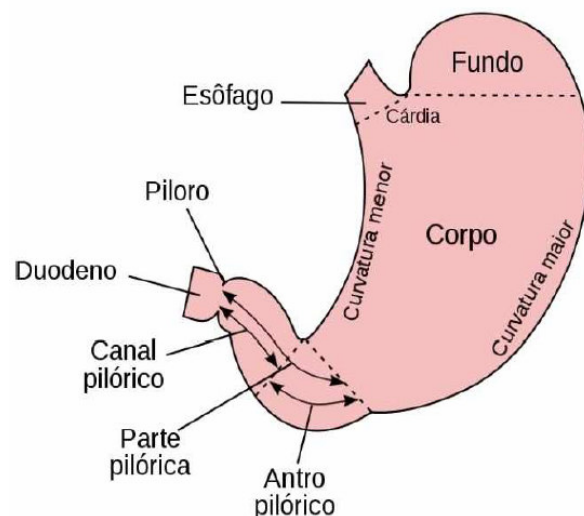
1.4 Atividade gastroprotetora

1.4.1 Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal

Anatomicamente, o trato gastrointestinal (TGI) é dividido em porção superior, delimitado a boca, esôfago e estômago, por uma porção mediana, constituindo o intestino delgado e uma porção inferior, representada por ceco, colón e reto. Compreendido de várias camadas dentre elas: mucosa, submucosa, muscular (fibras lisas e longitudinais) e serosa (PORTH, KUNERT, 2004), apresentando como funções principais: a secreção gástrica, êmese, motilidade do intestino, expulsão de fezes, formação da bile e suprimento de água, eletrólitos e nutrientes para o organismo, sendo estas controladas por um sistema neuro-hormonal (RANG, DALE, 2004).

Dentre os órgãos que compreendem o TGI, o estômago é dos que apresenta maior dilatação, possuindo uma capacidade para armazenamento de 1,5 a 2,5 litros (HAMILTON, 1982). Apresenta funções que estão associadas ao armazenamento do alimento até o processo final nas demais partes do trato, a mistura dos alimentos com auxílio secreção gástrica para formação do semissólido quimo e o esvaziamento lento deste quimo para o intestino delgado, para finalização compatível de digestão e absorção (GUYTON, HALL, 2006). Divide-se em 5 regiões: cárdia, fundo, corpo, antro e esfíncter pilórico, possui 2 curvaturas, sendo a concavidade á direita denominada de curvatura menor e a esquerda de curvatura maior (ROBBINS, COTRAN, 2005), como demonstra a figura 3.

Figura 3: Divisão anatômica do estômago e elementos constituintes da mucosa gástrica



Fonte: Adaptado de ALLEMAND, 2009

A parede gástrica, assim como todo o TGI é coberta por um peritônio, compreendido em várias camadas dentre elas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa gástrica é delineada por pequenos sulcos, apresentando uma textura delicada e pontilhada por milhões de foveolas (fossetas) gástricas que compreende as glândulas da mucosa, apresentando dois compartimentos o foveolar, que consiste de células epiteliais que delimitam toda a superfície mucosa e o glandular formado pelas glândulas gástricas, que se subdividem entre as diferentes regiões anatômicas do estômago (ROBBINS, COTRAN, 2005).

Dentre as glândulas, as oxínticas são constituídas de células da mucosa (secretoras de muco), células parietais (produtoras de ácido clorídrico e fator intrínseco), células principais ou pépticas (produtoras de pepsinogênio), células enterocromafins (secretoras de histamina) e as células D (secretoras de somatostatina, considerada como a principal via inibitória da secreção gástrica), e as glândulas pilóricas possuem a mesma constituição de células, com exceção das principais e com a inclusão das células G, pelas quais secretam a gastrina (RANG, DALE, 2004).

1.4.2 Secreção ácida gástrica

A secreção do ácido gástrico é uma das funções mais imprescindíveis do estômago, sendo responsável pela digestão de proteínas, absorção de ferro, vitamina B₁₂, cálcio e além de prevenir o crescimento bacteriano e infecções entéricas. Uma vez que quando os níveis de ácido se elevam em relação aos fatores de proteção da mucosa gástrica, o mesmo pode induzir distúrbios gastrointestinais, sendo necessária a sua regulação (SCHUBERT, 2004), que segundo HORN, 2000, a regulação desta secreção consiste de um processo que abrange diversos fatores como tipo de células, mediadores e hormônios, que têm por finalidade a conversão na etapa final, ou seja, a ativação da bomba de prótons (H⁺, K⁺ ATPase), como demonstrado na figura 4.

A fisiologia da secreção gástrica é dividida em 3 fases: a cefálica, ocorre até mesmo antes do alimento adentrar ao estômago, podendo ser resultado dos sentidos: olfato, paladar e visão, por uma lembrança ou um processo de mastigação e deglutição, mediada por uma atividade vagal; a gástrica que envolve o processo de estimulação mecânica dos receptores, através de uma distensão gástrica, mediada por impulsos vagais; e a intestinal iniciada quando o alimento se encontra na porção superior do intestino delgado, que continuará a realizar secreção do suco gástrico, em pequenas porções (ROBBINS, COTRAN, 2005; GUYTON, HALL, 2006).

O início da secreção gástrica se dá através dos estímulos enviados às células, que tem por finalidade ativar a bomba de prótons ou gástrica, embora tenha fatores que inibam esta secreção. As células parietais, localizadas nas glândulas oxínticas, irão favorecer a secreção de ácido clorídrico, as células ECL irão secretar histamina e as células G, o hormônio gastrina (ROBBINS, COTRAN, 2005; GUYTON, HALL, 2006).

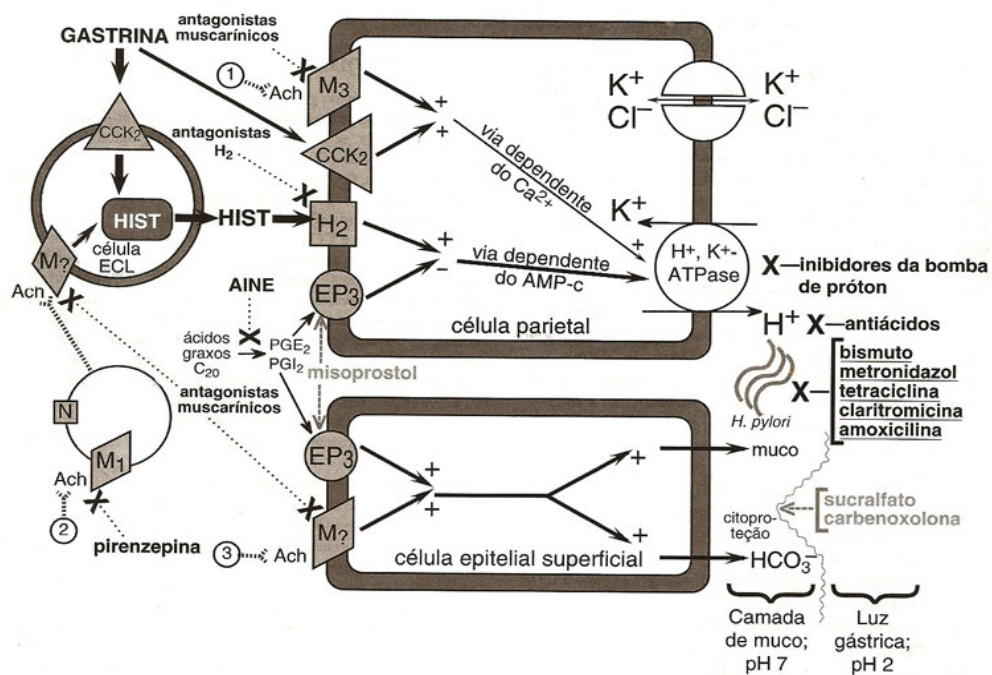
O estímulo das células parietais ocorre através de duas vias: dependente de AMPc e concentração de Ca^{2+} . A acetilcolina (ACh) liberada pelos estímulos vagais, irá estimular diretamente a célula parietal, através dos receptores colinérgicos muscarínicos do tipo 3 (M_3), agindo através da via dependente da concentração de Ca^{2+} , provocando o aumento do Ca^{2+} citossólico, que irá gerar a liberação do íon H^+ , e posteriormente a ativação da bomba de prótons (ROBBINS, COTRAN, 2005; SCHUBERT, 1990).

A gastrina, considerada o principal estimulante da secreção ácida durante a ingestão de alimentos, irá se ligar de forma direta com receptores de colecistoquinina 1/2 (CCK) das células parietais, favorecendo o aumento do cálcio e conseqüentemente a ativação da bomba gástrica (SCHUBERT, 2004).

A histamina, liberada após estimulação da gastrina, atua como mediador da secreção gástrica, ao se ligar aos receptores histamínicos do tipo 2 (H_2), os quais estão acoplados a proteína G e a enzima adenilato ciclase, que irão favorecer o aumento do monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), que por sua vez irá estimular a secreção do ácido, efetuando a troca de íons de hidrogênio e potássio (bomba de prótons), através da célula parietal (SOLL, WOLLIN, 1979; McQUAID, 2004).

A somatostatina (SST) age de modo contrário, através da inibição de gastrina. A mesma é produzida nas células D da porção do antro, atuando quando o pH lumial se encontra abaixo de 3. A desordem gastrintestinal favorece uma diminuição das células produtoras de SST, podendo contribuir para uma superprodução de gastrina e conseqüentemente de ácido (GOODMAN, GILMAN, 2006). As prostaglandinas (PGE_2 e PGI_2) também exercem efeitos de inibição diretamente sobre a célula parietal, através do bloqueio do AMPc, favorecendo a diminuição da atividade da bomba de prótons, ou seja, a secreção do ácido (ATAY *et al.*, 2000).

Figura 4: Controle fisiológico da secreção gástrica através de células, receptores, hormônios e mediadores



Fonte: Adaptado de GOODMAN, GILMAN, 2006

Em condições fisiológicas normais do estômago, existe um equilíbrio entre os fatores de agressão endógenos (HCl, bile, pepsina e enzimas pancreáticas), exógenos (álcool, AINE's, fumo,) ou biológicos (*Helicobacter pylori*), com os mecanismos de proteção (muco, bicarbonato, prostaglandinas, barreira epitelial, enzimas antioxidantes, fluxo sanguíneo e óxido nítrico) (POSSENTI, 2012).

1.4.3 Fatores de proteção à mucosa gástrica

A primeira linha de defesa do estômago constitui de uma barreira que permite a passagem de algumas moléculas e íons para o corpo, restringindo a entrada de outros, sendo constituída de inúmeros mecanismos de defesa, podendo ser dividida em pré-epitelial (muco e bicarbonato), epitelial (surfactantes e enzimas antioxidantes) e sub-epitelial (fluxo sanguíneo, prostaglandinas e óxido nítrico) (FLEMSTROM, ISENBERG, 2001).

A proteção pré-epitelial consiste de uma camada muco-bicarbonato, sendo o muco considerado como a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, protegendo-a de fatores agressores sejam eles endógenos ou exógenos (BISWAS *et al.*, 2003), exibindo uma forma viscosa, aderente, elástica, como um gel transparente, que contém 95% de água e 5% de glicoproteínas, apresentando uma ação antioxidante frente aos radicais livres que possam causar danos à mucosa (REPETTO, LLESUY, 2002). O bicarbonato é secretado pelas células

superficiais que protegem à mucosa, junto ao muco, criando um gradiente de pH neutro, afim de neutralizar qualquer difusão do íon H^+ no lúmem gástrico, evitando prejuízos à mucosa (KONTUREK *et al.*, 2004).

A proteção epitelial consiste de propriedades intrínsecas, de aspectos anatômicos ou bioquímicos. Os anatômicos são influenciados por 2 mecanismos: o de preservação das células existentes e o de reposição do tecido lesionado. Os surfactantes (fosfolipídios anfóteros) atuam na preservação, aumentando a hidrofobicidade, controlando a passagem de agentes lesivos do lúmem para mucosa gástrica, ou seja, preservando-a. As células epiteliais sobreviventes assumem um papel de reconstituição, através da divisão e migração de células (SZABO, 1991; WALLACE, GRANGER, 1996).

Em relação aos aspectos bioquímicos, o sistema antioxidante age contra radicais livres, podendo atuar através de enzimas que favorecem a primeira linha de defesa contra o O_2^- e H_2O_2 , incluindo a superóxido desmutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT) e por meio de antioxidantes químicos que compreendem a segunda linha, constituída de compostos de moléculas químicas pequenas, como vitaminas, ácido úrico, flavonóides da dieta, carotenóides e GSH (CNUBBEN, 2001).

Outro fator de proteção é o óxido nítrico, uma molécula sinalizadora, e originada a partir de várias etapas de transferência de elétrons por uma família de enzimas definidas como ON sintetases, participando de processos patológicos e fisiológicos como o relaxamento muscular, vasodilatação, agregação plaquetária, controle da pressão arterial, fluxo sanguíneo e outros (RADOMSKI, MONCADA, 1993; KIM *et al.*, 2001). No estômago o ON tem fundamental importância na prevenção e reconstituição de injúrias, participando da secreção de muco-bicarbonato, regulação do fluxo sanguíneo e agindo como citoprotetor (MUSCARA *et al.*, 1999; WALLACE, GRANGER, 1996).

Outro mecanismo de defesa são as prostaglandinas (PGs), que são sintetizadas a partir do ácido araquidônico, por meio das enzimas ciclooxigenases (COXs), dividida em forma constitutiva (COX_1), produzindo uma grande quantidade de PGs no estômago em condições fisiológicas normais e na forma induzida (COX_2), agindo de forma significativa na cicatrização de úlceras (PERINI *et al.*, 2003). A PGE_2 , em destaque possui efeito protetor na mucosa gástrica, em virtude de várias ações como o aumento de muco e bicarbonato, a inibição da motilidade e secreção gástrica, a manutenção do fluxo sanguíneo, a inibição da ativação de mastócitos e a diminuição da aderência leucocitária (ATAY *et al.*, 2000).

Os fatores de crescimento também são considerados agentes defensivos, atuando através da estimulação dos elementos de cicatrização, como a angiogênese, formação de tecido de granulação e repitelização (SZABO, VINCZE, 2000; TÉTREAUULT *et al.*, 2008).

Outro mecanismo de defesa é o sistema imune, constituído de várias células como mastócitos e macrófagos, que atuam no reconhecimento de substâncias estranhas ou invasores na mucosa, produzindo resposta inflamatória adequada (WALLACE, GRANGER, 1996).

1.4.4 Fatores de agressão à mucosa gástrica

Existe uma variedade de fatores incluindo, processos patológicos, que produzem danos ou prejuízos à mucosa gástrica, como o álcool, estresse, uso prolongado de medicamentos, faixa etária, hereditariedade e infecção por *Helicobacter pylori* (SAUL, 2007). O álcool causa danos à mucosa, em virtude de ocasionar uma diminuição da função da barreira de muco, justificando-se pelas altas concentrações que podem levar à alteração da permeabilidade, causado pela re-difusão dos íons H^+ (SIEGMUND *et al.*, 2003), penetrando de forma rápida na mucosa causando danos ao epitélio, como hemorragias, esfoliação das células, edema, infiltrado celular e reações inflamatórias (SZABO *et al.*, 1985).

O *Helicobacter pylori*, é uma bactéria considerada patogênica, com ampla distribuição, podendo ser encontrada na metade da população mundial (ZEVERING *et al.*, 1999), correlacionada com alguns distúrbios gastrointestinais (BLASER, 1990). A fase precoce de colonização desta bactéria necessita atravessar a camada de muco que protege o epitélio gástrico, a qual é formada por um gel viscoelástico que confere proteção química e mecânica ao revestimento epitelial, inclusive contra bactérias. No entanto as proteases e lipases sintetizadas pelo *H. pylori* degradam a camada de muco, facilitando a progressão da mesma (JENKS, KUSTERS, 2000).

Os AINE's (antiinflamatórios não-esteroidais) são divididos de acordo com sua composição química, podendo apresentar propriedades irritantes á mucosa gástrica. A indometacina, frequentemente utilizada por seu mecanismo de ação se tratar da inibição potente da via da ciclooxigenase, atua inibindo a formação de prostaglandinas e outros fatores de proteção, favorecendo a ação de agressores como a produção de ácido (KATZUNG, 2007; CHIBA *et al.*, 2008; WALLACE, DEVCHAND, 2005).

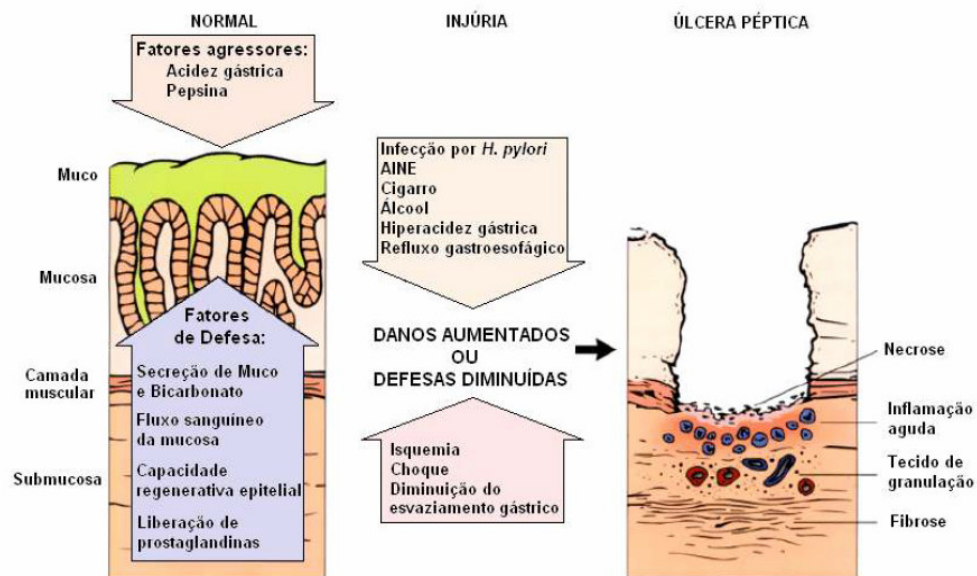
Inúmeras são as patologias do TGI relacionadas ao estômago podendo-se mencionar as anomalias congênitas (estenose pilórica), gastrite (aguda e crônica), doença ulcerosa péptica (úlceras pépticas, úlcera gástrica aguda), varizes gástricas, tumores (benigno e carcinoma gástrico), ocasionadas por múltiplos fatores (ROBBINS, COTRAN, 2005).

1.4.5 Lesão gástrica

As lesões gástricas ocorrem em virtude do desequilíbrio entre os fatores de proteção e agressão como evidenciado na Figura 5 (SAIRAM *et al.*, 2002), tendo os agressores endógenos e exógenos uma ação que aumenta a permeabilidade do ácido, favorecendo uma cadeia de eventos, iniciando uma lesão direta á mucosa, ocasionando uma destruição da submucosa e, por conseguinte alterações mais intensas (TWEDT, MAGNE, 1992; LIPTAK *et al.*, 2002). Este prejuízo está vinculado à incapacidade de secretar muco e bicarbonato, fatores considerados essenciais para reepitelização (BOOTHE, 1999).

As causas de lesão celular e tecidual podem ser consideradas inatas ou adquiridas, incluindo a hipóxia tecidual ou isquemia (consequência da diminuição do fluxo sanguíneo e das enzimas antioxidantes nos tecidos), agentes de origem biológica (bactérias, vírus, parasitas e fungos que provoquem reações imunológicas e produção de radicais livres, ocasionando injúrias), agentes de origem química (eicosanoides, monoaminas, drogas sintéticas), fatores físicos (temperaturas elevadas ou reduzidas, força mecânica e estresse) e condições genéticas (SZABO, 1991).

Figura 5: Desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e agressão na mucosa gástrica



Fonte: Adaptado de ROBBINS, COTRAN 2005

Dentre as lesões gástricas, a úlcera é descrita como uma lesão profunda na mucosa, onde a grande maioria dos tecidos, incluindo epitelial, subepitelial, células, vasos e nervos podem ser destruídos por agentes agressivos (MILANI, CALABRO, 2001). Considerada uma

das principais desordens gastrointestinais, em virtude do desequilíbrio entre os fatores de proteção (muco, bicarbonato, prostaglandinas, migração de células, sistema antioxidante e fluxo sanguíneo) e fatores lesivos sobre a mucosa (ácido clorídrico, pepsina, espécies reativas de oxigênio, drogas anti-inflamatórias, *H.pylori*, hábitos alimentares inadequados, consumo excessivo de álcool e tabagismo) (LAINE *et al.*, 2008; NATALE, 2004; MALYSHENK *et al.*, 2005; KIM, 2008).

1.4.6 Terapia farmacológica natural e sintética dos distúrbios gastrointestinais

O tratamento, seja sintético ou natural, tem como finalidade reestabelecer o equilíbrio na mucosa gástrica. Várias espécies são utilizadas na medicina popular no tratamento de distúrbios no TGI de forma natural, dentre elas, o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), denominada como carboxonolona, usada com frequência nas comunidades indígenas, demonstrou eficiência comprovada contra úlceras gástricas (ATKAR, MUNIR, 1989).

Em relação à família e gênero, desta espécie, vários estudos foram realizados a fim de buscar alternativas para os distúrbios gastrointestinais, sendo a atividade gastroprotetora evidenciada em *Anacardium occidentale* (LUIZ-FERREIRA *et al.*, 2012), *Myracrodruon urundueva* e *Schinus terebinthifolius* (CARLINI *et al.*, 2010).

A importância clínica destes distúrbios levou ao desenvolvimento de diversas drogas de origem sintética, que agem de forma direta e indireta, incluindo os antagonistas dos receptores H₂ (cimetidina, ranitidina e entre outros), que tem como mecanismo inibir a ligação da histamina, com os receptores do tipo H₂ na célula parietal, diminuindo a ativação da bomba de prótons. Os inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol e pantoprazol) agem bloqueando diretamente a bomba de prótons (H⁺/K⁺ ATPase), ou seja, a via final da secreção gástrica. Os análogos das prostaglandinas (misoprostol) agem aumentando a produção de muco e inibindo ou diminuindo a via dependente de AMPc. Os antagonistas M₃ (pirezenpina), irão bloquear a interação da ACh com os receptores muscarínicos do tipo 3, reduzindo assim a produção de HCl (KATZUNG, 2007; GOODMAN, GILMAN, 2006).

Os antiácidos como: bicarbonato de sódio, cálcio, hidróxido de cálcio, magnésio e alumínio, foram utilizados durante muitos anos, na neutralização do ácido gástrico, a fim de aliviar as dores das úlceras. Os mesmos vêm sendo gradativamente substituído por outros fármacos e raramente fazem parte dos esquemas terapêuticos prescritos, devido a disponibilidade e conveniência. Outros fármacos como os compostos de bismuto são tão eficazes quanto os já relatados, ligam-se a base da úlcera, atuando como citoprotetores, estimulando a produção de mucina e bicarbonato, desenvolvendo efeitos antibacterianos

significativos, sendo considerado essencial em esquemas terapêuticos contra *Helicobacter pylori* (RANG, 2004; GOODMAN, GILMAN, 2006).

Os fármacos que suprimem a produção de ácido gástrico são empregados em combinação com antibióticos a fim de tratar a infecção causada por *H.pylori*, um bastonete Gram-negativo que está relacionado com gastrite e o desenvolvimento subsequente de úlceras nos estômago e duodeno, adernocarcinomas e linfomas gástricos. O tratamento não ocorre de maneira direta, vários fatores podem influenciar na determinação do mesmo, ressaltando que os esquemas únicos com antibióticos como: amoxicilina e claritromicina são considerados ineficazes, levando a resistência da bactéria, portanto um inibidor da bomba de prótons ou antagonista dos receptores H₂ deve fazer parte do esquema, a fim de aumentar a eficácia do tratamento (VELDHUYZEN E LEE, 1999; GRAHAM, 2000; GOODMAN, GILMAN, 2006).

Em estudo realizado por COELHO *et al.*, (2004), a associação de pantoprazol, claritromicina e amoxicilina durante um período de 7 dias, constitui de uma alternativa terapêutica eficaz no tratamento de erradicação de *H.pylori* em portadores de úlcera gástrica no Brasil.

1.5 Atividade antimicrobiana

As plantas medicinais vêm sendo consideradas como opções terapêuticas com aplicabilidade em vários procedimentos clínicos, em virtude de alguns produtos naturais com ação antimicrobiana apresentarem baixo risco de resistência, justificado pela sua composição complexa de constituintes, que dificulta a adaptabilidade microbiana (DAFERERA *et al.*, 2003). Este desenvolvimento está relacionado ao número crescente de microrganismos resistentes e ao surgimento de infecções oportunistas fatais, associado a diversas patologias, como AIDS, transplantes e quimioterapias (PENNA *et al.*, 2001).

Dentre as justificativas para o desenvolvimento de novos antimicrobianos a partir de produtos naturais, a resistência microbiana é considerada a principal por se definir como a capacidade de multiplicação de microrganismos, mesmo com a presença de antimicrobianos em concentrações elevadas (WANNMACHER, 2004), associada ao uso crescente e inadequado de antimicrobianos, e procedimentos que favorecem a invasão de microrganismos multirresistentes (SCHAECHTER, 2002). Os microrganismos possuem vários mecanismos que favorecem a resistência aos antimicrobianos, através de: alteração na estrutura molecular dos antimicrobianos, produção de enzimas inativadoras, ou até mesmo modificações ribossômicas na DNA-girase e nas mutações na permeabilidade celular (FILE 2000).

De modo geral, os microrganismos são seres vivos que apresentam uma diversidade biológica, em relação à morfologia, fisiologia e ecologia, podendo apresentar formas variadas, realizar reações metabólicas, e presentes em praticamente todos os ambientes, sendo classificados de acordo com sua estrutura e organização celular, tendo como os principais grupos: bactérias, fungos, protozoários e algas (VERMELHO *et al.*, 2006).

Dentre as bactérias de relevância clínica, algumas têm destaque como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, representando um dos focos na saúde pública por constituírem diversos problemas (DIAS, MONTEIRO, 2010). Outra problemática são As inúmeras infecções humanas que envolvem pele e mucosas constitui de uma problemática em saúde pública, principalmente em países desenvolvidos com clima tropical e subtropical, sendo adquiridas frequentemente por fungos dermatófitos e leveduras do gênero *Candida* (PORTILLO *et al.*, 2001).

O gênero *Candida* é organizado entre 200 diferentes espécies de leveduras que normalmente habitam os mais diversos nichos corporais, como orofaringe, cavidade bucal, dobras da pele, secreções brônquicas, vagina, urina e fezes. Entre as espécies que compõem esse gênero, merecem destaque *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* e *Candida krusei* (ÁLVARES *et al.*, 2007; KURTZMANN, FELL, 1998).

1.6 Atividade cicatrizante

A ferida é considerada uma lesão resultante do rompimento de qualquer uma das estruturas corporais tais como pele e membranas da mucosa agredidas por fatores químicos, físicos ou biológicos. A capacidade de auto-regeneração é um fenômeno indispensável à sobrevivência dos seres vivos, sendo considerado complexo, dinâmico e que envolve fenômenos bioquímicos ainda não totalmente estabelecidos, podendo os mesmos serem prolongados ou inibidos a partir de fatores locais e sistêmicos. Entre os fatores locais pode citar-se a presença de infecção, necrose, corpos estranhos e localização da ferida, e os sistêmicos como, a idade, fatores genéticos, doenças e o uso de alguns medicamentos como os corticóides (RUSHTON, 2007; BORGES, 2008).

A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido (ORTONNE, CLÉVY, 1994), esse processo dinâmico envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos se comportam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular, (MANDELBAUM *et al.*, 2003). As feridas podem ser classificadas por intenção primária, quando ocorre a união imediata das bordas ou por secundária, quando as bordas ficam

separadas e acontece a necessidade de formação de um tecido chamado cicatricial, considerado mais complexo (HOWEL, MAQUART, 1991), e por terceira intenção quando ocorre a necessidade de fechamento através de um procedimento de sutura (DOUGHTY, SPARKS-DEFRIESE, 2007).

Existem autores que consideram três estágios no processo de cicatrização: inicialmente um estágio inflamatório, seguido pelo de proliferação e finalizando com o reparo na remodelação (ORTONNE, CLÉVY, 1994). Entretanto outros autores classificam de uma forma mais completa dividindo o processo em cinco fases principais: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (FAZIO *et al.*, 2000), como evidenciado na figura 6.

Após a injúria, o início do processo de cicatrização é imediato, fase esta que depende da velocidade plaquetária e da cascata de coagulação. O coágulo formado irá limitar a perda de constituintes circulatórios e fornecer uma matriz provisória, que alicerçará a migração das células responsáveis pelo desencadeamento do processo (BALBINO, PEREIRA, CURI, 2005; CLARK *et al.*, 1982; GRINNEL *et al.*, 1981).

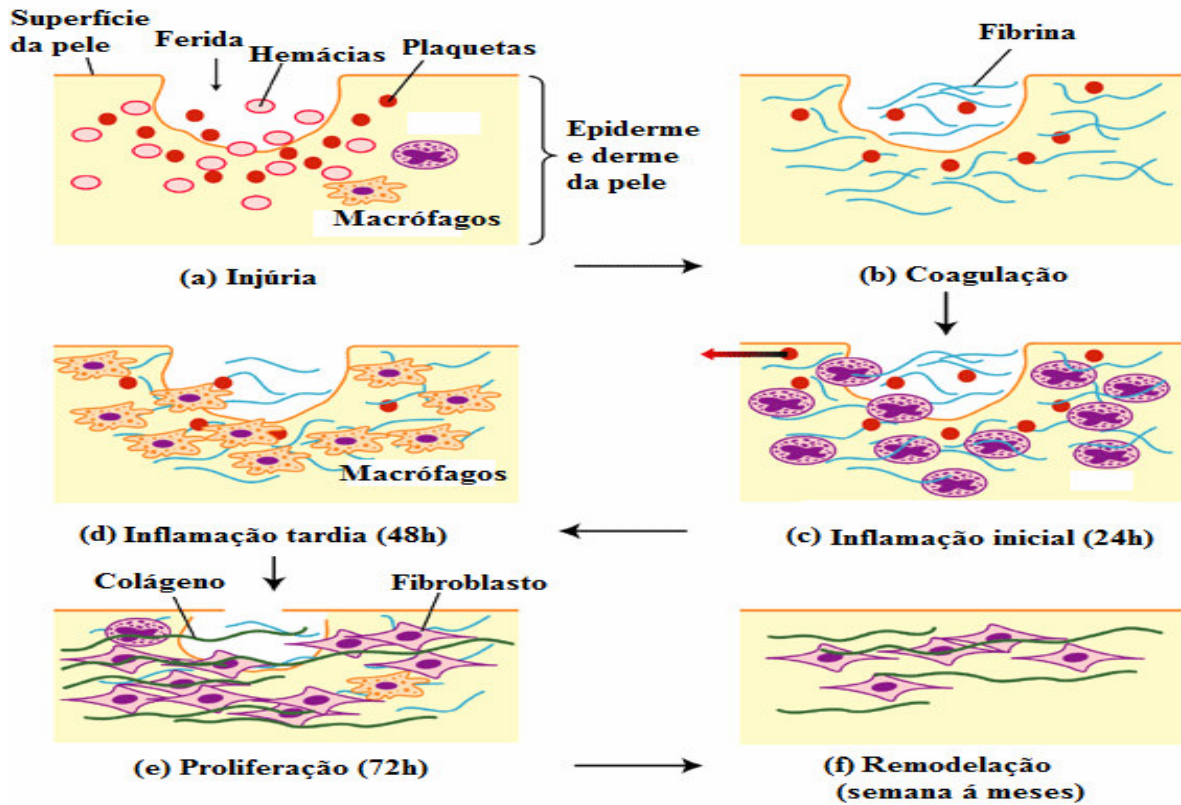
Intimamente ligada ao processo anterior, a fase inflamatória irá ocorrer juntos aos seus sinais clássicos— calor, rubor, edema e dor— (LI, CHEN, KIRSNER, 2007) e a liberação de inúmeros mediadores químicos, células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos, que irão ser responsáveis por diversas propriedades, como opsonização e a fagocitose de bactérias e corpos estranhos (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Após o processo inflamatório, proliferação é o estágio seguinte, que será responsável pelo "fechamento" da lesão, sendo a primeira fase chamada de reepitelização, momento este que irá ocorrer a migração de queratinócitos não danificados das bordas da ferida, os anexos epiteliais e os fatores de crescimento que serão os prováveis responsáveis pelos aumentos das mitoses e hiperplasia do epitélio (CHRISTOPHER *et al.*, 1972). Seguido da fase que inclui a fibroplasia e formação da matriz que será relevante na formação do tecido de granulação, e por última fase angiogênica, pela qual é essencial para o suprimento de oxigênio e nutrientes para a cicatrização (MANDELBAUM *et al.*, 2003).

Após o processo de proliferação, os movimentos centrípetos nas bordas da ferida, irão favorecer a contração da mesma, favorecendo a última fase do processo cicatricial, a de remodelação, responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema, podendo esta durar semanas e meses (DOILLON *et al.*, 1985).

Várias espécies pertencente a mesma família e gênero já tiveram a ação cicatrizante evidenciada, dentre elas *Anacardium occidentale* (VITORINO FILHO *et al.*, 2011) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (BRANCO- NETO *et al.*, 2006).

Figura 6: Fases principais do processo de cicatrização de feridas



Fonte: Adaptado de BEANES *et al.*, 2003

1.7 Potencial antioxidante

As espécies reativas de oxigênio (ERO) inclui os radicais livres que tem na sua estrutura oxigênio, como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila ($HO\cdot$), o radical peroxila ($ROO\cdot$) e espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlete (1O_2), os quais são determinados como subprodutos através das reações biológicas ou fatores exógenos (GYAMFI *et al.*, 1999; GÜLCIN *et al.*, 2003). As mesmas podem causar inúmeras desordens celulares ao reagir com lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos.

O desequilíbrio da produção destas espécies reativas e a remoção das mesmas, favorece o denominado estresse oxidativo, considerado como uma condição celular e fisiológica em concentrações elevadas de espécies reativas, que causam danos às estruturas das moléculas, acarretando em alterações nas funções vitais em diversos tecidos (MULLER *et al.*, 2007), incluindo o processo de envelhecimento, complicações biológicas, como

inflamação, problemas respiratórios, diabetes, aterosclerose e doenças autoimunes (GYAMFI *et al.*,1999; AL-ALMARY *et al.*,2002; CHANWITHEESUK *et al.*,2005).

O processo antioxidante está ligado á ação dos radicais livres, que são definidos como espécies químicas com a capacidade de existência independente, que tenham um ou mais elétrons desemparelhados, altamente reativos capazes de atacar as moléculas (MARRONI, MARRONI, 2002). Os antioxidantes são denominados com toda e qualquer substância que mesmo presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, atrasam ou inibem a oxidação do substrato, sendo os radicais formados a partir de antioxidantes, considerados não são reativos para propagar a reação em cadeia, e serão neutralizados e estabilizados por reação com outro radical, podendo ser substituído por outro antioxidante (MOREIRA, SHAMI, 2004).

As substâncias que apresentam núcleo fenólico, incluindo os flavonóides e ácidos fenólicos, apresentam ação antioxidantes, pela sua atuação eficiente na captação das espécies reativas de oxigênio, pela redução e quelação dos íons de ferro que catalisam a peroxidação lipídica (AL-MAMARY *et al.*, 2002; NAHAR; SARKER, 2005; DELAZAR *et al.*, 2006)

1.8 Justificativa

A ampla utilização de plantas medicinais com finalidade terapêutica em países desenvolvidos e em desenvolvimento pode ser justificada em razão da fácil aceitabilidade, disponibilidade, baixo custo e a busca por um tratamento menos agressivo ao organismo. Contudo, mesmo que, tradicional em diversas etnias estas vantagens não são suficientes para validar e comprovar eficácia e segurança, levando em consideração a complexidade de constituintes presentes nas plantas provenientes do metabolismo de primário e secundário, podendo exercer um efeito benéfico ou maléfico (TUROLLA, NASCIMENTO, 2006).

Tornando-se evidente a necessidade da comprovação científica envolvendo diversas investigações dentre elas: a etnobotânica, com o conhecimento popular, a química através do isolamento, purificação e determinação dos princípios ativos, a farmacologia fazendo a relação uso medicinal/estruturas/atividade, corroborando para a formulação de novos fitoterápicos (MACIEL, VEIGA-JUNIUR, 2002).

Esta pesquisa é resultado de relatos populares sobre o uso de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng no tratamento de diarreia, anti-séptico, úlceras de pele, tosse, expectorante, resfriado e outros processos inflamatórios, de estudos comprovados com espécies pertencentes á família, gênero e tendo em vista possíveis potencialidades terapêuticas.

2.OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

- Identificar o perfil químico e avaliar as atividades antioxidante, gastroprotetora, cicatrizante antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das cascas *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar o extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng. (EHAF) e qualificar as principais classes de constituintes químicos derivados do metabolismo secundário;
- Quantificar os constituintes químicos do EHAF através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE);
- Determinar o teor de fenóis e flavonóides totais presentes no EHAF por métodos espectrofotométricos;
- Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* do EHAF, através do método espectrofotométricos de captura do radical livre DPPH e redução do teor de ferro (FRAP);
- Avaliar a ação antimicrobiana do EHAF a partir da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e modulação da atividade antibiótica (aminoglicosídeos e betalactâmicos) e antifúngica;
- Determinar a dose letal média (DL₅₀) do EHAF frente a modelos animais;
- Avaliar o efeito gastroprotetor do EHAF em modelos de lesões gástricas a induzidas por etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina;
- Determinar a atividade cicatrizante do gel de EHAF (100 mg/g) a 10%, através da análise de parâmetros morfométricos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. Material e métodos

3.1 Material botânico

As cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng, foram o material vegetal selecionado para realização dos testes. A coleta foi realizada no Sítio/Fazenda Barreiro Grande (7°21'41,7''S e 39°28'42,4''W, altitude de 909 m acima do nível do mar) situado no município de Crato – CE e com 65,9 km de proximidade com o município de Serrita-PE, cujas informações foram obtidas do aparelho de GPS.

Para identificação da espécie foi coletada uma amostra representativa para confecção da exsicata (DI STASI, 1996), que está depositada junto ao Herbário Dárdano de Andrade e Lima, da Universidade Regional do Cariri – URCA, sob número de 6760, como evidenciado na Figura 6.

Figura 7: Exsicata de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng.



Fonte: Herbário Dárdano de Andrade-Lima

3.2 Ensaio *in vitro*

3.2.1 Obtenção do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium*

Após os processos de coleta, filtração e remoção do etanol, o material foi liofilizado durante 48 horas, para remoção total da água, pelo qual se obteve peso total de 219 g, obtendo um rendimento de 8,1%, sendo este suficiente para realização dos testes *in vitro e in vivo*, seguindo a metodologia de MATOS, 1997.

3.2.1.1 Prospecção fitoquímica

A identificação dos compostos que resultam do metabolismo secundário do EHAF, foi realizada a partir das mudanças de coloração e formação de precipitados após a adição de reagentes específicos, seguindo a metodologia de MATOS, 1997.

3.2.1.2 Análise Cromatográfica

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi a técnica utilizada para a quantificação dos ácidos fenólicos: ácidos gálico, clorogênico e caféico, e os flavonóides: quercetina e rutina, obtida diante de uma comparação do seu tempo de retenção e do espectro de absorção de UV, com o uso dos padrões comerciais, seguindo a metodologia de LAGHARI *et al.*, 2011. Todas as operações cromatográficas foram realizadas em temperatura ambiente e triplicata.

3.2.1.3 Teor de fenóis totais

A quantificação do teor de fenóis totais presentes no EHAF foi realizada através do método de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin–Ciocalteu descrito por SINGLETON, LAMUELA-RAVENTOS, 1999 e ligeiramente modificada por DEWANTO, ADOM, LIU, 2002. Sendo o teor expresso em grama(g) de ácido gálico por grama(g) de extrato, através da interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico. Todas as análises foram realizadas em temperatura ambiente e triplicata.

3.2.1.4 Teor de flavonóides totais

A determinação do teor de flavonóides totais presentes no EHAF foi realizada através do método de espectroscopia na região do visível seguindo a metodologia adaptada por ARVOUET-GRAND *et al.*, 1994. Os valores foram expressos em grama(g) de quercetina por grama (g) de extrato, através da interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de quercetina. Todas as análises foram realizadas em temperatura ambiente e triplicata.

3.2.2 Potencial antioxidante

3.2.2.1 Captura do radical livre DPPH

A determinação do potencial antioxidante pela captura do radical livre DPPH foi realizado através do método de espectroscopia na região do visível utilizando a metodologia descrita por RUFINO *et al.*, 2007. O valor encontrado foi considerado como a capacidade de grama (g) de extrato capturar grama (g) do radical livre de DPPH, a partir das absorbâncias obtidas e através da interpolação entre a curva de DPPH e a solução extrato.

3.2.2.2 Método de redução de ferro

A determinação da atividade antioxidante ocorre pela redução de ferro (FRAP) através do método de espectroscopia na região do visível, utilizando a metodologia descrita por RUFINO *et al.*, 2006. O valor encontrado foi considerado como a capacidade de grama(g) de extrato reduzir grama(g) de sulfato ferroso, a partir das absorbâncias obtidas e através da interpolação entre a curva de sulfato ferroso e a solução extrato.

3.2.3 Formulação do gel de EHAF (100mg/g) a 10%, para uso tópico na atividade cicatrizante

3.2.3.1 Gel de natrosol

Dissolveu-se o nipagim,- nome comercial de metilparabeno- em água aquecida a 70°C, e aos poucos foi adicionando o natrosol- hidroxietilcelulose-, sob agitação lenta e constante, até a dissolução completa. Logo após esse processo, o material foi resfriado á

40°C, intercalando com um repouso e adicionando o Germall- Imidazolidinil-. Ao final do preparo, o gel apresentou as seguintes características: gel transparente, incolor ou levemente amarelado, com pH variando entre 5 e 6.

3.2.3.2 Gel de EHAF á 10% (100mg/g)

O extrato foi diluído em água, e foi adicionado o gel de natrosol aos poucos, através de uma homogeneização sincronizada, afim de obter a concentração final de 100mg/g.

3.2.4 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos utilizados foram às cepas bacterianas padrões *Escherichia coli* ATCC 1873, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4362 no teste de Concentração Inibitória Mínima e cepas multirresistentes *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358 e *Pseudomonas aeruginosa* 03, seguindo a tabela 1, de acordo com os respectivos perfis de resistência. E as cepas fúngicas utilizadas foram: *Candida albicans* ATCC 40006, *krusei* ATCC 13803 e *tropicalis* ATCC 6258.

Tabela 1: Origem bacteriana e perfil da resistência a antibióticos

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>Escherichia coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Ast,Ax,Ami,Amox,Ca,Cfc,Cf, Caz,Cip,Clo,Im,Can,Szt,Tet,Tob
<i>Staphylococcus aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxa,Gen,Tob,Ami,Can,Neo,Para, But,Sis,Net
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> 03	Urocultura	Cpm,Ctz,Imi,Cip,Ptz,Lev,Mer,Ami

Ast-Aztreonan;Ax- Amoxicilina; Amp-Ampicilina; Ami-Amicilina; Amoxilina, Ca-Cedroxil; Cfc- cefaclor; Cf- Cefalotina; Caz-Ceftazidimida;Cip-Ciproflaxacin; Clo –Clorafenicol; Im-Imipenem; Can –Canamicina; Szt-Sulfametrim; Lev- Levofloxacina; Tet-Treciclina; Tob- Tobromicina; Oxa –Oxacilina; Gen-Gentamicina; MER-Meropenem;Neo- Neomicina; Ptz-Piperacilina-Tazobactam; Para- Paramomicina;But- Butirosina;Sis-Sisomicina;Net- Netilmicina

A concentração inibitória mínima é definida como a menor concentração em que nenhum crescimento é observado (NCCLS, 2008). A mesma foi determinada pelo método de microdiluição em caldo descrita por JAVADPOUR *et al*, 1996. Para avaliar o efeito

modulador foi realizada uma combinação do extrato com antibiótico/antifúngico em microplacas estéreis, a partir de uma concentração subinibitória, determinada pela CIM, reduzida oito vezes (CIM/8), de acordo com a metodologia descrita por COUTINHO *et al.*, 2008.

3.3 Ensaios *in vivo*

3.3.1 Animais e aspectos éticos da pesquisa

Para realização dos ensaios *in vivo*, foi utilizada a seguinte espécie de animal: camundongos *Swiss (Mus musculus)*, com massa corpórea entre 20-30 g, cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ) e monitorados no Biotério Experimental da URCA, em conformidade com as normas e procedimentos em biossegurança aplicada para biotérios.

Os animais foram acondicionados em gaiolas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura de 23 ± 2 °C, utilizando o ciclo claro/escuro de 12 h e tendo livre acesso à água potável e ração específica para roedores (Labina, Purina®). Foi realizado um jejum de sólidos quando necessário, antes dos testes.

Foram realizadas avaliações diárias e necessárias como: número de animais por caixa, fluxo de pessoas (ruídos), nutrição, estoque/qualidade de material, sexagem de animais, condições de equipamentos e instalações, desinfecção e esterilização, higiene pessoal, ambiental e na manutenção desses animais, com a finalidade de garantir qualidade nos resultados e minimizar os erros.

Todos os procedimentos seguiram as normas de utilização de animais, sendo a pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Regional do Cariri.

3.3.2 Dose letal média (DL₅₀)

A determinação da DL₅₀ do EHAF pela via oral foi realizada a partir método estabelecido pela OECD, 2008, definido através do número de ocorrência de mortes.

3.3.3 Atividade gastroprotetora

3.3.3.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto (ROBERT *et al.*, 1979 *apud* LAPA, 2008)

Os animais foram tratados com solução salina (0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.) e o EHAF (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.). Após 1h dos tratamentos, os animais receberam a administração do etanol_{abs} (0,2 mL/animal v.o.). Decorrido 1h da indução, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas. As imagens foram escaneadas e digitalizadas de acordo com os grupos, com posterior análise através do “*software*” (*Image J*), sendo a área lesionada expressa em percentagem em relação à área total do corpo gástrico.

3.3.3.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado (MIZUI, 1987 *apud* LAPA, 2008)

Os animais foram tratados com solução salina (0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.) e o EHAF (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.). Após 1h dos tratamentos, os animais receberam a administração de etanol acidificado (0,2 mL/animal v.o.). Após 1h da indução, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas. As imagens foram escaneadas e digitalizadas de acordo com os grupos, com posterior análise através do “*software*” (*Image J*), sendo a área lesionada expressa em percentagem em relação à área total do corpo gástrico.

3.3.3.3 Lesão gástrica induzida por indometacina (DJAHANGUIRI, 1969 *apud* LAPA, 2008)

Os animais receberam os tratamento, de acordo com seus grupos, solução salina (0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.) e o EHAF (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.). Após 1h do pré-tratamento foi realizado a indução das lesões por administração de indometacina (10 mg/Kg, v.o.). Decorridas 3 horas da administração do agente indutor, foi realizada a repetição dos pré-tratamentos. Depois de 6 horas da administração da indometacina, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas. As imagens foram escaneadas e digitalizadas de acordo com os grupos, sendo a área lesionada quantificada e qualificada a partir de scores previamente estabelecidos pela metodologia descrita por ZINKIEVICH, et al., 2010, como mostra tabela 2.

Tabela 2: Determinação de área lesionada através do sistema de scores

Pontuação	Tipo de lesão
0	Ausente
1	Leves edemas
2	Edema e hemorragia
3	1-2 Úlceras pontuais
4	1-2 Úlceras extensas
5	Várias úlceras pontuais
6	Úlceras extensas e visíveis em toda mucosa

Fonte: Adaptado por ZINKIEVICH, et al., 2010

3.3.3.4 Teste de barreira física

Os animais foram tratados com solução salina (0,9%, 0,1 mL/10 g, v.o.) e o EHAF (50, mg/kg, v.o./v.i.p). Após 1h dos tratamentos, os animais do grupo (v.o) receberam a administração do etanol acidificado (0,2 mL/animal v.o.) e o grupo (v.i.p) após 30 minutos. Decorrido 1h da indução de acordo com seus respectivos tempos, os animais foram anestesiados e sacrificados, os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura, lavados com salina 0,9% e comprimidos entre duas lâminas. As imagens foram escaneadas e digitalizadas de acordo com os grupos, com posterior análise através do “*software*” (*Image J*), sendo a área lesionada expressa em porcentagem em relação à área total do corpo gástrico.

3.3.4 Atividade cicatrizante

Os animais foram divididos em grupos (n=6) previamente identificados e pesados, distribuídos por grupos (controle -gel puro- e EHAF 100mg/g), os mesmos foram anestesiados, submetidos a uma tricotomia na região dorsal. Após esse processo foi realizado uma excisão cutânea de 8 mm, com auxílio de *punch* metálico de axo inoxidável, removendo-se um segmento circular de pele, expondo-se as fáscias musculares. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram acomodados em caixas devidamente desinfetadas.

Durante 14 dias, os animais foram tratados de acordo com os respectivos grupos pela via tópica (1g/animal) e nos dias 0°, 7°, 11° e 14°, foram emitidas imagens das lesões, que foram digitalizadas, com posterior análise através do “*software*” (*Image J*), sendo à área total da lesão expressa em cm², de acordo com seus grupos.

3.4 Expressão dos dados e análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P. Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) de uma via e os testes de múltipla comparação de Newman Keuls, Bonferroni e Tukey (quando necessário), sendo os cálculos realizados a partir do Software estatístico *GraphPad Prism*, de acordo com os valores obtidos nos testes.

3.5 Instituições parceiras e financeiras

A realização desta pesquisa contou com o apoio da instituição e dos profissionais, do Biotério da Faculdade de Medicina do Juazeiro do Norte (FMJ), do Biotério da Universidade Regional do Cariri (URCA) e os Laboratórios da Universidade Regional do Cariri: Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM) para os ensaios *in vivo*, Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) para obtenção do extrato, prospecção fitoquímica, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) para os ensaios microbiológicos, o Laboratório de Botânica (LB) para identificação da espécie e a Universidade Santa Maria na quantificação de compostos por CLAE.

Os recursos financeiros para execução desse projeto foram advindos do Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri, do Programa CAPES, FUNCAP e CNPQ.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. Resultados e discussão

4.1 Análise química

A prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng., permitiu qualificar as seguintes classes de metabólitos secundários: taninos hidrolisáveis, flavonas, flavononóis, flavonóis, chalconas, auronas, xantonas e catequinas, como evidenciado na tabela 3.

Tabela 3: Classes de metabólitos secundários encontradas no extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng. (EHAF)

Classes de metabólitos	Presença/Ausência
Fenóis	Ausência
Taninos condensados	Ausência
Taninos hidrolisáveis	Presença
Antocianinas	Ausência
Antocianidinas	Ausência
Flavonas	Presença
Flavonóis	Presença
Flavononois	Presença
Xantonas	Presença
Chalconas	Presença
Auronas	Presença
Leucoantocianidinas	Ausência
Catequinas	Presença
Alcaloídes	Ausência

Dentre os compostos qualificados, os flavonóides incluem cerca de 8000 compostos separados em classes (flavonas, flavononois, flavonóis, isoflavonóides, flavononas, dihidroflavonóides, neoflavonóides, bioflavonóides, chalconas, auronas, xantonas, catequinas,

antocianidinas e outros) (DI-CARLO *et al.*, 1999; PARK *et al.*, 2002), com algumas atividades já foram comprovadas, dentre elas antiulcerogênica (MOTA *et al.*, 2009), antiinflamatória (HARBORNE, WILLIAMS, 2000) e antioxidante (TRUEBA, SANCHEZ, 2001).

O grupo de taninos hidrolisáveis são detectados em elevadas concentrações em cascas de árvores, folhas, madeiras e galhos (MUELLER-HARVEY, 2001) e facilmente hidrolisados por ácidos e enzimas, liberando açúcar e ácido carboxílico fenólico (MORI, 2001). Algumas atividades biológicas de extratos ricos em taninos já foram comprovadas como antibactericida, fungicida (SCALBERT, 1991), antioxidante (HAGGERMAN *et al.*, 1998; MOURE *et al.*, 2001) e antiulcerogênica (CARLINI *et al.*, 2010).

A espécie *Astronium urundueva*, conhecida popularmente como aroeira do sertão, apresentou algumas atividades farmacológicas comprovadas - em virtude da sua composição química -, sendo os taninos responsáveis pela ação analgésica e antiinflamatória (VIANA *et al.*, 1997), as chalconas como antiinflamatórias (VIANA *et al.*, 2003; BANDEIRA *et al.*, 1994), cicatrizante (VIANA *et al.*, 1995), antiulcerogênica (MENEZES, RAO, 1986) e antioxidante (DANTAS, 2003), sugerindo prováveis atividades farmacológicas para o gênero *Astronium*.

Em pesquisa realizada por CONCEIÇÃO *et al.*, (2010), a espécie de *Astronium fraxinifolium* Schott, é utilizada na forma de chá de suas cascas e folhas com finalidade terapêutica antiinflamatória e adstringente. Sua identificação química foi determinada através da técnica de cromatografia por camada delgada, corroborando com os nossos resultados, ao confirmar a presença de taninos e a ausência de alcalóides.

De acordo com LEITE, (2002), esta espécie é considerada rica em substâncias tânicas e chalconas, que representam uma variedade de atividades relacionadas, dentre elas: ação anti-séptica, analgésica, anti-hemorragica, antimicrobiana, antiparasitária, antiinflamatória e cicatrizante. Este estudo mostrou prospecção fitoquímica que corrobora com os resultados apresentados na tabela 3, formando indícios de possíveis comprovações de atividades farmacológicas, despertando o interesse em investigar as atividades antimicrobiana, gastroprotetora e cicatrizante do extrato hidroalcoólico das cascas *Astronium fraxinifolium* Schott ex. Spreng.

A quantificação de compostos através do emprego da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (Tabela 4/Figura 8) corroborou com a classe de metabólitos evidenciados na prospecção fitoquímica. Os picos de cromatografia foram confirmados, através da comparação do seu tempo de retenção com os dos padrões de referência e por espectros de DAD (200 a 500 nm). Tendo a curva de calibração para o ácido gálico: $Y = 11407x + 1359,8$

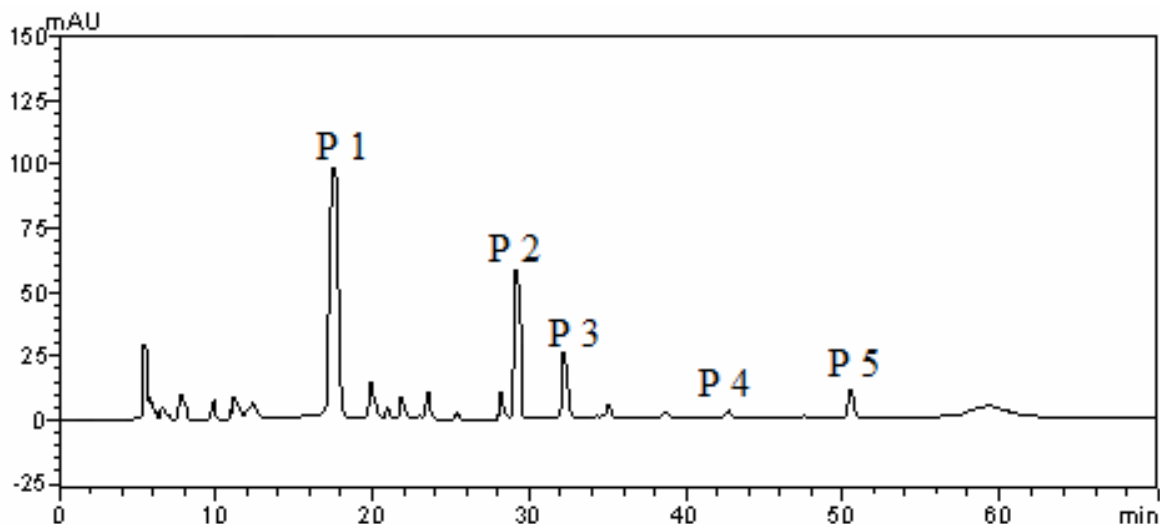
($r = 0,9996$), ácido caféico: $Y = 12582x + 1281,3$ ($r = 0,9995$), rutina: $Y = 12492 - 1.065,7$ ($r = 0,9997$) e quercetina: $Y = 13135x - 1192,6$ ($r = 0,9999$). Sendo o componente principal o ácido gálico (tR = 17,78 min; 4,25%; pico 1), seguido o ácido clorogênico (tR = 29,31 min; 2,11%; pico 2), ácido caféico (tR = 32,09 min; 0,73%; pico 3), rutina (tR = 42,45 min; 0,08%; pico 4) e quercetina (tR = 50,91 min; 0,29%; pico 5), estando os valores representados em mg/ g e percentagens, como mostra tabela 4.

Tabela 4: Flavonóides e ácidos fenólicos determinados no extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* ex.Schott.Spreng.

Compostos	<i>Astronium fraxinifolium</i> ex. Schott. Spreng	
	mg/g	Porcentagem (%)
Ácido gálico (P1)	42,51 ± 0.03 a	4,25
Ácido clorogênico (P2)	21,18 ± 0.04 b	2,11
Ácido caféico (P3)	7,36 ± 0.01 c	0,73
Rutina (P4)	0,84 ± 0.11 d	0,08
Quercetina (P5)	2,90 ± 0.05 e	0,29

Os resultados são expressos como média ± desvios-padrão (SD) de três determinações. Médias seguidas de letras diferentes diferem pelo teste de Tukey a $p < 0,01$.

Figura 8: Cromatograma dos compostos quantificados no extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* ex. Schott. Spreng.(Sistema HPLC).



*mAU: área de pico; min: minutos; P1(Pico 1): ácido gálico; P2(Pico 2): ácido clorogênico; P3(Pico 3): ácido caféico; P4(Pico 4): quercetina; P5(Pico 5): rutina;

Tabela 5: Atividades biológicas evidenciadas nos flavonóides: quercetina e rutina e ácidos fenólicos:gálico, caféico e clorogênico.

Quercetina	Antitumoral (BEHLING <i>et al.</i> , 2004; YOSHIDA <i>et al.</i> , 1990; XIAO <i>et al.</i> , 1998), antiangiogênica (TAN <i>et al.</i> , 2003), antioxidativa hepática (SU <i>et al.</i> , 2003) e efeitos na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer e insuficiência renal e hepática (BEHLING <i>et al.</i> , 2004).
Rutina	Antihiperlipidêmica (SANTOS <i>et al.</i> , 1999), anticonvulsivante em ratos (NASSIRI-ASL, SHARIATI-RAD, ZAMANSOLTANI, 2008), supressão da imunidade celular (MIDDLETON <i>et al.</i> , 2000), anticarcinogênica (MACHADO, 2005) e antiinflamatória (GUARDIA <i>et al.</i> , 2001).
Ácido clorogênico	Antioxidantes (SOARES, 2002; NARDINI <i>et al.</i> , 1995; BIXBY <i>et al.</i> , 2005; BONITA <i>et al.</i> , 2007;), antiinflamatório, antinocepcivo (DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2006) e hipotensor (WATANABE <i>et al.</i> , 2006; BONITA <i>et al.</i> , 2007; CHEN <i>et al.</i> , 2009).
Ácido caféico	Anti-inflamatória (CHIANG <i>et al.</i> , 1994) e antioxidante (MAURICIO, 2006).
Ácido gálico	Antioxidante (ROSSO, 2005), antitumoral (FIUZA <i>et al.</i> , 2004; GOMES <i>et al.</i> , 2003), antifúngica e antibacteriana (ROSSO, 2004; ROSSO, 2005 ^a) e antiviral (CHENG, 2002; SAVI, 2005).

A quantificação do teor de fenóis totais foi determinada a partir da interpolação da absorbância da amostra contra a curva de calibração construída a partir de padrões de ácido gálico, sendo expressos em g de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. A concentração do EHAF foi de 0,538 g de ácido gálico/gramas de extrato, sendo a equação da curva de calibração do ácido gálico $C = 0,0076x + 0,1354$, onde C é a concentração do ácido gálico, A é a absorbância a 760 nm e o coeficiente de correlação $R^2 = 0.9969$.

O teor de flavonóides totais foi determinado a partir da interpolação da absorbância da amostra contra a curva de calibração construída a partir de padrões de quercetina, sendo expressos em g de EQ (equivalentes de quercetina) por g de extrato. O conteúdo de flavonóides presentes na amostra do extrato hidroalcoólico de *Astronium fraxinifolium* ex.Schott. Spreng. foi de 0,034 g de quercetina/gramas de extrato, sendo a equação da curva de calibração de quercetina $C = 0,0349x + 0,2073$, onde C é a concentração de quercetina, A é a absorbância a 415 nm e o coeficiente de correlação $R^2 = 0.9884$.

4.2 Potencial antioxidante

A determinação da atividade antioxidante, quando avaliada através do método de captura do radical livre DPPH, demonstrou a necessidade de 0,010g de extrato para capturar grama(g) de DPPH, estando esse valor associado a quantidade de DPPH restante e o grau de descoloração. Quando estimada pelo método que avalia a capacidade de uma amostra reduzir o teor de ferro (FRAP), o EHAF utilizou 0,003g de extrato para reduzir grama(g) de sulfato ferroso. O método de DPPH corroborou com FRAP, demonstrando uma efetiva atividade antioxidante do EHAF, a partir de metodologias diferentes.

A significativa ação antioxidante do EHAF pode estar correlacionada à presença de taninos (MOURE *et al.*, 2001), e flavonóides (TRUEBA, SANCHEZ, 2001), demonstrando que o EHAF contém componentes antioxidantes que podem sequestrar ou inibir os radicais livres em condições *in vitro*, sugerindo a possibilidade de diferentes mecanismos responsáveis pela potencialidade.

Algumas espécies da mesma família e gênero que já tiveram seus potenciais comprovados como *Anarcadium Occidentalle* (CHAVES *et al.*, 2010), *Anacardium humile* St. Hill. (BARBOSA, 2008), *Astronium urudueva* (DANTAS, 2003), *Spondia purpurea* L. (SILVA *et al.*, 2012), *Spondias lutea* L.(CARVALHO *et al.*, 2011), *Mangifera indica* L. (BENITES VILCHEZ *et al.*, 2011), *Schinus terebinthifolius* Raddi (CERUKS *et al.*, 2007; BERNARDES *et al.*, 2011; PINHEIRO *et al.*, 2013) corroborando com os nossos resultados, sugerindo prováveis atividades relacionadas á família e ao gênero.

Estudos afirmam que o consumo de substâncias antioxidantes pode produzir efeitos protetores contra os danos causados pelos processos oxidativos celulares associados a várias patologias (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004), demonstrando grande eficiência no combate de múltiplos tipos de moléculas oxidantes envolvidas em danos no DNA e desenvolvimento de tumores (MARCHAND, 2002), algumas atividades biológicas já foram comprovadas em correlação ao potencial antioxidante como: antiulcerogênica (ALMEIDA, 2010).

4.3 Atividade antimicrobiana

De acordo com ensaio microbiológico realizado (CIM), o extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* (EHAF) apresentou uma CIM ≥ 1024 para todos os microrganismos testados. Este resultado demonstra que o EHAF, não apresentou atividade antifúngica e antibacteriana clinicamente relevante frente às cepas bacterianas: *Escherichia*

coli ATCC 1873, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4362 e fúngicas: *Candida albicans* ATCC 40006, *Candida krusei* ATCC 13803 e *Candida tropicalis* ATCC 6258(Tabela 10).

A utilização de diversas drogas no combate à disseminação de bactérias patogênicas, vem ocorrendo através de várias combinações entre antibióticos e produtos naturais de origem vegetal, com objetivo de melhorar a ação dos antibióticos, aumentando sua atividade ou modificando a resistência bacteriana (COUTINHO *et al.*, 2008), atuando de forma positiva (sinérgica), aumentando a atividade ou ao contrário, considerado um efeito negativo (antagônico), através da diminuição ou inativação da ação das drogas (CANTON, ONOFRE, 2010). O EHAF quando associado a antibióticos da classe dos aminoglicosídeos não apresentou resultados modulatórios relevantes frente às bactérias multirresistentes (Tabela 11).

O EHAF quando associado a antibióticos da classe dos betalactâmicos também não demonstrou resultados modulatórios relevantes, frente às bactérias multirresistentes (Tabela 12). Porém, a combinação do EHAF com imipenem + cilastatina sódica, demonstrou efeito antagônico frente à bactéria *E.coli*, sendo este efeito explicado por uma possível alteração na permeabilidade da membrana, através da ausência ou diminuição da expressão de genes que codificam os canais de porina, fazendo com que o antibiótico não se difunda normalmente, excluindo seu mecanismo de ação alvo, diminuindo a sua concentração e favorecendo a resistência da bactéria (NIKAIDO, 2003; QUALE *et al.*, 2006).

Em estudo realizado por DEGASPARI *et al.*, 2005, o extrato aquoso de *Schinus terebenthifolius* Raddi, pertencente a mesma família, quando avaliado sobre as cepas de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, não apresentou efeito inibitório aos microrganismos testados. Outras espécies pertencentes a esta família já tiveram suas atividades antimicrobianas testadas, dentre elas a *Anacardium occidentale* L., (caju) (OMOJASOLA, AWE, 2004), e *Mangifera indica* L.(manga) antimicrobiana (GUPTA *et al.*, 2010).

A atividade moduladora para fungos não demonstrou alterações, quando realizado a associação entre o EHAF e drogas antifúngicas contra as cepas de *Candida* (Tabela 13). A busca por substâncias moduladoras e antifúngicas pode efeito ser justificado, pelo mecanismo “switching”, evidenciado em leveduras do gênero *Candida*, que possibilita alterações na estrutura e nas propriedades da superfície celular das leveduras, além de favorecer modificações na sensibilidade desses fungos aos antifúngicos (RIBEIRO *et al.*, 2004).

4.4 Determinação da dose letal média (DL₅₀)

O valor da dose letal média é estabelecido com a finalidade de evitar o uso inadequado de superdoses que possam levar a morte ou debilidade ao animal. Considerando a inexistência de estudos anteriores com administração oral do EHAF, determinou-se a partir das concentrações testadas (24.4, 72.4, 219, 662 e 2000mg/Kg), que o extrato não foi capaz de provocar mortalidade nos animais, sendo a dose letal média maior que 2000mg/Kg (DL₅₀ > 2000mg/Kg), colaborando para estabelecer as doses testadas nos ensaios *in vivo*. Neste sentido, optou-se por usar doses menores que 10% da DL₅₀.

4.5 Atividade gastroprotetora frente aos modelos clássicos de lesão gástrica

4.5.1 Induzida por etanol absoluto

O etanol é considerado substância ulcerogênica clássica em relação à sua potência, sendo responsável pela diminuição dos fatores de proteção da mucosa, em decorrência da diminuição da produção de muco, secreção de bicarbonato, fluxo sanguíneo local, níveis de enzimas antioxidantes e prostaglandinas (BARROS *et al.*, 2008).

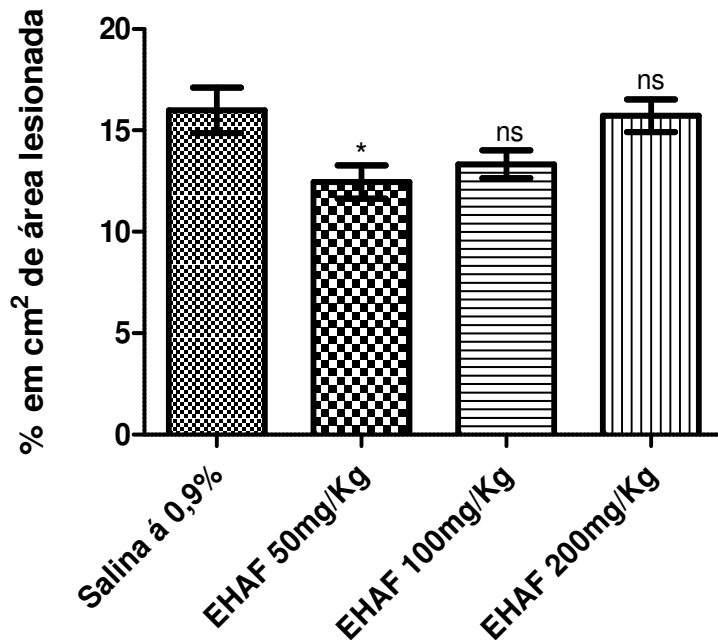
Os grupos EHAF (50, 100 e 200mg/Kg) obtiveram as seguintes percentagens de proteção respectivamente (22,07%; 16,63% e 1,68%) quando comparado ao grupo controle tratado apenas com salina. O EHAF na dose de 50mg/Kg apresentou efeito gastroprotetor significativo em relação ao grupo controle (Tabela 5/Figura 9).

Tabela 6: Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto expresso em média ± erro padrão e percentuais de inibição.

Grupo	% de área lesionada	% de inibição
Controle (salina 0,9%)	15,99 ± 1,11	-
50 mg/Kg	12,46 ± 0,81*	22,07%
100 mg/Kg	13,53 ± 0,69	16,63%
200 mg/Kg	15,72 ± 0,79	1,98%

Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) onde * p<0,05.

Figura 9: Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos com cada grupo contendo a média de 9 animais. Os mesmos foram tratados com salina (0,9%, 0,1mL/10g;v.o) e EHAF (50, 100, 200 mg/Kg, v.o). Após uma hora dos tratamentos, os animais receberam o agente indutor: etanol_{abs}(0,2 mL/v.o).Após uma hora os animais foram anestesiados e sacrificados e submetidos a análise no programa *ImageJ*. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo os cálculos, realizados a partir do Software estatístico *GraphPad Prism*, de acordo com os valores obtidos nos testes.



4.5.2 Induzida por etanol acidificado

O modelo de etanol acidificado produz lesões necróticas na mucosa gástrica, sendo o ácido clorídrico um fator que acelera e agrava esse processo (MIZUI, DOTEUCHI, 1983). As lesões induzidas por etanol não são inibidas por substâncias que interferem na secreção de ácido, porém podem ser inibidas por agentes que aumentam os fatores de defesa da mucosa, como, as prostaglandinas (ROBERT, 1979). O agente lesivo age através de mecanismo variados, incluindo desde a redução da secreção de muco-bicarbonato (MARHUENDA *et al.*, 1993) até danificações no fluxo sanguíneo (BIRDANE *et al.*, 2007).

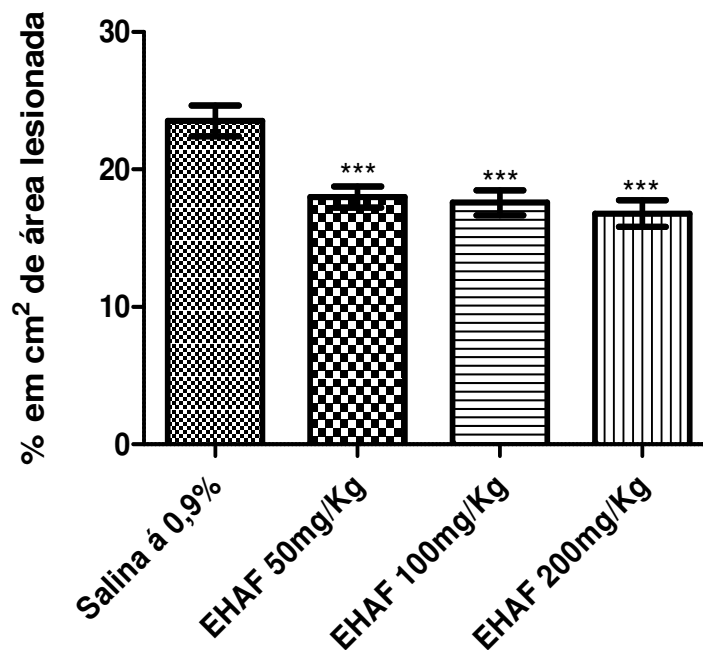
Os grupos (50, 100 e 200mg/Kg) obtiveram as seguintes percentagens de proteção respectivamente (23,54%; 25,28%; 28,68%) quando comparado ao grupo tratado apenas com salina. O EHAF nas diferentes doses de 50, 100 e 200 mg/Kg, reduziu significativamente quando comparado ao grupo salina(Tabela 6 /Figura 10).

Tabela 7: Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por etanol acidificado expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição.

Grupo	% de área lesionada	% de inibição
Controle (salina 0,9%)	23,53 \pm 1,10	-
50 mg/Kg	17,99 \pm 0,76 ***	23,54%
100 mg/Kg	17,58 \pm 0,91 ***	25,28%
200 mg/Kg	16,78 \pm 0,97 ***	28,68%

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) onde *** $p < 0,001$

Figura 10: Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos com cada grupo contendo a média de 9 animais. Os mesmos foram tratados com salina (0,9%, 0,1mL/10g; v.o) e EHAF (50, 100, 200 mg/Kg, v.o). Após uma hora dos tratamentos, os animais receberam o agente indutor: etanol acid.(0,2 mL/v.o).Após uma hora os animais foram anestesiados e sacrificados e submetidos a análise no programa *ImageJ*. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo os cálculos, realizados a partir do Software estatístico GraphPad Prism, de acordo com os valores obtidos nos testes.



4.5.2.1 Teste de barreira física

Os grupos (50 mg/Kg/v.o e 50 mg/Kg/v.i.p) obtiveram as seguintes percentagens de proteção respectivamente (23,47% e 29,56%), quando comparado ao grupo tratado apenas com salina. O EHAF nas diferentes vias de administração reduziu significativamente quando comparado ao grupo salina (Tabela 7 /Figura 11), porém não houve diferença significativa

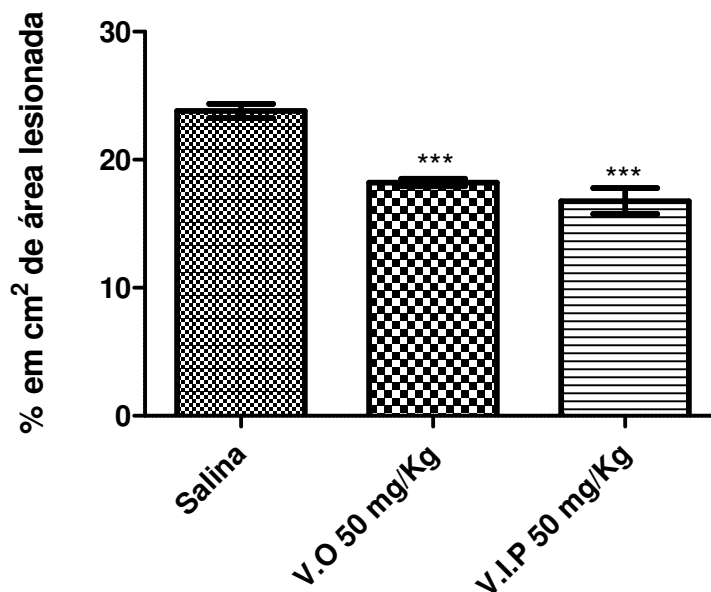
entre as vias de administração, confirmando que possivelmente não exista uma pressuposta proteção gástrica através da barreira física pelo EHAF, justificado possivelmente pela presença dos constituintes flavonóides e taninos nas cascas.

Tabela 8: Efeito do teste de barreira física, ao avaliar administração intraperitoneal em relação a oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição.

Grupo	% de área lesionada	% de inibição
Controle (salina 0,9%)	23,81 \pm 0,56	-
50 mg /Kg/v.o	18,22 \pm 0,28***	23,47%
50 mg /Kg/v.i.p	16,77 \pm 1,08***	29,56%

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) onde *** $p < 0,001$.

Figura 11: Efeito do teste de barreira, ao avaliar a administração intraperitoneal em relação a oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Os mesmos foram tratados com salina (0,9%, 0,1mL/10g; v.o) e EHAF (50 mg/Kg). Após uma hora dos tratamentos, os animais do grupo via oral receberam o agente indutor: etanol acid.(0,2 mL/v.o) e o grupo da via intraperitoneal após meia hora. Após uma hora da indução dos respectivos grupos, os animais foram anestesiados e sacrificados e submetidos a análise no programa *ImageJ*. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo os cálculos, realizados a partir do Software estatístico GraphPad Prism, de acordo com os valores obtidos nos testes.



4.5.3 Induzida por indometacina

A indometacina é um anti-inflamatório não esteroidal (AINEs) que causa diminuição da produção de prostaglandinas, responsáveis pela proteção da mucosa, através do aumento de muco e bicarbonato, da inibição da motilidade e secreção gástrica, manutenção do fluxo

sanguíneo, inibição da ativação de mastócitos e diminuição da aderência leucocitária (ATAY *et al.*, 2000).

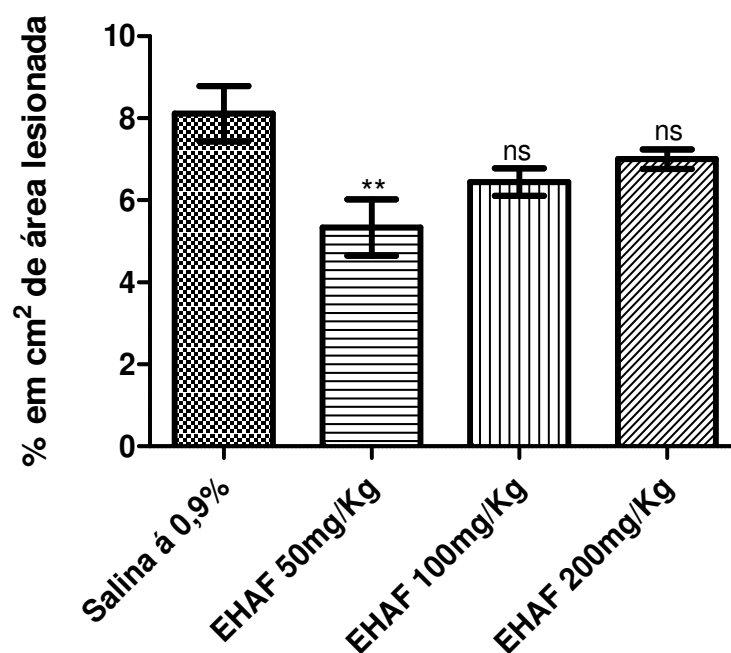
Os grupos (50, 100 e 200mg/Kg) obtiveram as seguintes percentagens de proteção respectivamente (34,27 %; 20,59 %; 13,68 %) quando comparado ao grupo tratado apenas com salina. O EHAF na dose de 50 mg/Kg, reduziu significativamente quando comparado ao grupo salina(Tabela 8/Figura 12).

Tabela 9: Efeito do EHAF no modelo de lesão gástrica induzida por indometacina expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição.

Grupo	Pontuação	% de inibição
Controle (salina 0,9%)	8,11 \pm 0,67	-
50 mg/Kg	5,33 \pm 0,68**	34,27 %
100 mg/Kg	6,44 \pm 0,33	20,59 %
200 mg/Kg	7,00 \pm 0,23	13,68 %

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) onde ** $p < 0,01$.

Figura 12 : Efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos com cada grupo contendo a média de 9 animais.Os mesmos foram pré-tratados com salina (0,9%, 0,1mLg/v.o) e EHAF (50, 100, 200 mg/Kg, 0,1mLg/v.o). Após uma hora dos tratamentos, os animais receberam o agente indutor: indometacina(10 mg/Kg, v.o).Após três horas da administração do indutor, os animais recebem um pós-tratamento. Após seis horas da administração do agente indutor os animais foram anestesiados e sacrificados e submetidos a análise no programa *ImageJ*. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo os cálculos, realizados a partir do Software estatístico GraphPad Prism, de acordo com os valores obtidos nos testes.



O efeito gastroprotetor do EHAF nos diferentes modelo pode ser explicado pela atividade dos constituintes presentes no EHAF: flavonóides (MOTA *et al.*, 2009), por favorecer o aumento do teor de prostaglandinas, causar a diminuição da secreção de histamina e a inibição da bomba de prótons e *H. pylori* (BORRELI, IZZO, 2000), aos taninos que agem protegendo a mucosa gástrica mucosa, aumentando sua resistência a agente necrosantes (KHENNOUF *et al.*, 2003) ou possivelmente pelo potencial antioxidante do EHAF, em virtude de algumas enzimas reguladoras da produção de radicais livres, serem fundamentais para proteção da mucosa gástrica, fazendo com que haja uma ação inibitória ou diminutiva do agente lesivo, não favorecendo o estresse oxidativo (LIRA *et al.*, 2009).

Vários estudos foram realizados a fim de buscar alternativas para os distúrbios gastrointestinais a partir de espécies medicinais, sendo evidenciada em algumas espécies da mesma família e gênero como *Anacardium occidentale* (LUIZ-FERREIRA, 2012), *Astronium urundueva* e *Schinus terebinthifolius* (CARLINI *et al.*, 2010).

No entanto essa lesão gástrica só irá ocorrer quando houver uma sobreposição dos fatores ofensivos em relação aos protetores (LAINE *et al.*, 2008), uma vez que, em condições fisiológicas normais, a mucosa gástrica apresenta um equilíbrio entre os fatores de agressão endógenos (HCl, bile, pepsina e enzimas pancreáticas), exógenos (álcool, AINE's, fumo,) ou biológicos (*Helicobacter pylori*), com os mecanismos de proteção (muco, bicarbonato, prostaglandinas, barreira epitelial, enzimas antioxidantes, fluxo sanguíneo e óxido nítrico) (POSSENTI, 2012).

4.6 Atividade cicatrizante

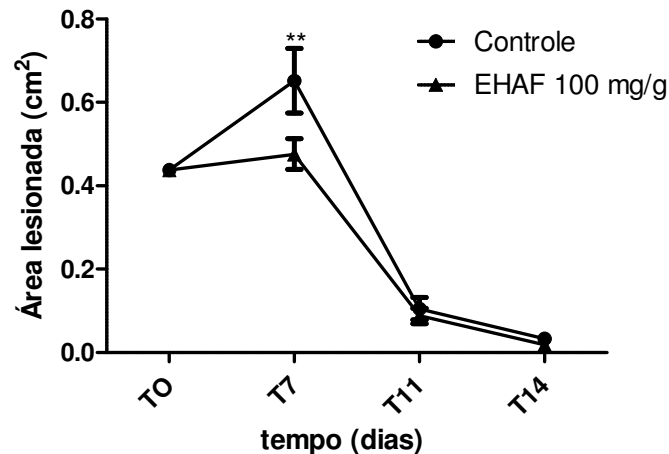
A atividade cicatrizante do gel do extrato de *Astronium fraxinifolium* na concentração de 100 mg/g demonstrou uma taxa de retração tecidual 24,85% superior ao do grupo controle, entre o 0° e 7° dia de tratamento, após o 11° dia não se observou diferenças entre os grupos tratados diante das análises, evidenciando que o extrato tem efeito no início do processo cicatricial (Tabela 9/Figura13).

Tabela 10: Efeito da atividade cicatrizante do EHAF em feridas cutâneas expresso em média \pm erro padrão e percentuais de inibição.

Grupo	% de área lesionada	% de cicatrização
Controle	0,3069 \pm 0,1449	-
EHAF 100mg/ g	0,2550 \pm 0,1176**	32,85%

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) onde ** p<0,01.

Figura 13 : Efeito da atividade cicatrizante do EHAF em relação ao grupo controle. Os animais foram tratados durante 14 dias, de acordo com seus respectivos grupos (controle e EHAF 100 mg/Kg), nos dias 0°, 7°, 11° e 14° foram emitidas imagens, que foram submetidas a análise no programa *ImageJ*. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo os cálculos, realizados a partir do Software estatístico GraphPad Prism, de acordo com os valores obtidos nos testes.



O efeito cicatrizante do EHAF pode estar associado a presença dos taninos, ao atuarem no auxílio do processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações, ao formar um complexo com proteínas/ polissacarídeos sobre o tecido lesionado, constituindo de uma camada protetora, que abaixo desta estará ocorrendo um processo natural de remodelação epitelial (HASLAM, 1998; AUDI *et al.*, 1999).

O processo de cicatrização é considerado um fator essencial na resposta protetora da lesão através da reparação tecidual (SULLINS, 2004). No entanto, ativa os mediadores inflamatórios, como citocinas e espécies reativas de oxigênio, que provocam efeitos prejudiciais aos tecidos (TSIROGIANNI *et al.*, 2006). Estudos relatam que existem evidências de ação das espécies reativas nos distúrbios microvasculares, danos teciduais e processos inflamatórios que antecede à cicatrização tecidual, portanto a atividade antioxidante do EHAF pode estar relacionada em mecanismos com a cicatrização inicial apresentada pelo mesmo (CUZZOCREA *et al.*, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2007).

Contudo é evidente de acordo com os resultados que o gel extrato não apresenta efeito retardante do processo cicatricial. Em estudo realizado por BRANCO-NETO *et al.*, (2006), em que o gel da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira), pertencente a mesma família, retarda a reepitelização das feridas da pele dos ratos. Em corroboração com os nossos resultados a pesquisada realizada por VITORINO FILHO, (2011), o extrato de *Anacardium occidentalle* na forma de gel tópico, atua significativamente no início do processo cicatricial e diminui os sinais clínicos próprios da fase inflamatória.

5. CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

- Em relação à constituição química, através da prospecção, o EHAF revelou a presença de compostos derivados do metabolismo secundário. Quantificou os seguintes compostos: ácido clorogênico, ácido gálico, ácido cafeíco, rutina e quercetina, através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Permitiu quantificar os teores de fenóis e flavonóides totais, confirmando a presença de classes de metabólitos encontradas na prospecção e CLAE;
- O EHAF demonstrou atividade antioxidante determinada através do método de captura do radical livre DPPH e redução de ferro (FRAP);
- O EHAF não demonstrou atividade antimicrobiana do ponto de vista clínico, e quando avaliado em relação à atividade moduladora frente a antibióticos e antifúngicos, não apresentou efeito significativo quando associados á bactérias e fungos.
- A dose letal média do EHAF pela via oral é maior que 2000 mg/Kg, demonstrando segurança nas doses testadas nos ensaios *in vivo*.
- O EHAF demonstrou atividade gastroprotetora, frente aos modelos de lesão gástrica;
- O EHAF apresentou uma atividade cicatrizante quando avaliado através de parâmetro morfométricos através do *Image J*;

De acordo com os resultados apresentados, vale a pena ressaltar que este é o primeiro relato sobre as atividades antioxidante, gastroprotetora e cicatrizante da espécie em estudo, sugerindo a continuidade dos ensaios *in vivo* e *in vitro*, no sentido de desvendar possíveis mecanismos de ação.

REFERÊNCIAS

AKTAR, M. S. & MUNIR, M. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Solanum nigrum*, *Brassica oleraceae* and *Ocimum basilicum* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 27, p.163-176, 1989.

AL-MAMARY M.; AL-MEERI, A.; AL-HABORI, M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of Honey. **Nutrition Research**, v.22, p.1041-1047,2002.

ALMEIDA, **Análise dos mecanismos antioxidantes na atividade antiulcerogênica de *Anacardium humile* St. Hil.(Anacardiaceae).** Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Campinas . Instituto de Biologia, Campinas, SP 2008

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 319-327, 2007.

ALVES, P. M.; QUEIROZ, L. M. G; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica in vitro de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42 ,p.22-224,2009.

ARVOUET-GRAND, B; VENNAT, A. POURRAT, P. Legret Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v.49, p. 462-468, 1994.

ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S.; DuBOIS, A. **Eicosanoids and the stomach.** Prostaglandins & Other Lipid Mediators, v. 61, p. 105-124, 2000.

AUDI, E. A.; TOLEDO, D. P.; PERES, P. G.; KIMURA, E; PEREIRA, W. K. V.; MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V.; ALVES-DO-PRADO, W.; CUMAN, R. K. N.; BERSANIAMADO, C. A.; "Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats." **Phytotherapy Research**, v. 13 p. 264-266. 1999.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p.27-51, 2005.

BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A; BRAZ-FILHO, R; New chalconoid dimers from *Myracrodruon urundueva*. **Natural Product Letters**, v.4,p.113-120,1994.

BARBOSA, D. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e análise preliminar da mutagenicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae).** 82 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008

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

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

BATTESTIN, V *et al.* Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.15, p. 63-72, 2004.

BEANES, S. R.; DANG, C.; SOO, C.; TING, K. The phases of cutaneous wound healing. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v.5, 2003.

BEHLING, E. B; SENDÃO, M. C; FRANCESCATO, H. D. C; ANTUNES, L. M. G; BIANCHI, M. L. P. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, p. 285-292, 2004.

BENITES VILCHEZ, J; LOPEZ VIVAR, J; KUSCH FUSCHLOCHER, Francisca *et al.* **Actividad antioxidante, antibacteriana y analgésica de extractos de Mangifera indica** L. BIOFARBO, , vol.18, p.10-19, 2010

BERNARDES, R. A; GLORIA, L. L; NUNES, R. C; PESSANHA, F. F; MUZITANO, F. M; OLIVEIRA, B. D; Quantificação dos Teores de Taninos e Fenóis Totais e Avaliação da Atividade Antioxidante dos Frutos de Aroeira. **VÉRTICES**, Campos dos Goytacazes/RJ, v. 13, p. 117-128. 2011

BERNAYS, E. A; DRIVER, G. C.; BILGENER, M. Herbivores and plant tannins. **Advana Ecology Research**, v. 19, p. 263-302, 1989.

BIANCHI, M. L. PLANTUNES, L. M. G.; Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.12, p.123-130, 1999.

BIRDANE, F. M; CEMEK, M; BIRDANE, Y.O; GÜLÇİN, I; BÜYÜKOKUROGL, M. E; Beneficial effects of Foeniculum vulgare on ethanol-induced acute gastric mucosal injury I rats. **World Journal Gastroenterol**, v.13, p.607-611, 2007.

BIWAS, K, ROY, S, BANERJEE, R. K, BANDYOPADHYAY, U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer – recente mechanistic update. **Molecular and Cellular Biochemistry**.v.253, p.329- 38,2003.

BIXBY, M; SPIELER, L; MENINI, T; GUGLIUCCI, A; ilex paraguariensis extracts are potent innibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sciences**, Vallejo, v.77, p. 345-358, 2005.

BLASER, M. J. Helicobacter pylori and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. **The Journal of Infectious Diseases**, v.161, p. 626-633, 1990.

BONITA, J. S; MANDARANO, M; SCHUTA, D; VINSON, J. Cofee and cardiovascular disease: In vitro, cellular, animal and human studies.**Pharmacological Research**, Scranton, v.55,p.187-198, 2007.

BOOTHE, D. M. Gastrointestinal Pharmacology. The Veterinary Clinics of North America. **Small Animal Practice**, v.29, p.343-76, 1999.

- BORGES, E. L. Evolução da cicatrização. In: BORGES, E.L.; SAAR, S. R. C; MAGALHÃES, M. B. B; GOMES, F. S. L; LIMA, V. L. A. N. **Feridas: como tratar**. 2 ed. Belo Horizonte: Coopmed. p.31-43.2008.
- BORRELLI, F; IZZO, A. A; The plant kingdom as a source o anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v.14, p.581-591, 2000.
- BOSCOLO, O. H; SENNA-VALLE, L. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia, sér. Bot.**,v.63, p.263-277, 2008.
- BRANCO-NETO *et al.*, Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos.**Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, 2006.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources metabolism and nutrition significance. **Nutritio Reviews**, New York, v. 56, p.317-333, 1998.
- BRENNA, O. V; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Chicago: v.49, p. 4841-4844, 2001.
- BRITO, R. M, SENNA-VALLE, L; Plantas medicinais utilizadas na comunidade caiçara da Praia do Sono, Paraty, Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.25, p. 363-372. 2011.
- CALIXTO, J. B; Braz. **Journal Medical Biology Research**, v.33, p.179-189, 2000.
- CANTON, M.; ONOFRE, S. B.; Interferencia de extratos da baccharia dracunculifolia DC., Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de farmacognosia**,v.20, p.348-354, 2010.
- CARLINI, E. A; DUARTE-ALMEIDA, J. M; RODRIGUES, E; TABACH, R; Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão) **Revista brasileira de farmacognosia**, v.20. Curitiba, 2010.
- CARMELLO-GUERREIRO, S. M; PAOLI, A. A. S. Estrutura do pericarpo e da semente de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae) com notas taxonômicas. **Revista brasileira Botânica**, São Paulo, v.23, p.87-96, 2000.
- CARVALHO, A. V; CAVALCANTE, M. A; SANTANA, C. L; ALVES, R. M. Características físicas, químicas e atividade antioxidante de frutos de matrizes de cajazeira no estado do Pará. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, p. 45-53, 2011.
- CHANWITHEESUK, A; TEERAWUTGULRAG, A; RAKARIYATHAM, N. Screening of antioxidant activity and antioxidante compounds of some edible plants of Thailand. **Food Chemistry**, v.92, p.491-497, 2005.
- CHAVES, H. A; CITO, L. G. M; LOPES, D. A. J; COSTA, A. D; OLIVEIRA, A. A. C; COSTA, F. A;JÚNIUR, B. M. E; Fenóis totais, antioxidante e constituintes químicos de

extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, p.106-112, Jan./Mar, 2010.

CHEN, H.; ZHANG, M.; XIE, B. Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea. **Food Chemistry**, Londres, v. 90, p. 17-21, 2005.

CHEN, Z; PENG, C; JIAO, R; WONG, Y. M; HUANG, Y. Anti-hypertensive Nutraceuticals and Functional Foods. **Journal Agricultural Food Chemical**, Hong Kong, v.57,p.4485-4499, 2009.

CHENG, H; LIN, C; LIN, T. Antiherpes simplex virus type 2 activity of casuarinin from the bark of *Terminalia arjuna* Linn. **Antiviral Research**, v. 55, p. 447-455, 2002.

CHIANG, C. H. *et al.* Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa*(Hook).Tryon.**Jour Enzym Inib**, v.8, p.61-71, 1994.

CHIBA, T; SATO, K; KUDARA, N; SHINOZAKI, H; IKEDA, K; SATO, K; ENDO, M; ORII, S; SUZUKI, K; Upper gastrointestinal disorders induced by non-steroidal antiinflammatory drugs.**Inflammopharmacology**, v.16, p.16-20, 2008.

CHRISTOPHER, E. **Kinetic aspects of epidermal healing**. In: Maibach H, Rovee D. eds. Epidermal wound healing. St Louis Mosby., 1972.

CLARK, R. A. F; LANIGAN, J. M, DELLAPELLE, P *et al.*, Fibronectin and fibri provide a provisional matrix for epidermal cell migration durin wound reepithelization, **Journal Invest Dermatology**, v.79, p.264,1982.

CLIFFORD, M. N, Chlorogenic acids and other cinnamates-nature,occurrence and dietary burden.**J.Sci. Food Agric.**, Surrey, v.79, p.362-372, 1999.

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

COELHO, L. G. V; MATTOS, A. A; FRANCISCONI, C. F. M; CASTRO, L. P; ANDRÉ, S. B.Eficácia do regime terapêutico empregando a associação de pantoprazol, claritromicina e amoxicilina, durante uma semana, na erradicação do *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera péptica. **Arquivos de gastroenterologia**. São Paulo. V. 41, p. 71-76, 2004.

CONCEIÇÃO, G. M; MIRANDA, F. A. A; SILVA, N. L. A. Triagem fitoquímica de plantas do cerrado da área de proteção ambiental municipal de Inhamun, Caxias, Ma. **Scientia Plena**, v.6, 2010.

CONCEIÇÃO, G. M; RUGGIERI, A. C; ARAUJO, M. F; CONCEIÇÃO, V T. T. M. M; CONCEIÇÃO, M. A. M. M. Plantas do cerrado: comercialização, uso e indicação terapêutica fornecida pelos raizeiros e vendedores, Teresina, Piauí. **Scientia Plena**, v.7,p.1-6, 2011.

CORREIA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Imprensa Nacional**, p. 267-269,1984.

- CORREIA, S. J; DAVID, J. P; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química nova**, v.29, p.1287-1300.2006.
- COUTINHO, H. D. M; COSTA, J. G. M; SIQUEIRA-JR, J.P. & LIMA, E.O. *In vitro* anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, p.670-675,2008.
- COUTINHO, H. D. M; COSTA, J. G. M; LIMA, E. O; FALCÃO-SILVA, V. S; SIQUEIRA-JÚNIOR. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, p. 328- 330, 2008.
- CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v.854, p.435-442, 1998.
- CUZZOCREA, S; THIEMERMANN, C; SALVEMINI, D. Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. **Chem Med Chem**. v.11(9):1147-62, 2004.
- DAFERERA, D. J; ZIOGAS, B. N. & POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v.22,p.39-44,2003.
- DANTAS, J. D. P; **Contribuição científica á medicina tradicional dos Tapebas do Ceará: *Astronium urundueva*(Allemão)Engl.** Fortaleza.Monografia de graduação do curso de química da Universidade Estadual do Ceará. 2003.
- DE BRUNEY, T *et al.* Biological evaluation of proanthocyanidins and related polyphenols. **Journal of Natural Products**, v.62, p.954-58,1999.
- DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Revista de Nutrição**, New York, v. 55, p. 396-398, 1997.
- DEGÁSPARI, C. H. *et al.* Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência agrotécnica**, v. 29, p. 617-622, 2005.
- DEGASPARI, C. H; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos.** Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, p.33-40, 2004.
- DEWANTO, X. WU, K. K. ADOM, R. H. LIU. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 3010–3014, 2002.
- DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar.** São Paulo: UNESP, 230p, 1996.
- DIAS, M; MONTEIRO, M. S. Antibióticos e resistência bacteriana, velhas questões, novos desafios. **Cadernos Otorrinolaringologia**, Clínica, investigação e inovação, 2010.
- DI-CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A. Flavonoids:old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs.**Life Science**, v.65, p.337-353,1999.
- DJAHANGUIRI, B.; SCAND, J. **Gastroenterology**, v. 4, p. 265-257, 1969.

- DOILLON, C. J; DUNN, M. G.; BENDER *et al.* Collagen fiber formatio in repair tissue. Development of strength and toughness **Collagen Rel Res**, v.5, p.481, 1985.
- DOS SANTOS, M. D; ALMEIDA, M.C; LOPES, N. P; DE SOUZA, G. E. P. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activies of the natural polyphenol chlorogenic acid. **Biological Pharmacology Bull**, Riberão Preto, v.29, p.2236-2240, 2006.
- DOUGHTY, D. B; SPARKS-DEFRIESE, B. Wound healing physiology. In: BRYANT, R.A.; NIX, D.P. **Acute and chronic wounds: current management concepts**. 3 ed. St. Louis: Mosby Elsevier, p.56-81, 2007.
- DRASARA, P; MORAVCOVA, J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. **Journal Chromatogr.**, v.812, p.3-21.2004.
- DUFRESNE, C. J; FARNWORTH, E. R. A reviem of latest research findings on health promotion properties of tea. **Journal of Nutricional Biochemistry**, v.12, p.404-421, 2001.
- EL-OMAR, E. M; OIEN, K; MURRAY, L. S; EL-NUJUMI, A; WIRZ, A; GILLEN, D; WILLIANS, C; FULLARTON, G; MCCOLL, K. E. L. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: Critical role of Helicobacter pylori. **Gastroenterology**, v. 118, p. 22-30, 2000.
- EVANS, W. C.; **Trease and Evans' Pharmacognosy**. WB Saunders Company: London, 14th ed., cap. 7.1996.
- FAMEI, L; ZHILI, X; XIUMEI, L; FENG, Q; XIAOQIN, L. Strategy and chromatographic technology of quality control for traditional chinese medicines. **Chin Journal Chromatogr.**, v.24, p.537-544, 2006.
- FARNSWORTH, N. R. Screening plants for new medicines. In: E.O. Wilson (ed) Biodiversity. Washington DC: **National Academies Press**, 521p, 1988.
- FAZIO, M.J, ZITELLI, J.A, GOSLEN, J.B. **Cicatrização de feridas**. In: Coleman III WP, Hanke CW, Alt TH, Asken S. **Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas**. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter. p.18-23, 2000.
- FEIJÓ, A. M; BUENO, M. E. N; CEOLIN, T; LINCK, C. L; SCHWARTZ, E; LANGE, C; MEINCKE, S. M. K; HECK, R. M; BARBIERI, R. L; HEIDEN, G. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.14, p.50-56, 2012.
- FERGUSON, L. R., HARRIS, P. J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v.8, p.17-25, 1999.
- FERNANDES JUNIOR, A.; LOPES, M. M. R.; COLOMBARI, V.; MONTEIRO, A. C. M.; VIEIRA, E. P. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 36, p. 294-297, 2006.

- FERREIRA, A. L: **Atividade Antiulcerogênica da espécie Anacardium humile St. Hil. (Anacardiaceae)**. Dissertação de mestrado – UNICAMP, Campinas-SP, 46-47. Discussão.2005.
- FILE JR, T. M. **Visão geral sobre a resistência bacteriana nos anos 90**. In: PLECHEST The cardiopulmonar and critical care.Jornal (edição em português)Suplemento.v.2, p.3-9, 2000.
- FIRUZI, O; MLADENKA, P PETRUCCI R; MARROSU, G; SASO, L. Hypochlorite scavenging activity of flavonoids. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, p. 801.-807, 2004.
- FLEMSTRÖM, G; ISENBERG, J. I. Gastroduodenal Mucosal Alkaline Secretion and Mucosal Protection. **News Physiology Science**, v. 16, p. 23-28, 2001.
- GERSHENZON, J; **Recent Advances in Phytochemistry**, v.18, p.273.1984.
- GLASHAN, R. Q. O que o enfermeiro deveria saber antes de administrar aminoglicosídeos ao cliente/paciente. **Acta Paulista de Enfermagem.**, São Paulo.v.9, 1996.
- GOBBO-NETO. L; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p.374-381, 2006.
- GOMES, C. A; CRUZ, T. G; ANDRADE, J. L; MILHAZES, N; BORGES, F; MARQUES, M. P. M. Anticancer Activity of Phenolic Acids of Natural or Synthetic Origin: A Structure-Activity Study. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 5395-5401, 2003.
- GOMES, V. T. L. **Estudo in vitro da ação antimicrobiana da *Myracrodruon urundeuva* Fr. ALL.** 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.
- GONZALEZ, F. G; PORTELA, T. Y; STIPP, E. J; DI DTASI, L. C; Antiulcerogenic and analgesic effects of Maytenus aquifolium,Soroceae bompladii and Zolernia ilicifolia, **Journal Ethnopharmacol.**, v.77, p.41-47, 2001.
- GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- GRINNEL, F; BILLINGHAM, R. E; BURGESS, L. Distribution o fibronectin during wound healing in vivo. **Journal Invest Dermatology**.v.76, 1981.
- GRUNDHOFER, P; NIEMETZ, R; SCHILLING, G; GROSS, G. G. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. **Phytochemistry**, v. 57; p. 915-927, 2001.
- GUARDIA, T; ROTELLI, A. E; JUAREZ, A. Q; PELZER, L. E. Anti-inflammatory properties os plant flavonoids. Effect of rutin, quercetin and hiperidin on adjuvant arthritis in rat. **II Pharmacology**, v. 56, p. 683-687.2001.

GÜLCIN, I; OKTAY, M; KIRECCI, E; KÜFREVIÖG, L. U.O. I . Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L) seed extracts. **Food Chemistry**, v.83, p.371-382,2003.

GUNDIDZA, M; IANNAcone, J. G; LAMAS, Z. Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn.**Central African Journal of Medicine**,v.39, p.231-234, 1993.

GUPTA, C; GARG, A. P; GUPTA. S; Antimicrobial and Phytochemical Studies of Fresh Ripe Pulp and Dried Unripe Pulp of *Mangifera indica* (AMCHUR). Middle-East. **Journal of Scientific Research**, v. 5, p. 75-80, 2010.

GUYTON, A. C; HALL, J. E. **Funções secretoras do trato alimentar** In: Tratado de fisiologia médica. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GYAMFI, M. A; YONAMINE, M; ANIYA, Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. **General Pharmacology**, v.32, p.661-667,1999.

HAGGERMAN, A. E; RIEDL, K. M; JONES, K. N; RITCHARD, N. T; HARTZFELD, P. W; RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tanins) as biological antioxidants.**Journal of agriculture and food chemistry**, v.46, p.1887-1882, 1998.

HAMILTON, W. J. **Tratado de anatomia humana**. 2^a ed.Rio de Janeiro: Interamericana.1982.

HARBONE, J. B; PALO, R. T; ROBBINS, C. T. Plant defenses against mammalian herbivore. C R C Press LLC, 192p.1991.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HASLAM, E. natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v.59, p.205-215, 1999.

HIRUMA-LIMA, A. C; SEVERI, J. A; LIMA, Z. P; KUSHIMA, H; BRITO, A. R. M. S; SANTOS, L. P; VILEGAS, W; Polyphenols with Antiulcerogenic Action from Aqueous Decoction of Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) **Molecules**, v.14,p.1098-1110, 2009.

HO, K. Y., TSAI, C. C., HUANG, H. S., CHEN, C. P, LIN, T. C, LIN, C. C Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**.v. 53, p.187-191,2001.

HORN, J. The Proton-Pump Inhibitors: Similarities and Differences. **Clinical Therapeutics**, Mar; v.22, p.266-80, 2000.

HOWEL, J. P; MAQUART, F. X. La cicatrization. **La Reserch**, v.22, p.1174-1181, 1991.

JAVADPOUR, M. M; LO, W. C; BISHOP, S. M; ALBERTY, J. B; COWELL, S. M; BECKER, C. L; MCLAUGHLIN, M. L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.39, p.3107-3113, 1996.

JENKS, P. J; KUSTERS, J.G. Pathogenesis and virulence of *Helicobacter pylori*. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v.16, p.11-8, 2000.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia: Básica e Clínica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

KERRY, N. L; ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. **Atherosclerosis, Limerick**, v.135, p.93-102, 1997.

KHENNOUF, S *et al.* Effect of Tannins from *Quercus suber* and *Quercu coccifera* Leaves on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1469-1473, 2003.

KIM, H. W; KIM, G. H; CHEONG, J. Y; YANG, U. S; PARK, S. K; SONG, C. S; KANG, D. H; SONG, G. A. H. *pylori* eradication: a randomized prospective study of triple therapy with or without ecabet sodium. **World J Gastroenterol**, v.14, p.908-12, 2008.

KIM, P. K. M; ZAMORA, R; PETROSKO, P; BILLIAR, T. R. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis. **Int. Immunopharmacol.**, v.1, n.8, p.1421-1441, 2001.

KONTUREK, S. J; KONTUREK, P.C; PAWLIK, T; SLIWOWSKI, Z; OCHMA, S. K. I.W; HAHN, E. G. Duodenal mucosal protection by bicarbonate secretion and its mechanisms. **J Physiol Pharmacol.**, Jul, v.55 Suppl p.5-17.2004.

KURTZMANN, C. P; FELL, J. W. **The Yeast: a taxonomic study**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LAGHARI, A. H; MEMON, S; NELOFAR, A; KHAN, K. M; YASMIN, A; Determinação de ácidos fenólicos livres e atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de frutos e folhas de *Chenopodium album*. **Food Chemistry**, v.126, p.1850-1855,2011.

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

LAPA, A. J; SOUCCAR, C. S; LIMA-LANDMAN, M. T. R; CASTRO, M. S. A; LIMA, T. C. M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais. Porto Alegre: Metrópole, 2008.

LEITE, E. J. State of knowledge on *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae) for genetic conservation in Brazil. **Embrapa Genetic Resources and Biotechnology**. Brasília DF, Brazil, 2002.

LI, J; CHEN, J; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinical Dermatology**, v.25, p.9-18, 2007.

LIMA, Z. P; HIRUMA-LIMA, C. A; BRITO, A. R. M. S. Ação antiulcerogênica e tóxica das flores da *Mangifera indica* (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Medicina**, v. 7, p. 14-21, 2002.

LIPTAK, J. M; HUNT, G. B; BARRS, V. R. D; FOSTER, S. F; TISDALL, P. L. C; O'BRIEN, C. R. Gastroduodenal ulceration in cats: eight cases and a review of the literature. **Journal of feline Medicine and Surgery**, v.4, p.27-42, 2002.

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

LIU, M; LI, Y; CHOU, G; CHENG, X; ZHANG, M; WANG, Z. Extraction and ultra-performance liquid chromatography of hydrophilic and lipophilic bioactive components in a Chinese herb Radix Salviae Miltiorrhizae. **Journal of Chromatography**, v.1157: p.51-55, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras – Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum. Nova Odessa – 2002.

LUIZ-FERREIRA, ACOLA, M; BARBASTEFANO, V; HIRUMA-LIMA, C. A; SANTOS, L. C; VILEGAS, W; BRITO, A. R. M. S. Antiulcerogenic activity of the aqueous fraction of *Anacardium humile* St. Hil (Anacardiaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, p. 5337-5343, 2012.

MACHADO, H., **Atividade dos flavonóides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Erlich “in vivo”**. 2006. 125f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.

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

MALYSHENKO, O. S; BELOBORODOV, E. L; VAVILOV, A. M; LOMIVOROTOVA, G. V; KASPERSKATA, V. I. Impact of age type of behavior on the course of ulcer disease. **Ter Arkh**, v.77, p.28-31, 2005.

MANACH, C; SCALBERT, A; MORANG, C; RÉMÉSY, C; JIMÉNEZ, L. Polyphenols food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79,p.727-747, 2004.

MANDELBAUM, S. H; DI SANTIS, E. P; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, p.393-408, 2003.

MARCHAND, L. L. Cancer preventive effects of flavonóides – a review. **Biomed Pharmacother**. v. 56, p. 296-301, 2002.

MARHUENDA, E; MARTIN, M. J; ALARCON, DE LA LASTRA C; Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. **Phytotherapy Research**, v.7, p. 13-16, 1993.

MARRONI, N. P; MARRONI, C. A. **Estresse Oxidativo e Antioxidante**. Porto Alegre: Editora Ulbra, p. 33-48, 2002.

- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Editora UFC, 1997.
- MAURICIO, A. Q. **Estudo da atividade antioxidante do ácido cafeico e da PIH: um polifenol natural e um quelante sintético**. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, 2006.
- McQUAID, K. R. Drugs used in treatment of gastrointestinal diseases. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e clínica**. 9ed. McGraHill, p.1034-1063, 2004.
- MENEZES, A. M. S; RAO, V. S. Antiulcerogenic activity of *Astronium urundueva*. **Fitoterapia**, v.57,p.55-57,1986.
- MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, p. 405-411, 2005.
- MILANI, S; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Research and Technique**, v. 53, p. 360-371, 2001.
- MIZUI, T; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Jpn Pharmacol**, v.33, p.939-945,1983.
- MIZUI, T; SHIMONO, N; DOTEUCHI, M. **Japanese Journal Pharmacology**, v. 44, p.43-50, 1987.
- MONTANARI, R. M., **Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais de espécies de Anacardiaceae, Siparunaceae e Verbenaceae**. Tese: Pós Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa. Minas Geras, 2010.
- MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.
- MOREIRA, E. A. M.; SHAMI, N. J. I. E. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, p.227-236, 2004.
- MORI, F. A; VITAL, B. R; PIMENTA, A. S; FERRAZ, V. P; Estudo de taninos da casca de *Eucalyptus urophylla* S.T Blake para a produção de adesivos. **Revista árvore**, v.25, p.257-263, 2001.
- MOTA, K. L. S; DIAS, G. E. N; PINTO, M. E. F; LUIZ-FERREIRA, A; SOUZA-BRITO, A. R. A; HIRUMA-LIMA, C. A; BARBOSA-FILHO, A. R; BATISTA, L. M; Flavonoids with Gastroprotective Activity. **Molecules**, v. 14, p.979-1012, 2009.
- MOURE A. *et al.* Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v.72, p.145-171, 2001.
- MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed and Technology**, v. 91, p. 3-20, 2001.
- MULLER, F. L. *et al.* TRENDS in oxidative aging theories. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, p. 477-503, 2007.

NARDINI, M; D'AQUINO, M; TOMASSI, G; GENTIL, V; DI FELICE, M; SCACCINI, C. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives. **Free Radical Biology & medicine, Viterbo**, v.19, p.541-552, 1995.

NASSIRI-ALS, M; SHARIATI-RAD, S; ZAMANSOLTAN, F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 32, p. 989-993, 2008.

NATALE, G; LAZZERI, G; LUBRANO V; COLUCCI, R; VASSALE, C; FORNAI, M *et al.* Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds. **Toxicol Appl Pharmacol.**, Feb; v.195, p.62-72, 2004.

NAVARRO, V. *et al.* Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v.53, n.3, p.143-7, 1996.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standard**, 6th ed. NCCLS document M7-A6. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008.

NIKAIDO, H. Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.67, p.593 – 656, 2003.

NUCCI, M; COLOMBO, A. L. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals, **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 58, p. 77-82, 2007.

OLIVEIRA, F.C.S.1; BARROS, R.F.M.2; MOITA NETO, J.M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, p.282-301, 2010.

OMOJASOLA, P. F; AWE, S; The antibacterial activity of the leaf extracts of *Anacardium occidentale* and *Gossypium hirsutum* against some selected microorganisms. **Bio Science Research**, v.16, 2004.

ORTONNE, J. P; CLÉVY, J. P. Physiologie de la cicatrisation cutanée. **Ver Prat**, v.44, p. 1733-4, 1994.

PARK, J. S; CHOL, M. A; KIM, B. S; HAN, I. S; KURATA, T; YU, R. Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. **Life Science**, v.67, p.3087-3093, 2000.

PARKY, D. C. Great moments in pharmacy. Detroit. **Northwood Institute Press**, 238p.1996.

PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PENNA, C; MARINO, S; VIVOT, E; CRUAÑES, M. C; MUÑOZ, J. D; CRUAÑES, J; FERRARO, G; GUTKIND, G; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal Ethnopharmacology**, v. 77, p.37-40, 2001.

PERINI, R. F; MA, L; WALLACE, J. L. Mucosal Repair and COX-2 Inhibition. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 2207-11, 2003.

PETERSON, J; DWYER J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v.18, p.1995-2018, 1998

PINTO, C. A; JUNIUR, V. F. V. Plantas Mediciniais: cura segura?. **Química Nova**. v.28, p. 519-528, 2005.

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

PORTILLO, A; VILA, R; FREIXA, B; ADZET, T; CANIGUERAL, S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine, **Journal of Ethnopharmacology**,v.76, p.93-98, 2001.

POSSENTI, A. *et al.* Efeito de fermentado (utilizado como alimento funcional) sobre: a citoproteção gástrica, atividade anti-secretória e a motilidade intestinal em animais. **International Journal of Nutrology**, v.5, p. 35-41, 2012.

PULIDO, R; BRAVO, L; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

QUALE, J; BRATU, S; GUPTA, J; LANDMAN, D. Interplay of Efflux System, ampC, and oprD Expression in Carbapenem Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.50, p.1633 – 1641, 2006.

QUEIROZ, C. R. A. A; MORAIS, S. A. L; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*) **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.26, p.485-492, 2002.

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

RANG, H. P; DALE, M. M; RITTER, J. M; MOORE, P. K. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora. Tradução da 5 ed. americana, 2004.

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

REPETTO, M. G. & LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, p.523-534, 2002.

RIBEIRO, E. L; GUIMARÃES, R. I; INÁCIO, M. C. C., FERREIRA, W. M; CARDOSO, C. G; DIAS, S. M. S; NAVES, P. L. F. Aspectos das Leveduras de *Candida* Vinculadas as Infecções Nosocomiais **News Lab**, edição 64 –p.106-128, 2004.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J. E.; LANCASTER, C.; HAUCHAR, A. J. Cytoprotection by prostaglandins in rats: Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterology**, v.77, p.433-443, 1979.

ROSSO, R.; **Avaliação das propriedades antioxidantes de derivados de esteres de ácido gálico**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, 2005.

ROSSO, R.; REGINATTO, F. H.; BARELLI, C.; LÜCKEMEYER, D. D.; KAPPEL, V.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. **Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana de compostos fenólicos sintéticos**. In: XXXVIII Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Divulgação digital, Florianópolis, Brasil, 2004.

RUFINO, M. S. M; ALVES, R. E; BRITO, S. E; MORAIS, M, S; SAMPAIO, C. G; PÉREZ-JIMÉNEZ, J; SAURA-CALIXTO, D. F. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre**. Embrapa. Julho, 2007.

RUFINO, M. S. M; ALVES, R. E; BRITO, S. E; MORAIS, M, S; SAMPAIO, C. G; PÉREZ-JIMÉNEZ, J; SAURA-CALIXTO, D. F. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela método de redução de ferro (FRAP)**. Embrapa. Dezembro, 2006 .

RUSHTON, I. Understanding the role of proteases and pH in wound healing. **Nursing Standart**, v.21, p.68-74, 2007.

SAIRAM, K. *et al.* Antiulceratogenic effect of methanolic extract of *Embllica officinalis*: na experimental study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p.1-9, 2002.

SAKAMOTO, H. T; GOBBO-NETO, L; CAVALHEIRO, A. J; LOPES. N. P; LOPES, J. L. C. **Journal of the Brazilian Chemical Society** .v.16, 1396.2005.

SALISBURY, F. B; ROSS, C. W. **Plant Physiology**, 4th ed., Wadsworth Publishing Co.: Belmont, 1991.

SANTIN, D.A. *Astronium nelson-rosae* - nova espécie de Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Botânica** v.14, p.103-106, 1991.

SANTOS, I. R.,. IN: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2010.

SANTOS, K. F. R.; OLIVEIRA, T. T; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; OLIVEIRA, M. G. A., Hypolipidaemic effects of neringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacology Research**, v. 40, p. 493-496, 1999.

SANTOS, S. C; MELLO, J. C. P; Taninos. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia** da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2010.

SAUL, C; TEIXEIRA, C, R; PEREIRA-LIMA, J. C; TORRESINI, R. J. S. Redução da prevalência de úlcera duodenal: um estudo brasileiro (análise retrospectiva na última década: 1996-2005). **Arq. Gastroenterol.**, v.44, 2007.

SAVI, L. A; LEAL, P. C; VIEIRA, T. O; ROSSO, R; NUNES, R. J; YUNES, R. A; CRECZYNSKI-PASA, T. B; BARARDI, C. R. M; SIMOES, C. M. O. Evaluation of anti-herpetic and antioxidant activities, and cytotoxic and genotoxic effects on synthetic alkyl-esters of gallic acid. **Arzneimittel Forschung Drug Research**, v. 55, p. 66-75, 2005.

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

SCHAECHTER, M; ENGLEBERG, N. C; EISENSTEIN, B. I; MEDOFF, G; **Microbiologia**. 3ª edição. Guanabara Koogan. p.120-127. 642p. 2002.

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

SCHUBERT, M. L; SHAMBUREK, R. D. Control of acid secretion. **Gastroenterology Clinics of America**, v. 19, p. 1-25, 1990.

SIEGMUND, S. Animal models in gastrointestinal alcohol research-a short appraisal of the different models and their results. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, p. 519-542, 2003.

SILVA, Q. J.; MOREIRA, A. C. C. G.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de ciriguelas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, p. 73-80, 2012.

SILVEIRA, P. C; STRECK EL, P. R. A. Evaluation of mitochondrial respiratory chain activity in wound healing by low-level laser therapy. **J Photochem. Photobio B**. v.86, p:279-82, 2007.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; GOSSMANN, G; MELLO, J. C; MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**, 6 ed. Porto Alegre: Ed-UFSC, 2010..

SINGLETON, V. L. R; ORTHOFER, R; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin–Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v.299 , p. 152–178, 1999.

SOARES, E. S. Ácidos fenólicos como antioxidantes **Revista Nutrição**, Campinas, v.15, p.71-81, 2002.

SOLL, H; WOLLIN, A. Histamine and cyclic of gastrointestinal AMP in isolated canine parietal cells.**Am.J.Physiol.Enocrinol.Metab.**,v.237, p.444-450, 1979.

SOUSA, M. P; MATOS, M. E. O; MATOS, F. J. A; MACHADO, M. I. L; CRAVEIRO, A.A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: UFC/Laboratório de Produtos Naturais, Edições. 416p., 1991.

SOUSA, C. M. M; ROCHA, E; SILVA, H; VIEIRA-JR, G. M; AYRES, M. C. C; COSTA, L. S. C; ARAÚJO, D. S; CAVALCANTE, L. C. D; BARROS, E. D. S; PAULO BREITNER,

M; ARAÚJO, E. D. S; BRANDÃO, M. S; CHAVES, M. H; Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p.351-355, 2007.

SOUZA, O. C. *et al.* Antimicrobial resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in feces of patients infected with human immunodeficiency vírus. **Caderno Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.15, p. 392 -379, 2007.

SU, J. F. *et al.* Protection againts hepatic ischemiareperfusion injury in rats by oral pretreatment with quercetin. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 16, p. 1-8, 2003.

SULLINS K, E. Lasers and wound healing: practical uses. **Clinical Techniques in Equine Practice**.v.3, p.182-7,2004.

SZABO, C. Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock. **New Horizons**, v.3, p.2–32,1995.

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

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

TAN, W. *et al.* Quercetin, a dietary-derived flavonoid, possesses antiangiogenic potential. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 459, p. 255-262, 2003.

TEIXEIRA, P. C. **Do Herbalismo tribal aos remédios florais do Dr.Bach.** São José do Rio Preto; São José.33p,1994.

TERKELTAUB, R. A, GINSBERG, M. H. **Platelets and response to injury.** In: Clark RAF, Henson PM, editors: The molecular and cellular biology of wound repair. New York: Plenum Press,1998.

TÉTREAULT, M. P; CHAILLER, P; BEAULIEU, J. F; RIVARD, N; MÉNARD, D; Epidermal growth factor receptor-dependent PI3K-activation promotes restitution of wounded human gastric epithelial monolayers. **Journal of Cellular Physiology**, v.214, p.545-57, 2008.

THAIPONG, K; BOONPRAKOB, U; CROSBY, K; CISNEROSZEVALLOS, L; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.669-675, 2006.

TRUEBA, G. P; SANCHEZ, G. M. Los flavonoidescomo antioxidants naturais.**Acta farm.Bonaerense**,v.20, p.297-306, 2001.

TSIROGIANNI, A. K; MOUTSOPOULOS, N. M; MOUTSOPOULOS, H. M. Wound healing: immunological aspects. *Injury*. v.37,S5-12, 2007.

TUROLLA, M. S; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** v.42, p.189-306,2006.

TWEDT, D. C; MAGNE, M. L. Moléstia do estômago. In: ETTINGER, J. S. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, 3.ed. São Paulo: Manole, p.1353-1386, 1992.

VANDERLINE, F. A; LANDIM, H. F; COSTA, A. E; GALDINO, P. M; MACIEL, M. A. M; ANJOS, G. C; MALVAR, D. C; CORTES, S. W; ROCHA, F. F. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, v.45, 2009.

VARANDA, E. A. Atividade Mutagênica de Plantas Mediciniais. **Revista Ciência Farmaceutica Básica Aplicada**, v.27, p.1-7, 2006.

VASCONCELOS, S. M. L; SILVA, A. M; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Nutrire**, v. 31, p. 95-118, 2006.

VEIGA-JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.308-313, 2008.

VERMELHO, A. B; PEREIRA, F. P; COELHO, R. R. R; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de Microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 239 p.2006.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MOURA, L. C.; SOUZA-FILHO, M. V. P.; MATOS, F. J. A.; RIBEIRO, R. A.; Analgesic and antiinflammatory effects of the tannin fraction and *Myracrodruon urundueva* Fr.All. **Phytotherapy Research**.v.11,p.118-122,1997.

VIANA, G. S. B; BANDEIRA, M. M. A; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon* Allemão.**Phytomedicine**, v.10,p.189-195,2003.

VIANA, G. S. B; BANDEIRA, M. M. A; RAO, V. S; **Aroeira do sertão (*Myracrodruon urundueva* Fr.All):estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**. 2 ed.revisão e ampliada, Fortaleza, Edições UFC.1995.

VOGL, O; MITCHELL, J. D. **Pure and Applied Chemistry**, v.33, pág. 1791-1803 .1996.

WALLACE, J. L; DEL SOLDATO, P; CIRINO, G; MUSCARÀ, M. N. Nitric oxide-releasing NSAIDs: GI-safe antithrombotics. **Drugs**..v.2, p.321-326, 1999.

WALLACE, J. L; DEVCHAND, P. R. Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defense.**British Journal of Pharmacology** v.145, p.275-282,2005.

WALLACE, J. L; GRANGER, D.N. **The celular and molecular basis of gastric mucosal defense**. FASEB J. May;v.10, p.731-40,1996.

WANNMACHER, L. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida?** , v.1, n.4,2004.

WATERMAN, P. G; MOLE, S. **Em Insect-plant interactions**; Bernays, E. A., ed.; 1st ed., CRS Press: Boca Raton, v. 1, cap. 4, 1989.

XIAO, D; ZHU, S.P; GU, Z. L. Quercetin induced apoptosis in human leukemia HL-60 cell. **Acta. Pharmacol. Sin.**, v. 18, p. 280-283, 1998..

YILDIRIM, A; MAVI, A; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.

YOSHIDA, M. *et al.* The effect of quercetin of cell cycle progression and growth of human gastric cancer cells. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v. 260, p. 10-13, 1990.

ZEVERING, Y; JACOB, L; MEYER, T. F. Naturally acquired human immune response against *Helicobacter pylori* and implications for vaccine development. **Gut.**, v. 45, p. 465-474, 1999.

ZINKIEVICH, J. M. S; GEORGE, S; JHA, J; NANDI, E. R.A. LEVINE. "Gastric acid is the key modulator in the pathogenesis of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced ulceration in rats." **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.37, p.654-661, 2010.

ANEXOS

Anexo A: Identificação e depósito da exsicata da espécie de *Astronium fraxinifolium* Schott. ex.Spreng. No Herbário Dárdano de Andrade- Lima sob registro de número 6760.



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

NÚMERO DE HERBÁRIO

Remetente:	Nº 29.2011
HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA) Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br) Universidade Regional do Cariri - URCA Departamento de Ciências Biológicas Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161 Campos do Pimenta - Crato - CE CEP: 63.105-100	
Destinatário:	Data: 13.12.2011
LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA E QUÍMICA MOLECULAR - LFQM Contato: Anita Oliveira Brito Pereira (anitaoliveira24@yahoo.com.br) Universidade Regional do Cariri - URCA Departamento de Ciências Biológicas	
Nº Amostras: 01	Tipo de Operação: Número de Herbário

Número de Herbário						
	Nº HCDAL	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL	ASSINATURA
01	6760	Gonçalavo	Anacardiaceae	<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex Spreng.	Carlito Santos	

Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

Anexo B: Autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) para coleta da espécie de *Astronium fraxinifolium* Schott.ex.Spreng.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 32811-1	Data da Emissão: 30/01/2012 09:05
------------------------	--

Dados do titular

Nome: ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA	CPF: 020.129.213-02
Título do Projeto: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO HIDROÁLCOOLICO DAS CASCAS <i>Astronium fraxinifolium</i> Schott ex.Spreng.	
Nome da Instituição : Universidade Regional do Cariri	CNPJ: 06.740.864/0001-26

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Pesquisa científica	01/2012	03/2013
De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.			

Anexo C: Tabelas dos ensaios microbiológicos (Concentração Inibitória Mínima e Efeito Modulador do EHAF frente a bactérias e fungos)

Tabela 10: Concentração Inibitória Mínima do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng.

Microorganismos	Concentração Inibitória Mínima (CIM)
Bactérias	≥ 1024
Fungos	≥ 1024

Tabela 11: Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng em combinação com aminoglicosídeos.

Antibióticos	Modulação dos aminoglicosídeos por EHAF					
	<i>Staphylococcus aureus</i> 358		<i>Pseudomonas</i> <i>aeuroginosa</i> 03		<i>Escherichia coli</i> 27	
	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF
Amicacina	39,06	39,06	312,5	312,5	78,125	78,125
Gentamicina	9,76	9,76	39,06	39,06	9,76	9,76

*EHAF: extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium*

Tabela 12: Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng em combinação com betalactâmicos.

Antibióticos	Modulação dos betalactâmicos por EHAF					
	<i>S.aureus</i> 358		<i>P.aeuroginosa</i> 03		<i>E.coli</i> 27	
	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF
Benzilpenicilina	2500	2500	2500	2500	≥5000	≥5000
Inipenem + cilastatina sódica	4,88	4,88	2500	2500	156,25	≥5000
Cefalotina	19,53	19,53	625	625	156,25	156,25
Oxalaxina	2500	2500	≥5000	≥5000	≥5000	≥5000
Ampicilina	≥5000	≥5000	≥5000	≥5000	≥5000	≥5000

*EHAF: extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium*

Tabela 13: Atividade moduladora do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng em combinação com antifúngicos.

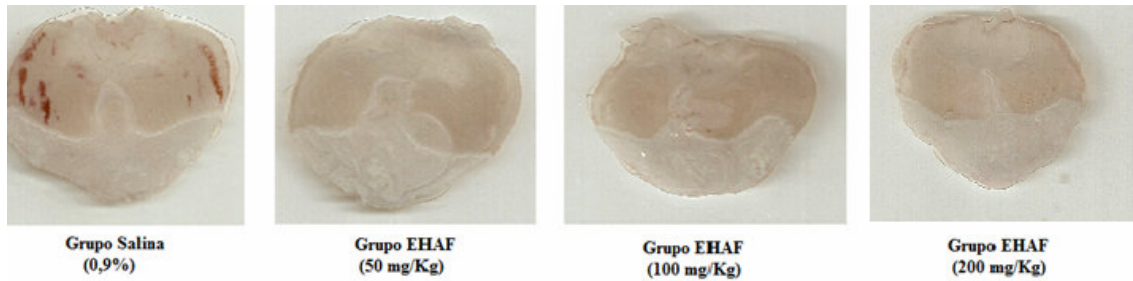
Drogas	Modulação dos antifúngicos por EHAF					
	<i>C.albicans</i> ATCC-40006		<i>C.krusei</i> ATCC-13803		<i>C.tropicalis</i> ATCC-6258	
	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF	Controle	+ EHAF
Anfotericina B	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Nistatina	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Menbendazol	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024
Benzoilmetronidazol	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024	≥1024

*EHAF: extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium*

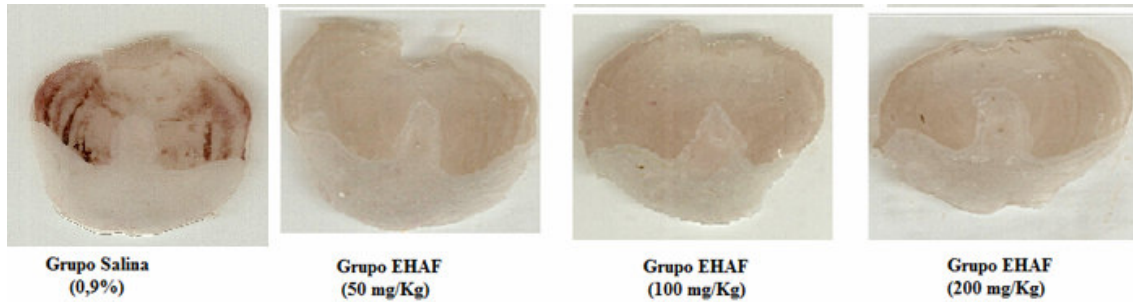
Anexo D. Imagens dos ensaios *in vivo*

Figura 14: Imagens do efeito da administração oral do EHAF sobre as lesões gástricas induzidas por diferentes agentes indutores.

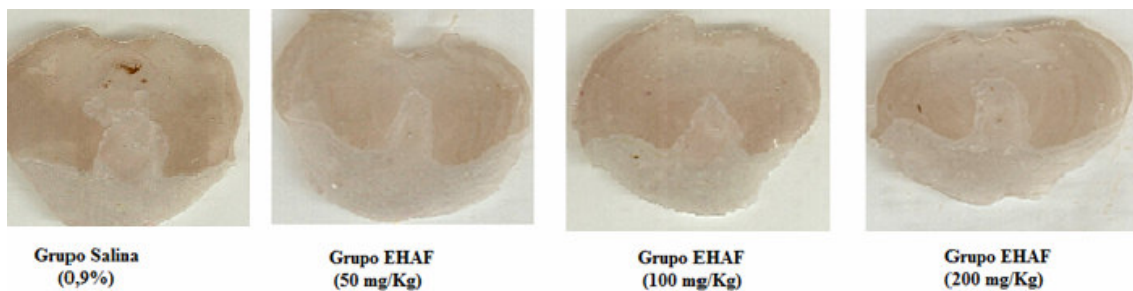
Etanol absoluto



Etanol acidificado



Indometacina



Barreira física

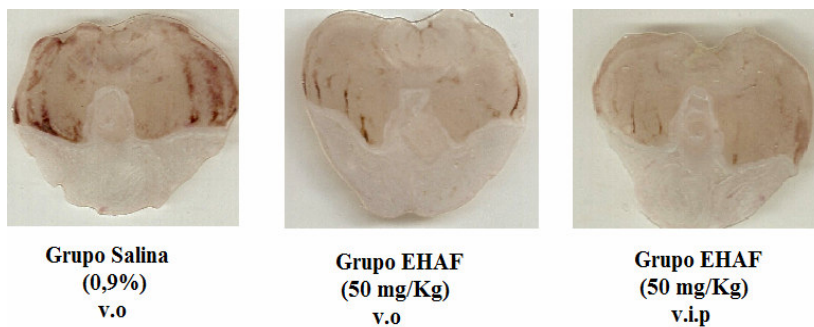


Figura 15: Imagens do efeito da atividade cicatrizante do EHAF e do grupo controle, nos 0°, 7° e 14°.

Gel de natrosol



Controle
Gel de natrosol
Dia 0°



Controle
Gel de natrosol
Dia 7°



Controle
Gel de natrosol
Dia 11°



Controle
Gel de natrosol
Dia 14°

EHAF (100 mg/g)



EHAF
100 mg/g
Dia 0°



EHAF
100 mg/g
Dia 7°



EHAF
100 mg/g
Dia 11°



EHAF
100 mg/g
Dia 14°

PRODUÇÃO ACADÊMICA

O projeto de mestrado possibilitou a formação multidisciplinar com estudos nas seguintes áreas: química, farmacologia e microbiologia dos produtos naturais, bem como o desenvolvimento e participação em atividades complementares para aprofundar e enriquecer o conhecimento e a formação do profissional;

Trabalhos apresentados na forma de painel em eventos científicos

- “Avaliação do perfil químico do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng. (goncalavo)” **Pereira, A.O.B.**, Sampaio, R.S, Siebra, A. L. A; Souza, D.O; Kerntopf, M.R., Menezes, I.R.A.; Em: Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutraceuticos (3ISMNP) e na III Conferência do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutos Tropicais, 14- 19 de outubro de 2012, Centro de Convenções de Sergipe, em Aracaju.
- “Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott ex.Spreng. (goncalavo)” **Pereira, A.O.B.**, Sampaio, R.S, Andrade, J.C; Coutinho, H. D. M; Kerntopf, M.R., Menezes, I.R.A.; Em: III Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos (3ISMNP) e na III Conferência do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutos Tropicais, 14- 19 de outubro de 2012, Centro de Convenções de Sergipe, em Aracaju.
- “Avaliação preliminar da atividade antinoceptiva do óleo essencial das folhas de *Psidium Myrcinites* DC.A.(Araçá) ”, Sampaio, R. S., Leite, L.H.I., Sampaio,T.S., **Pereira, A.O.B.**, Menezes, I. R. A., Kerntopf, M. R., Em:IV Simpósio Nacional de Produtos Naturais;25-28 de setembro de 2012, Tropical Hotel Tambaú.
- “Gastroprotective effects of the *Caryocar coriaceum* WITTM extract on experimental gastric ulcer models in rats” **Pereira, A.O.B.**, Lacerda Neto L.J., Ramos, A.G.B., Coutinho, T.S., Andrade, T.A.,Figueiredo, P.R.L., Morais, L.P.,Nascimento, N.K.M., Kerntopf, M.R., Menezes, I.R.A. In I International Symposium of Pharmacognosy, 18-22 de abril de 2012-Ilhéus-BA-Brasil.
- “Screening farmacológico da atividade citoprotetora do extrato etanólico das folhas de *Duguetia furfuracea*” **Pereira, A.O.B.**, Fernandes, C.N., Souza, H.H.F., XX

Congresso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Prof.Dr. Francisco de Abreu Matos”, 19-22 de setembro de 2011-Fortaleza-CE-Brasil.

- “Atividade antinoceptiva do extrato hidroalcoólico das folhas de *Annona muricata*” Sampaio, R. S., **Pereira, A.O.B.**, Ramos, A. G. B., Souza, D. G., Menezes, I. R. A., Kerntopf, M. R., XX Congresso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Prof.Dr. Francisco de Abreu Matos”, 19-22 de setembro de 2011-Fortaleza-CE-Brasil.

Participação em eventos científicos

- Simpósio “Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos (3ISMNP) e na Conferencia do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutos Tropicais”, 14 - 19 de outubro de 2012, Aracaju-SE-Brasil.
- I International Symposium of Pharmacognosy, 18-22 de abril de 2012-Ilhéus-BA-Brasil.
- Curso teórico em modelos experimentais em Psicofarmacologia, 25-29 de junho de 2012-Crato-CE-Brasil.
- Curso Tópicos avançados de Farmacologia de Produtos Naturais, 22-26 de outubro de 2012-Crato-CE-Brasil.
- XX Congresso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Prof.Dr. Francisco de Abreu Matos”, 19-22 de setembro de 2011-Fortaleza-CE-Brasil.

Mini – Curso/Palestras ministrados

- “Microbiologia dos Alimentos”, durante o IV Encontro Cariense de Biomedicina-Faculdade Leão Sampaio, em novembro de 2012;
- “Atividade anti-úlceras de plantas medicinais”, durante o Curso Tópicos avançados de Farmacologia de Produtos Naturais, em Outubro de 2012.

- “Atuação do biomédico na área de alimentos”, durante o III Encontro Caririense de Biomedicina- Faculdade Leão Sampaio, em novembro de 2011;
- “Manipulação de animais de experimentações”, durante o III Encontro Caririense de Biomedicina- Faculdade Leão Sampaio, em novembro de 2011;

Participação em bancas

- “Análise bacteriológica do caldo de cana comercializado na cidade de Crato-CE” do Aluno: David José Pinheiro de Lavor do curso de Biomedicina;
- “Caracterização bacteriológica de água de fonte alternativa da zona rural do município de Barro-CE” da Aluna: Ana Paula Alves Nogueira, do curso de Biomedicina;
- “Avaliação bacteriológica da qualidade da água da população da zona rural do município de Araripe-CE” da Aluna: Nêtyelle Amarante de Alencar, do curso de Biomedicina;

Disciplinas Cursadas

- Bioestatística (3 créditos);
- Biologia da conservação (4 créditos);
- Química dos produtos naturais (4 créditos);
- Seminários I (2 créditos);
- Ação dos produtos naturais sobre o sistema nervoso (2 créditos);
- Docência do ensino superior (2 créditos);
- Farmacologia dos produtos naturais (4 créditos);
- Seminários II (2 créditos);
- Técnicas de análise microbiana (2 créditos);
- Dissertação I (6 créditos);
- Dissertação II (6 créditos).