

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA E TÓXICA DOS  
EXTRATOS METANÓLICO E CLOROFÓRMICO DAS FOLHAS DE *Serjania erecta*  
Radlk (SAPINDACEAE)

ANA PAULA CORRÊA CASTELLO BRANCO NAPPI ARRUDA

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Bióciências, Campus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre no Programa de Pós Graduação  
em Biologia Geral e Aplicada.

BOTUCATU – SP  
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA E TÓXICA DOS  
EXTRATOS METANÓLICO E CLOROFÓRMICO DAS FOLHAS DE *Serjania erecta*  
Radlk (SAPINDACEAE)

ANA PAULA CORRÊA CASTELLO BRANCO NAPPI ARRUDA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. CLÉLIA AKIKO HIRUMA-LIMA

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biociências, Campus de Botucatu,  
UNESP, para obtenção do título de  
Mestre no Programa de Pós Graduação  
em Biologia Geral e Aplicada.

BOTUCATU – SP  
2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Arruda, Ana Paula Correa Castello Branco Nappi.

Avaliação da atividade antiulcerogênica e tóxica dos extratos metanólicos e clorofórmicos das folhas de *Serjania erecta* (Sapindaceae) / Ana Paula Correa Castello Branco Nappi Arruda. – Botucatu: [s.n.], 2008.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2008.

Orientadora: Clélia Akiko Hiruma-Lima

Assunto CAPES: 21400000

1. Plantas medicinais - Uso terapêutico 2. Úlceras - Tratamento

CDD 616.343

Palavras-chave: Antiulcerogênico; Cerrado; Farmacologia; Fitoquímica; *Serjania*

## **DEDICATÓRIA**

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus que me permitiu chegar até aqui, trilhar e conhecer um pouco sobre o caminho da Ciência e, principalmente, sobre os caminhos da vida.

Também é dedicado aos meus pais que me deram a vida, sem eles eu simplesmente não estaria aqui e também não teria chegado até aqui. Não existem palavras que definam tamanha e especial gratidão, nem o amor que sinto por vocês....

E ao meu namorado Lucas, que me acompanha a mais de oito anos, sendo meu companheiro, professor, editor, tradutor, compartilhando momentos de aventura, diversão, medo, amor... momentos tão especiais, importantes e imprescindíveis na minha vida, mas também ainda não inventaram palavras que possam traduzir fielmente o que quero dizer, mas já dá uma noçãozinha...

## AGRADECIMENTOS

À Professora Lúcia Rocha que me apresentou à professora Clélia, e por todos os auxílios sobre as nomenclaturas endócrinas...

À Professora Clélia que me aceitou como orientada sem mesmo me conhecer, que tiro no escuro em professora??? Mas você pode ter certeza que eu me entreguei á este projeto de corpo e alma e exigindo sempre muito de mim, além de todas as incertezas e dificuldades de uma marinheira de primeira viagem....

Á todo o pessoal do Laboratório, que sempre que disponível me ajudavam nos experimentos, galera, com a ajuda de vocês as coisas se tornaram fáceis... e aqui eu preciso citar uma pessoa em especial que me ajudou na grande maioria de meus experimentos e que se fez presente com ajuda fundamental, a Catharine Ferrazoli, VALEU Potira...

Aos Técnicos do departamento, Seu Júnior do biotério sempre me ajudando com a lavagem das caixas dos animais, Dona Ângela ajudando a limpar as louças restantes dos experimentos...

Ao pessoal da Seção da Pós, meu muito obrigada pelas facilidades e pelas explicações...

## RESUMO

A planta *Serjania erecta* Radlk (SAPINDACEAE) é uma espécie endêmica da região de cerrado e apresenta como indicação popular a utilização de suas folhas para o tratamento de úlcera. A partir destas informações etnofarmacológicas os extratos metanólico e clorofórmico de suas folhas foram avaliados quanto a sua ação gastroprotetora e tóxica. Os dois extratos não apresentaram atividade tóxica no modelo de toxicidade aguda e em triagem hipocrática em modelos de animais *in vivo* e ambos apresentaram atividade gastroprotetora em modelo de indução de úlcera gástrica por etanol absoluto. O extrato clorofórmico (apolar) apresentou maior atividade gastroprotetora do que o extrato metanólico o que instigou a caracterização do mecanismo de ação deste extrato vegetal. A caracterização do mecanismo de ação foi realizada através de ensaios biológicos com o objetivo de se avaliar a ação antissecreatória (ligadura de piloro) e o envolvimento de grupamentos sulfidrílicos, de óxido nítrico e das terminações nervosas sensíveis à capsaicina na gastroproteção. Foi constatado que este extrato não apresenta atividade anti-secreatória e sua ação gastroprotetora ocorre por envolvimento dos grupamentos sulfidrílicos, via ativação de óxido nítrico e também das terminações nervosas sensíveis à capsaicina. A caracterização fitoquímica do extrato metanólico aponta para a presença de saponinas, taninos, flavonóides e terpenos. Já o extrato clorofórmico de *S. erecta* possui saponinas, poliisoprenóides, triterpenos que podem estar envolvidos na ação gastroprotetora do extrato. Estes resultados mostram o potencial efeito antiulcerogênico do extrato apolar das folhas de *S. erecta* frente aos agentes ulcerogênicos mais comuns ao homem, porém, ainda são necessários outros estudos para definir a classe fitoquímica predominante que podem estar diretamente relacionado ao efeito gastroprotetor deste extrato.

Palavras chaves: Cerrado; gastroproteção; planta medicinal, Sapindaceae; *Serjania erecta*.

## ABSTRACT

*Serjania erecta* Radlk (SAPINDACEAE) plant is an endemic species originally found in the Brazilian savanna region with a popular use indicated to ulcer treatment. The known ethnopharmacological data about this plant has directed this work to an evaluation of the methanolic and chloroformic extracts made out of its leaves considering their gastroprotective and toxic actions. Both extracts have showed no toxic activity in the acute toxicity model and the hippocratic screening, both conducted for *in vivo* animal models. These extracts have also showed a gastroprotective activity in the absolute ethanol model for gastric ulcer induction. Since the chloroformic extract (apolar) has presented a higher gastroprotective action when compared to the methanolic extract, its mechanism of action characterization was deeply studied. This mechanism of action characterization was conducted with biological tests aiming to evaluate the antisecretory effect (pylorus ligation) and the involvement of sulfhydryl groups, nitric oxide and capsaicin sensory nerves. The chloroformic extract does not show antisecretory effect as well as gastroprotective action involving sulfhydryl groups and the activation of both the nitric oxide and the capsaicin sensory nerves. The phytochemistry characterization of the methanolic extract points to the presence of saponins, tannins, flavonoids and terpenes. The chloroformic extract, however, presents saponins, polyisoprenoids and triterpenes which may be involved in the mentioned gastroprotective action. These results show the high potential anti-ulcerogenic effect of the *S. erecta* apolar extract against the most common ulcerogenic agents for human beings. Additional studies are necessary in order to define the predominant phytochemistry class that may be directly related to the gastroprotective effect of this extract.

Key words: Gastroprotection; medicinal plant, Savanna; Sapindaceae; *Serjania erecta*.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Revisão bibliográfica do gênero <i>Serjania</i> .....	3
1.2 A espécie estudada: <i>Serjania erecta</i> .....	8
1.3 A doença estudada: Úlcera Gástrica.....	9
2. OBJETIVOS .....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17

ARTIGO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA E TÓXICA DOS EXTRATOS METANÓLICO E CLOROFÓRMICO DAS FOLHAS DE <i>Serjania erecta</i> Radlk (SAPINDACEAE).....	24
---	----

1. INTRODUÇÃO .....	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
2.1 Espécie estudada .....	25
2.1.1 Coleta.....	25
2.1.2 Preparação dos extratos metanólico e clorofórmico .....	26
2.2 Animais.....	26
2.3 Avaliação da atividade farmacológica .....	27
2.3.1 Estudo de Toxicidade Aguda e “screening” hipocrático.....	27
2.3.2 Lesões Ulcerosas .....	27
2.3.3 Indução de úlcera por Etanol absoluto .....	28
2.4 Caracterização da açãoantiulcerogênica do extrato clorofórmico .....	28
2.4.1 Úlceras induzidas pela Ligadura de piloro e avaliação dos parâmetros do suco gástrico .....	28
2.4.2 Determinação do papel dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção .....	29
2.4.3 Determinação do papel do Óxido Nítrico (NO) na gastroproteção.....	29
2.4.4 Determinação do papel das terminações nervosas sensíveis à Capsaicina na gastroproteção.....	30
2.5 Análise Estatística .....	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.1 Toxicidade Aguda e “screening” hipocrático .....	30



3.2	Indução de úlcera por Etanol absoluto .....	35
3.3	Indução de úlcera por Ligadura de Píloro .....	42
3.4	Determinação do papel dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção .....	44
3.5	Determinação do papel do óxido nítrico (NO) na gastroproteção .....	46
3.6	Determinação do papel dos neurônios sensoriais sensíveis à capsaicina na gastroproteção.....	49
3.7	Determinação do papel da fitoquímica dos extratos na gastroproteção .....	51
4.	CONCLUSÃO .....	53
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
	ANEXO .....	61

## 1. INTRODUÇÃO

Há milhares de anos, o homem vem utilizando as plantas no tratamento de diversas doenças. Existem relatos a respeito da utilização de plantas com finalidades terapêuticas que datam do ano 3.000 a.C. como menciona a obra “Pen Ts'ao” do chinês Shen Nung (Ko, 1999; Tyler, 1996). No ano 78 d.C., o botânico grego Pedânios Dioscórides descreveu cerca de 600 plantas medicinais, além de produtos minerais e animais, no tratado “De Materia Medica”. Este tratado permaneceu como fonte de referência por mais de catorze séculos (Robbers et al., 1996; Tyler, 1996). Foi através da observação e da experimentação pelos povos primitivos que as propriedades terapêuticas de determinadas plantas foram sendo descobertas e propagadas de geração em geração, integrando este conhecimento à cultura popular (Turolla & Nascimento, 2006).

A transmissão do conhecimento sobre a utilização das plantas entre as gerações tem sido historicamente uma função essencial da cultura (Berkes et al., 2000). O conhecimento etnobotânico local se mostra bastante importante para a saúde e para a alimentação, particularmente em um meio rural com poucos recursos, porém a transição cultural e econômica associada à globalização tem se tornado uma ameaça para este tipo de conhecimento (McDade et al., 2007).

A fitoterapia é uma forma popular de tratamento da saúde com a utilização de plantas medicinais, e, por esta razão, mesmo existindo algumas diferenças entre este tratamento e o tratamento farmacológico convencional, ela necessita ser testada cientificamente na sua eficácia e nos seus possíveis efeitos tóxicos. Além disso, as pessoas possuem a crença de que os tratamentos naturais são seguros e não apresentam riscos colaterais à saúde, o que é mais um motivo para se intensificar as pesquisas nesta área (Firenzuoli & Gori, 2007).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, e esta diversidade desperta os interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional dos recursos. Um exemplo disto é o bioma cerrado que contém mais de 6.000 plantas vasculares (Mendonça et al., 1998) muitas delas com valor alimentício e medicinal (Almeida et al., 1998). Os componentes das plantas representam uma fonte rica em produtos químicos bioativos, que no setor farmacológico, fornecem material para a produção de analgésicos, tranqüilizantes, diuréticos, laxativos, antibióticos, dentre outros. A diversidade da flora do cerrado brasileiro, o segundo mais importante bioma do país, tem sido

pobremmente estudada na validação da eficácia e de efeitos terapêuticos de extratos ou compostos isolados (Espindola et al., 2004; Napolitano et al., 2005; Mesquita et al., 2005a).

De acordo com Ribeiro & Walter (1998), o Cerrado ocupa 23% do território nacional (dois milhões de km<sup>2</sup>), e se localiza basicamente no planalto central, além de ser considerado um complexo vegetacional de grande heterogeneidade fitofisionômica. Para Proença et al., (2000), o Cerrado é o mais brasileiro dos biomas sul-americanos, pois, excetuando-se algumas pequenas áreas na Bolívia e no Paraguai, ele está totalmente inserido no território nacional.

Segundo Gottlieb & Borin (1994), embora haja possivelmente mais espécies vegetais (diversidade específica) em áreas amostrais de mesmo tamanho na Floresta Amazônica que nas de Cerrado, a diversidade taxonômica neste último é certamente muito maior. Esta diversidade é relativa aos táxons mais elevados (gênero, família e ordem), mostrando a importância do Cerrado para pesquisas com plantas medicinais. Isto porque, quanto maior a diversidade taxonômica em níveis superiores, maior é o distanciamento filogenético entre as espécies e maior é a diferença e diversidade química entre elas. Portanto, estima-se que a gama e o potencial de compostos bioativos produzidos pelas espécies do Cerrado sejam maiores que as da Floresta Amazônica.

Ao se considerar a perspectiva de obtenção de novos fármacos, dois aspectos distinguem os produtos de origem natural dos sintéticos: a diversidade molecular e a função biológica. A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que ainda é limitada. Além disso, os produtos naturais muitas vezes exibem propriedades adicionais às antimicrobianas a eles associadas (Nisbet & Moore, 1997). Também se pode observar atualmente que os produtos naturais são responsáveis, direta ou indiretamente, por cerca de 40% de todos os fármacos disponíveis na terapêutica moderna, e considerando os fármacos antibióticos e antitumorais, essa porcentagem aumenta para aproximadamente 70% (Yunes & Calixto, 2001).

Como pode ser observado, os dados mencionados são de grande importância e justificam a continuidade e o crescimento de pesquisas científicas com plantas medicinais, tanto para a identificação de espécies e sua etnofarmacologia, bem como para a validação dos efeitos terapêuticos e da toxicidade destas espécies.

## 1.1 Revisão bibliográfica do gênero *Serjania*

O gênero *Serjania* pertence à família Sapindaceae e a maioria de suas espécies é encontrada no bioma cerrado. Segundo Napolitano et al. (2005), a rica flora do cerrado brasileiro tem sido pouco estudada para a validação da eficácia de seus efeitos terapêuticos. Extratos brutos, tanto quanto flavonóides isolados de plantas pertencentes à família Sapindaceae, tem sido investigados por suas propriedades antiinflamatórias e anti-virais.

A família Sapindaceae é uma rica fonte de isoprenóides e polifenóis (Hegnauer, 1973) e saponinas (Voutquenne et al., 2002), triterpenos (Chávez & Delgado, 1994), diterpenos (Ortega et al., 2001), flavonóides (Mahmoud et al., 2001), lecitinas (Freire et al., 2002) e hidrogéis (Gorin et al., 2006). As sementes das plantas desta família são caracterizadas predominantemente por sua abundância em óleos, algumas das quais apresentam intensa atividade inseticida e são ricas em cianolipídeos (Sptizer, 1996).

A etimologia da palavra Sapindaceae, segundo Rennó (1963) e Jussieu (1789); gênero *Sapindus*, Lineu; *sapindus* é o encontro de *sapo*, sabão e *indus*, da Índia; como o fruto de algumas espécies indianas que têm substâncias detergentes, daí lhes veio o nome “sapo indus” ou “sapindus”, sabão-da-Índia; Dicotiledôneas.

A família Sapindaceae é uma das vinte famílias botânicas pertencentes à ordem Sapindales, algumas com grande ocorrência no Brasil e na região amazônica. Esta ordem reúne inúmeras plantas de grande valor medicinal e econômico. Na família Sapindaceae destacam-se os gêneros: *Paullinia*, *Cupania* e *Serjania*, muitas das quais usadas para a pesca por serem consideradas narcóticas para os peixes. Apresentam também, significativos efeitos farmacológicos, especialmente sobre o Sistema Nervoso Central (Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002).

Várias espécies do gênero *Serjania* apresentam em seu nome popular a palavra Timbó. Timbó é o nome genérico utilizado por nativos brasileiros para designação de plantas tropicais venenosas utilizadas em pescaria. A mais potente destas plantas são pertencentes à família Leguminosae: *Derris urucu* (Killi & Smith) Macbr. = timbó-macaquinho; *Tephrosia toxicaria* Pers. = timbó-de-caiena; *Tephrosia nitens* Benth = timbó-caá, da qual a rotenona foi isolada como substância ativa (Krukoff & Smith, 1937; Corbett, 1940; Haller et al., 1942). Outras plantas utilizadas como ictiotóxicas não contêm rotenona, são menos tóxicas e são chamadas de “timbós-falsos” (Teixeira et al., 1984).

O gênero *Serjania* apresenta 226 espécies (Van der Ham & Tomlik, 1994), sendo que apenas algumas apresentam indicação popular e pouquíssimas foram estudadas sob o ponto de vista farmacológico. Abaixo estão listadas algumas das espécies que apresentam indicação popular:

1) *Serjania acuminata* Radlk – Segundo Corrêa (1924), esta é uma das espécies mais procuradas para tinguijar. É conhecida popularmente por Timbó de peixe ou Timbó legítimo.

2) *Serjania caracasana* (Jacq.) Willd. – De acordo com Pott & Pott (1994), esta planta é apícola, dá néctar; é tóxica para peixes e contém 3 saponinas (serjanosídeos). Segundo Corrêa (1924), esta planta é conhecida por Timbó do Campo em Goiás e é reputada como muito venenosa e bastante aproveitada para tinguijar peixe.

3) *Serjania curassavica* Radlk. – Segundo Corrêa (1924), esta espécie é largamente disseminada pelo Brasil e em grande parte da África tropical, é considerada a mais nociva deste gênero. O que confirma esta indicação é que antigamente os escravos africanos extraíam da semente, da casca e de suas raízes, uma substância terrivelmente venenosa, que administrada traiçoeiramente aos inimigos e aos senhores escravagistas, aos poucos e continuamente, minava o organismo levando à morte. É conhecida popularmente por Curucú-apé.

4) *Serjania cuspidata* Camb. – Segundo Corrêa (1924), esta espécie é considerada venenosa, porém este efeito apenas se verifica sobre animais de sangue frio, devido à presença do alcalóide ictiotina, razão pela qual é empregado para tinguijar. As folhas frescas apresentam óleo essencial. É conhecida popularmente por Guarumina; Cipó-Timbó; Timbó-cabeludo; Timbó de peixe.

5) *Serjania fuscifolia* Radlk. – Segundo Cointe (1947), é popularmente conhecida por Cipó Timbó e Timbó. É acre, narcótica e venenosa – ictiotóxico contém timbóina. Segundo Corrêa (1924), é também uma das espécies mais procuradas para tinguijar e é conhecida como Mata-peixe em São Paulo.

6) *Serjania lethalis* A. St. Hil. – Segundo Corrêa (1924), é uma bela planta ornamental, narcótica como as outras do gênero, porém geralmente reputada como ainda mais venenosa. Conhecida popularmente por Mata-fome.

7) *Serjania nodosa* Radlk. – Segundo Corrêa (1924), as sementes são suspeitas de serem venenosas e o suco da planta era utilizado pelos aborígenes da Guiana Francesa para

envenenarem a ponta de suas flechas, além disso, seus ramos servem para tinguijar. É conhecida popularmente por Cururú; Arary; Cipó cruapé branco.

**8) *Serjania noxia* St. Hil.** – Segundo Corrêa (1924), é uma das espécies mais acusadas como causa de envenenamento e também uma das mais procuradas pela abelha *Poliste lecheguana*, que com seu néctar produz um mel absolutamente nocivo.

**9) *Serjania paucidentata* DC.** – Segundo Corrêa (1924), o suco desta planta é considerado narcótico e existe suspeita da planta ser tóxica. Conhecida popularmente por Icutã; Timbó.

**10) *Serjania piscatoria* Radlk** – Segundo Corrêa (1924), é uma das espécies mais utilizadas para tinguijar, conhecida popularmente por Tinguí.

**11) *Serjania triquetra* Radlk** – Segundo Martinez (1959) esta espécie é encontrada nas regiões central e sul do México. Na medicina popular as folhas e o caule são utilizadas na forma de infusão como diurético.

Segundo Corrêa (1924), com raríssimas e importantes exceções, estas espécies são acres e até certo ponto narcóticas, sempre com a suspeita de serem venenosas, porém ainda faltam comprovações científicas de que realmente a sejam. Sobre os animais de sangue quente, principalmente os caprinos, seus criadores são unânimes em afirmar que estes animais ingerem as folhas destas Sapindáceas sem que disso advenha algum tipo de incômodo, assim, parece que nada justifica a indicação que se faz destas plantas. Esta imunidade, entretanto, não abrange os animais de sangue frio, principalmente os peixes, pois todas essas Sapindáceas, conforme sua distribuição geográfica, foram desde a época pré-colombiana utilizadas pelos aborígenes para envenenar as flechas utilizadas para a pesca e caça, assim como para a guerra, por certo, os resultados positivos adquiridos na pesca os levaram a crer neste mesmo efeito também para os animais de sangue quente.

A ação narcótica, atordoadora, tinguijante, é incontestável, todavia a morte dos peixes só sobrevém quando eles ficam tempo excessivo na água “envenenada”, seja por falta de sua renovação, ou porque a renovação é muito lenta. Existem, incontestavelmente, algumas espécies cujo suco é mais energético como a *S. noxia* (que já foi considerada venenosa para gado) e a *S. lethalis*, as quais produzem alteração nas brânquias dos peixes, matando-os por asfixia, como ficou demonstrado graças aos estudos do fisiologista Claude Bernard. Estas mesmas espécies (*S. noxia* e *S. lethalis*) são muito procuradas pela abelha *Poliste lecheguana*, servindo à produção de um mel conhecido no sul do Brasil por “lecheguana” cujos efeitos perniciosos são bastante perigosos e foi pessoalmente experimentado pelo botânico A. de Saint-Hilaire (Corrêa, 1924).

Sobre os efeitos farmacológicos já publicados sobre o gênero *Serjania*, a espécie mais estudada até hoje foi a *Serjania lethalis*. Segundo Mesquita et al. (2005b), os extratos etanólico e hexano da casca da raiz de *S. lethalis*, foram testados em sua atividade antiprotozoário *in vitro* contra *Leishmania donovani* e *Trypanosoma cruzi*. O seu extrato etanólico se apresentou ativo, inibindo em 50% o crescimento do parasita *L. donovani* na dose de 5,2 µg/ml (IC<sub>50</sub>), não apresentando atividade contra *T. cruzi*.

A respeito desta mesma planta, Napolitano et al. (2005), baseado em seu uso tradicional, testou os extratos etanólicos das folhas; do cerne do caule; da casca do caule e da casca da raiz na produção de NO (óxido nítrico) de macrófagos murinos J774 ativados com LPS/IFN-γ e sua citotoxicidade. Os extratos etanólicos do caule (tanto da casca quanto do cerne) na dose de 50 µg/mL inibiram significativamente a produção de NO pelos macrófagos J774. Já os extratos etanólicos das folhas e da raiz foram inativos nesta mesma dose. Apenas o extrato da casca da raiz mostrou um valor de IC<sub>50</sub> significativamente baixo, o que representa um efeito citotóxico ótimo para as células J774.

No estudo realizado por De Lima et al. (2006), foram testados extratos de plantas para avaliação antibacteriana contra *Escherichia coli* e contra *Staphylococcus aureus*. No teste com *Staphylococcus aureus* foram utilizadas: uma cepa susceptível (ATCC 25923) e duas cepas resistentes (NorA e MsrA). Foram testados extratos de *Serjania lethalis*, que segundo o próprio autor, apresenta como indicação popular o uso tópico para tratamento de dores e para pesca, como ictiotóxica. Nenhum destes extratos apresentou atividade contra *Escherichia coli*, mas apresentaram atividade contra a cepa susceptível (ATCC 25923) e sobre as cepas resistente (NorA e MsrA) de *S. aureus*.

Segundo outro estudo realizado com *S. lethalis*, foram avaliados alguns de seus extratos para validação de efeito larvicida contra a larva de *Aedes aegypti* (no terceiro estágio). Os extratos testados foram: etanólico e hexano (das folhas; do cerne do caule; da casca do caule e da casca da raiz). O valor de LC<sub>50</sub> observado para o extrato etanólico da casca do caule foi de 404.16 µg/mL, porém o extrato etanólico da casca da raiz se apresentou mais ativo, atingindo o valor de 285.76 µg/mL, isto significa que nestas doses ocorreu uma mortalidade superior a 65%. O componente que apresenta atividade larvicida ainda não é conhecido (Rodrigues et al., 2006).

Em outros testes, foi verificado que a atividade tóxica para peixes dos extratos brutos de *Serjania caracasana* se encontra na fração de saponinas (Aragão & Valle, 1973; Cordeiro & Valle, 1975). Teixeira et al., (1984) afirmaram que nesta fração, os serjanosídeos A e B,

são predominantes. Foi testada também a ação farmacológica dos serjanosídeos, que neste caso foram isolados do caule da planta *Serjania lethalis*. Este princípio foi investigado em peixes, comparando suas ações com a rotenona e com outras saponinas. A atividade ictiotóxica dos serjanosídeos se apresentou: 2.5 vezes maior do que o do extrato etanólico bruto do caule; aproximadamente 10 vezes menor do que a atividade da rotenona; de 10 a 50 vezes melhor do que a atividade de outras saponinas.

A espécie medicinal *Serjania triquetra* Radlk. pode ser encontrada na parte central e meridional do México, e a medicina popular utiliza a infusão das folhas e do caule por seu efeito diurético. Esta planta foi estudada e caracterizaram as saponinas presentes em suas partes aéreas, que foram: estigmasterol, ácido oleanólico, ácido morólico e hederagenina. Também foi encontrada a estrutura de um novo derivativo triterpenóide, 11 $\alpha$ -hidroperóxido-diacetil hederagenina, que foi considerada como a chave intermediária na biosíntese de vários triterpenos (Chávez & Delgado, 1994).

Em outro trabalho, foi investigado o efeito antifúngico e moluscicida da espécie *Serjania salzmanniana* (extrato metanólico do pó do caule), mais conhecida como “Cipó-Cururu”. Desde a descoberta de que as saponinas apresentam potentes princípios moluscicidas, várias saponinas e extratos de plantas de várias espécies da família Sapindaceae, têm sido testadas para validação deste efeito. Nesta investigação, foram descobertas e isoladas duas novas saponinas: a salzmannianosídeo A e o salzmannianosídeo B, e mais duas saponinas já conhecidas, a pulsatilla saponina D e o ácido oleanólico. Estas quatro saponinas apresentaram efeito moluscicida (10 ppm), causando mortalidade de 70 a 100% da *Biomphalaria alexandrina*, o vetor de *Schistosoma mansoni* no Vale do rio Nilo. Estas saponinas também apresentaram atividade antifúngica contra *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans* em uma concentração inibitória mínima de 8 e 16  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente (Ekabo et al., 1996).

Por último, em estudo recente realizado por David et al., (2007) foram avaliadas espécies medicinais quanto aos seus efeitos antioxidantes e citotóxicos, dentre elas estava a *Serjania glabrata* (extrato metanólico). No teste para atividade citotóxica, este extrato se mostrou inativo. No teste para atividade antioxidante, apresentou resultado significativo na dose 57.1 mg/mL. Concluiu-se que esta espécie apresenta atividade antioxidante, porém ela não é comparável aos antioxidantes existentes no mercado.

Em vista do que foi apresentado nesta revisão bibliográfica do gênero *Serjania*, é possível constatar que existem ainda muito poucos estudos farmacológicos sobre plantas



medicinais, e em especial, deste gênero. Além disso, também faltam estudos que caracterizem seus compostos bioativos. A respeito da espécie estudada aqui, a *Serjania erecta*, a situação infelizmente é a mesma e não foram encontrados dados publicados sobre sua ação farmacológica ou tóxica e tampouco sua composição fitoquímica.

## **1.2 A espécie estudada: *Serjania erecta***

Considerando seus dados botânicos, esta espécie é um arbusto ereto, caule arqueado-deflexo, que chega a até dois metros de altura. Apresenta-se raríssimas vezes como trepador, sempre ramoso e glabro (Corrêa, 1924). Têm folhas compostas, com folíolos largo-ovais. Inflorescência apical com flores de cor branca, sua floração se dá de outubro a agosto. Seu fruto varia de cordado a arredondado e a frutificação se dá em março (Silva, 1998).

Sobre seus nomes populares e sua indicação popular, Silva (1998) afirma que seu nome popular é Retrato-de-Teiú. Este nome refere-se à semelhança da folha com o lagarto Teiú que ocorre na região do Cerrado. O chá da folha macerada é usado como regulador menstrual e além disso, também é extremamente utilizado para lavar ferimento, auxiliando na cicatrização. Segundo Corrêa (1924), esta planta passa por venenosa, ao menos atordoar os peixes e é conhecida popularmente por Cipó de timbó; Timbó bravo; Tururi; Turari. De acordo com Pott & Pott (1994), esta planta é conhecida por cipó-cinco-folhas e apresenta como indicação popular a utilização de suas folhas contra úlcera e a raiz contra pressão alta.

O perfil fitoquímico dos extratos metanólico e clorofórmico das folhas foram realizados pelo Departamento de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pela Doutora Roberta G. Coelho. No extrato metanólico foram encontrados: terpenos, saponinas, flavonóides e taninos. No extrato clorofórmico foram encontrados: esteróides, esteróides glicosilados, triterpenos, saponinas, poliisoprenóides e ácidos graxos de cadeia longa.



Figura 1. A Espécie *Serjania erecta* (Pott & Pott, 1994).

### 1.3 A doença estudada: Úlcera Gástrica

O estômago dos vertebrados desempenha uma variedade de funções incluindo o de servir como reservatório de comida, expor a comida ingerida ao ácido (secretado pelas células parietais) e à pepsina (secretada pelas células principais), e prover uma barreira que previne que microrganismos penetrem nos intestinos. Além disso, o estômago é extremamente rico em células produtoras de peptídeos: células tipo enterocromafin (ECL) da histamina; células D (somatostatina); células tipo A (grelina e obestatina); células D1/P (produtos desconhecidos); células EC (serotonina) e células G (gastrina). As diversas funções fisiológicas do estômago dependem da integridade da mucosa gástrica (Chen et al., 2006).

O estômago dos mamíferos na sua função de órgão digestivo é invariavelmente exposto à enzima proteolítica pepsina e ao ácido clorídrico que apresentam força suficiente para destruí-lo. Ele resiste à autodigestão pela presença de agentes protetores como a “barreira mucosa gástrica” que é normalmente resistente aos íons  $H^+$  até uma concentração  $10^5$  vezes mais alta do que no plasma e também apresenta uma camada altamente resistente de células mucosas e uma das mais bem organizadas populações de células epiteliais com junções bastante próximas entre elas (Satyanarayana, 2006).

De uma forma geral, a úlcera, decorre de um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa e os fatores de agressão da mucosa gastroduodenal (Bittencourt et al., 2006). No estômago, a principal barreira de proteção é constituída pela confluência entre as células epiteliais e a secreção contínua de muco-íon bicarbonato ( $HCO_3^-$ ). Essa camada, cuja espessura é de aproximadamente 200-300  $\mu m$ , confere proteção eficiente (Konturek et al., 2005). Foi

demonstrado que o muco que reveste as células da superfície do epitélio contém fosfolipídios bipolares que, devido à elevada polaridade, previnem a retrodifusão de ácidos, como o ácido clorídrico (HCl), da luz do estômago para o interior da mucosa. Entretanto, compostos orgânicos não-ionizados, como sais biliares ou ácido acetilsalicílico, que têm pKa relativamente baixo, podem alcançar rapidamente, por difusão não-iônica, as células da superfície da mucosa e se acumularem no interior dessas células, onde são dissociados e provocam lesão celular (Teorell, 1940).

A úlcera é uma lesão profunda da mucosa, onde tanto os componentes dos tecidos epitelial e conjuntivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos, podem ser destruídos (Milani & Calabrò, 2001). As úlceras do trato digestório podem se apresentar de três formas: úlcera péptica, que é a úlcera que se apresenta tanto no estômago como no duodeno, úlcera duodenal, que se apresenta apenas no duodeno e a úlcera gástrica que se apresenta apenas no estômago.

Foi atribuído a Hipócrates, em 460 a.C., o relato de um caso cujo diagnóstico foi posteriormente confirmado como sendo úlcera péptica (UP). No século XVIII, os clínicos dificilmente deixavam de descrever o quadro clínico da UP perfurada, quase invariavelmente fatal naquela época. Compêndios de medicina legal, como o de Albertus, em 1725, menciona a úlcera perfurada como causa rara de morte, devendo ser diferenciada de envenenamentos (Bittencourt et al., 2006).

Do início do século XX até aproximadamente 1955, a incidência e a prevalência da úlcera aumentaram nos Estados Unidos, porém após 1955, sua incidência e prevalência vêm diminuindo. Apesar deste declínio, a úlcera péptica ainda é um grande problema que resulta em custos diretos de aproximadamente 4 bilhões de dólares por ano somente nos Estados Unidos. Cerca de meio milhão de novos casos e de quatro milhões de recorrências são diagnosticadas anualmente no mundo. Dados históricos sugerem que a prevalência da úlcera péptica, em indivíduos com sintomas, seja de 1 em 10. Entretanto, baseado em estudo endoscópico prospectivo, se verificou que cerca de 50% do total de pacientes ulcerosos eram assintomáticos, o que leva a concluir que sua prevalência seja de fato maior. Portanto, a úlcera péptica deve ser considerada doença comum e de grande importância devido ao alto custo direto (relacionado como diagnóstico e tratamento) e indireto pelo absenteísmo e alteração da qualidade de vida que ocasiona. Além disso, os índices de mortalidade não se reduziram significativamente e continuam sendo maiores na úlcera gástrica do que na duodenal (Mincis, 2002).

A úlcera péptica é uma dentre várias causas de dispepsia. Acomete cerca de 10 a 15% da população em algum momento da vida e 1 a 2% no período de um ano. A úlcera era considerada crônica e incurável, dada sua evolução em ciclos recorrentes. Foram nos últimos 30 anos que houve revolucionários avanços no diagnóstico, patogênese e tratamento da UP (Chehter & Rodrigues, 2002).

A UP tem ligeiro predomínio no sexo masculino. A úlcera duodenal (UD) prepondera em adultos com menos de 45 anos e as úlceras gástricas (UG), após os 55 anos. Pais ou irmãos de portadores de UD apresentam 3 vezes mais úlcera que a população com as mesmas características. A maior mortalidade da UG é reflexo de seu predomínio entre idosos, indivíduos de baixo poder aquisitivo, desnutridos ou portadores de doenças associadas, e, a morte decorre da maior frequência de sangramentos graves. A UG predomina no Japão, países escandinavos e andinos, e em certas regiões da Índia, enquanto que a prevalência da UD suplanta em 4 ou 5 vezes a da UG nas demais regiões do globo (Chehter & Rodrigues, 2002).

Admite-se que até 45% das hemorragias digestivas altas são causadas por úlceras pépticas (Spirt, 1998). Foram descritos vários fatores de risco para esta complicação, como a administração de drogas antiinflamatórias não-esteroidal, anticoagulantes orais, corticosteróides, bem como a presença de *Helicobacter pylori* e idade avançada (Gabriel et al., 1991; Allison et al., 1992; Laine et al., 1992).

A úlcera é, há tempos, reconhecida como um fenômeno não específico que pode ser um ponto final comum de muitos caminhos diferentes, como por exemplo, entre fatores genéticos e ambientais (Lam & Sircus, 1975; Rotter & Rimoin, 1977; Spiro, 1987; Chang et al., 1993; McColl et al., 1993; Lam, 1994; Spiro, 1998). Em vista disto, serão citadas a seguir a etiopatogenia mais conhecida das úlceras pépticas:

**1) Fatores psicológicos:** Várias condições físicas e psicológicas, ocasionadas principalmente por estresse, estão relacionadas a causas de úlcera gástrica em modelos humanos e animais (Pacheco et al., 2006). Se os fatores envolvidos na etiopatologia da úlcera são múltiplos, algumas pessoas podem ser mais vulneráveis que outras ao estresse, então, fatores psicossociais podem ser importantes em apenas um subgrupo de pacientes ulcerosos (Levenstein, 2000). Dados mostram ainda que situações como a “baixa” condição sócio econômica (*National Health Interview Survey: United States*, 1986) e uma jornada dura de trabalho (Sonnenberg & Sonnenberg, 1986; Sonnenberg, 1988) também são contribuintes para o desenvolvimento da úlcera péptica.

No passado, a úlcera era considerada como sendo influenciada consideravelmente por fatores psicossomáticos, na qual se acreditava que os pacientes produziam a UP por ansiedade e por características e comportamentos neuróticos e histéricos (Noyes et al., 1978; Tennant et al., 1986). Dados clínicos anteriores e amostras baseadas na comunidade (Davidson et al., 1991) têm mostrado que a UP ocorre mais freqüentemente do que o esperado entre indivíduos com ansiedade e desordens depressivas (Rogers et al., 1994) e existem evidências de uma associação entre ansiedade e aumento das taxas de problemas na parte inferior do trato gastrointestinal (Lydiard et al., 1994), apesar dos mecanismos destas associações permanecerem desconhecidos.

**2) Drogas antiinflamatórias não-esteroidais (DAINES):** são a maior causa de morbidade e mortalidade entre os usuários. Dados epidemiológicos sugerem que elas aumentam o risco de complicações ulcerosas e morte entre três e dez vezes (Wang et al., 2007). DAINES são um dos tipos mais freqüentes de drogas amplamente utilizadas (Villegas et al., 2004), e a aspirina® é um exemplo deles. Estudos indicam que úlceras gástricas ou duodenais estão presentes em 10 a 25% dos pacientes que utilizam DAINES por longos períodos (Tibble et al., 2001). Além disso, a continuidade na utilização de DAINES freqüentemente resulta na recorrência da úlcera gástrica (Hull et al., 1997).

Apesar do fato de que mais de 30% dos pacientes que ingerem DAINES desenvolvem sintomas gastrointestinais, a maioria apresenta apenas lesões gastrointestinais mínimas ou nenhuma lesão em avaliação endoscópica. Mais de 5% de pacientes sem sintomas terá endoscopicamente provado a úlcera gástrica ou duodenal com um significativo risco de hemorragia gastrointestinal ou perfuração (Elsanullah et al., 1998).

Vários fatores de risco têm sido identificados como potenciais variáveis na patogênese da sintomatologia gastrointestinal relacionada com DAINES. No caso das doenças reumáticas, pode ser incluída a idade, o sexo, histórico prévio de doença ulcerosa péptica, uso de esteróides e efeitos colaterais prévios atribuídos ao uso de DAINES, em adição aos fatores ambientais como fumo e excessiva ingestão de álcool (Fries et al., 1989).

Há maior prevalência de úlcera péptica, principalmente gástrica, em pacientes que usam regularmente AAS (ácido acetilsalicílico) e outros DAINES, três ou mais dias por semana, durante dois ou mais meses. Eles atuam principalmente inibindo a síntese de prostaglandinas endógenas (protetoras da mucosa gástrica), especialmente as PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub> (Mincis, 2002).

**3) Cigarro:** Resultados de vários estudos mostram a evidente associação positiva entre o hábito de fumar e a incidência, índice de mortalidade, complicações, recidivas e cicatrização mais lenta da úlcera. Existe a correlação direta entre o número de cigarros consumidos por dia (e também no ano) e a incidência de úlcera; há associação entre fumo e o aumento do risco para desenvolver úlcera duodenal e gástrica. Admite-se atualmente que possa haver interação entre fumo e *Helicobacter pylori* em relação à patogenia da úlcera. O hábito de fumar poderia aumentar a susceptibilidade à infecção pelo *H. pylori*. O fumo pode diminuir os fatores defensivos da mucosa ou tornar o meio mais favorável à infecção por este agente (Mincis, 2002).

Os fumantes com ou sem úlcera apresentam maiores níveis séricos de pepsinogênio I que os não fumantes, eventualmente por causa da infecção por *H. pylori*. O fumo retarda significativamente o esvaziamento gástrico de líquidos e sólidos. A prostaglandina, da mucosa gástrica e duodenal, se apresenta diminuída em fumantes, especialmente em idosos. O fumo reduz a secreção de bicarbonato, diminui o fluxo sanguíneo da mucosa e aumenta o refluxo duodenogástrico (Mincis, 2002).

**4) *Helicobacter pylori*:** A *H. pylori* é uma bactéria Gram negativa, de forma espiralada ou cocóide e polar (4 a 6 flagelos embainhados com um bulbo terminal membranoso, que lhe proporcionam mobilidade, capacitando-a a penetrar rapidamente no muco gástrico). O homem é o único hospedeiro natural desta bactéria e ela pode ser adquirida por via oral. A infecção aguda tem período de incubação de 4 a 7 dias, após os quais surge a gastrite neutrofílica (aguda) subclínica com duração de 7 a 10 dias (Chehter & Rodrigues, 2002).

A *H. pylori* é um patógeno primário, as enzimas e citotoxinas por ele secretados possibilitam a penetração no muco, a resistência ao meio ácido, a diminuição das defesas da mucosa e a agressão ao epitélio, com conseqüente inflamação e lesão. Ela secreta várias enzimas e moléculas que são importantes fatores de manutenção e virulência: urease (a forma mais ativa das enzimas produzidas por bactérias, vital para a sobrevivência no meio ácido), catalase (diminui a eficácia da peroxidação lipídica e protéica dos neutrófilos), mucinase (degrada o muco), fosfolipase A<sub>2</sub> (diminui a hidrofobicidade do muco), N-metil-histamina (potente secretagogo), hemaglutininas (importante na fixação às células epiteliais) e lipoproteínas (inibem a ligação da laminina na matriz extracelular, rompendo a mucosa). A *H. pylori* também atua por mecanismo indireto, induzindo a liberação de interleucinas (IL) 8 e 1,

e fator de necrose tumoral (TNF) pelo epitélio e por células inflamatórias. Esses mediadores desencadeiam inflamação, liberação de enzimas proteolíticas e de radicais livres, que determinam a lesão tecidual, além de estimularem as células G e inibirem as células D, levando a uma maior produção de ácido (Chehter & Rodrigues, 2002).

Cerca de 90% das úlceras duodenais e 70% das gástricas estão associadas à infecção pelo *H. pylori*, porém, este como fator único, não pode naturalmente ser o agente etiológico da úlcera. Há necessidade de condições apropriadas para sua ação ulcerogênica, pois a grande maioria dos portadores de *H. pylori* não apresenta lesão (Mincis, 2002).

A infecção por *H. pylori* está presente em, aproximadamente, metade da população mundial (Cover & Blaser, 1996). A descoberta da bactéria, descrita em 1983 (Marshall & Warren, 1983), estabeleceu sua associação com inflamação gástrica. Estudos subsequentes reconheceram a infecção por *H. pylori* como o principal fator causal de gastrite crônica e como fator associado de risco para úlcera péptica, câncer gástrico e linfoma do tecido linfóide associado à mucosa gástrica (Go, 2002).

Apesar da indução histológica de gastrite em indivíduos infectados pela colonização gástrica com *H. pylori*, apenas a minoria desenvolve qualquer sinal clínico aparente desta colonização. É estimado que pacientes positivos para *H. pylori* apresentam de 10 a 20% de risco de desenvolver úlcera e de 1 a 2% de risco de desenvolver câncer gástrico distal (Kuipers et al., 1995; Kuipers, 1999; Ernst & Gold, 2000). O risco de desenvolver estas desordens na presença da infecção por *H. pylori* depende de uma variedade de fatores, que são relativos à bactéria, ao hospedeiro, e aos fatores ambientais que na maioria das vezes está relacionado ao tipo e severidade da gastrite (Kusters et al., 2006).

**5) Fator genético:** Em vários trabalhos verificou-se que o fator genético pode predispor ao desenvolvimento da úlcera. Algumas das conclusões obtidas, segundo Minci (2002) foram:

a) Maior incidência em gêmeos univitelinos (concordância de 50%) e em familiares de pacientes com úlcera gástrica e duodenal (3 vezes maior que a da população geral), não havendo maior incidência da úlcera duodenal em famílias cujos membros têm úlcera gástrica e vice-versa;

b) Maior incidência de marcadores subclínicos da úlcera duodenal relacionados com os seguintes fatores genéticos: tipo sanguíneo O, ausência de fator ABH salivar, antígenos de histocompatibilidade B<sub>5</sub>, B<sub>12</sub> e B<sub>w35</sub>, e pepsinogênio do tipo I.

Entretanto, os índices mais elevados de úlcera em parentes de primeiro grau, poderiam ser secundários à infecção pelo *H. pylori* nesses grupos e não devido a fatores genéticos. Embora algumas pesquisas tenham sido realizadas neste sentido, existe a necessidade de estudos mais amplos para se avaliar o papel do fator genético na patogenia da úlcera (Mincis, 2002).

**6) Álcool (etanol):** É uma substância tóxica e comumente utilizada com a finalidade de produzir dano à mucosa gástrica em pesquisa com animais. Entretanto, nesses modelos o álcool é frequentemente administrado como álcool absoluto (etanol puro). Dessa forma ele é lipossolúvel, atravessa facilmente a mucosa e ocasiona um dano agudo bastante evidente. Estes resultados não podem ser extrapolados para o que ocorre no homem, que geralmente, não ingere etanol puro. Por outro lado, sabe-se que o etanol em baixas concentrações (5%) estimula, embora discretamente, a secreção ácida do estômago (e em altas concentrações pode inibi-la). Em estudos epidemiológicos, concluiu-se que o consumo moderado de álcool favoreceria a cicatrização da úlcera (estes estudos não consideraram o fator *H. pylori*) (Mincis, 2002).

**7) Idiopática:** Existe um pequeno subgrupo de ulcerosos em que nenhum fator etiológico associado é detectado, sendo essas úlceras denominadas idiopáticas. Publicações feitas nos Estados Unidos mencionam que mais de 20% das úlceras estudadas nos últimos anos são de causa desconhecida (Mincis, 2002). A incidência de UP idiopática é alta em crianças e em adultos jovens, o que pode causar uma prorrogação no tempo de duração da úlcera (Arakawa et al., 2004).

**8) Corticosteróides:** Existem controvérsias quanto à participação dos corticosteróides no desenvolvimento da úlcera. De acordo com Mincis (2002), uma revisão de 42 trabalhos possibilitou a conclusão de que a úlcera pode ocorrer em pacientes que utilizam corticosteróides diariamente, durante mais de um mês, bem como naqueles que utilizam dose total equivalente a 1g de prednisona e nos pacientes que já tiveram úlcera. Já em outros estudos, não houve associação entre o uso desses medicamentos e formação de úlcera ou seu sangramento. Os pacientes que utilizam corticosteróides e também DAINES apresentam maior risco para o desenvolvimento da úlcera do que os pacientes em tratamento apenas com DAINES. O mecanismo mais provável do eventual efeito ulcerogênico dos corticosteróides é



pela sua participação na reação em cascata das prostaglandinas, inibindo a liberação do ácido araquidônico.

**9) Outros fatores:** Outras causas consideradas nos casos de úlcera péptica são: redução da ingesta alimentar no período matutino (Levenstein et al., 1997) e redução do horário de sono (Segawa et al., 1987; Levenstein et al., 1997) que em parte se dá pela supressão da secreção do hormônio do crescimento (Veldhuis & Iranmanesh, 1996).

O tratamento clínico atual da úlcera péptica é geralmente baseado na inibição da secreção ácida pelos antagonistas do receptor  $H_2$ , como o omeprazol e os antimuscarínicos, bem como a terapia ácida independente provida pelo sucralfato e o bismuto (Bighetti et al., 2005). Contudo, um dos maiores problemas no tratamento da úlcera gastroduodenal é que, apesar da taxa de cicatrização ser de 80 a 100% após 4 a 8 semanas de terapia com os antagonistas  $H_2$  e com os inibidores da bomba de prótons, a taxa da recorrência da úlcera dentro do prazo de um ano após o tratamento está entre 40 e 80% (Miller & Faragher, 1986). Além disso, a maioria destes fármacos produzem várias reações adversas (Ariyphisi et al., 1986).

Recentes estudos têm nos mostrado que diferentes substâncias oriundas de plantas, não oferecem apenas gastroproteção, mas também aceleram a cicatrização de úlceras gástricas. Elas também podem apresentar ações antiinflamatórias pela supressão da cascata dos neutrófilos / citocinas no trato gastrointestinal (TGI), promover reparação tecidual através da expressão de vários fatores de crescimento, exibir atividade antioxidante, reagir com espécies reativas de oxigênio (ROS), atividade antinecrótica e atividade anticarcinogênica (Bagchi et al., 2002; Kyogoku et al., 1979).

## **2. OBJETIVOS**

1. Avaliar as atividades gastroprotetoras dos extratos metanólico e clorofórmico das folhas de *Serjania erecta* Radlk (Se).
2. Avaliar a segurança dos extratos através do ensaio de toxicidade aguda e *screening* hipocrático.

3. Caracterizar os mecanismos de ação da atividade antiulcerogênica do extrato mais eficiente.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLISON, M.C.; HOWATSON, A.G.; TORRENCE, C.J.; LEE, F.D.; RUSSEL, R.I. Gastrointestinal damage associated with the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **N. Engl. J. Med.**, v. 327, p. 749-54, 1992.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: Espécies vegetais úteis**. Planaltina, Embrapa-CPAC, 1998.
- ARAGÃO, J.A.; VALLE, J.R. Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjania*, *Derris* e *Tephrosia*. **Ciência e Cultura**, v. 25, p. 649, 1973.
- ARAKAWA, T., HIGUCHI, K., FUJIWARA, Y., TOMINAGA, K., WATANABE, T., SHIBA, M., OSHITANI, N., MATSUMOTO, T. Has *Helicobacter pylori* eradication for peptic ulcer been overrated? **Intern. Med.**, v. 43 (3), p. 179-83, 2004.
- BERKES, F., COLDING, J., FOLKE, C. Rediscovery of traditional ecological knowledge as adaptive management. **Ecol. Appl.**, v. 10, p. 1251–1262, 2000.
- BITTENCOURT, P.F.S.; ROCHA, G.A.; PENNA, F.J.; QUEIROZ, D.M.M. Úlcera péptica gastroduodenal e infecção pelo *Helicobacter pylori* na criança e adolescente. **J. Pediatr.**, v. 82 (5), 2006.
- CHANG, F.Y., LAI, K.H., WANG, T.F., LEE, S.D., TSAI, Y.T. Duodenal ulcer is a multifactorial disorder: the role of pepsinogen I. **S. Afr. Med. J.**, v. 83, p. 254–66, 1993.
- CHÁVEZ, M.I.; DELGADO, G. Isolation and relay synthesis of 11 $\alpha$ -hydroperoxy diacetyl hederagenin, a novel triterpenoid derivative from *Serjania triquetra* (Sapindaceae). Biogenetic implications. **Tetrahedron**, v. 50, p. 3869-3878, 1994.
- CHEHTER, L.; RODRIGUES, L. **Gastroenterologia: Guia de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP**. Barueri: Editora manole, p. 49 – 63, 2002.
- CHEN, D.; AIHARA, T.; ZHAO, C.M.; HA°KANSON, R.; OKABE, S. Differentiation of the Gastric Mucosa I. Role of histamine in control of function and integrity of oxyntic mucosa: understanding gastric physiology through disruption of targeted genes. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 291, p. 539–544, 2006.
- COINTE, P.L. **Amazônia Brasileira III: árvores e plantas úteis**. 2 ed. Rio de Janeiro, Companhia Editora Nacional, 1947.
- CORBETT, C.E. **Plantas Ictiotóxicas, Farmacologia da Rotenona**. Monografia Fac. Méd. Univ. São Paulo, 1940.

- CORDEIRO, E.A.; VALLE, J.R. Ictiotoxicidade comparada da rotenona e do serjanosídeo. **Ciência e Cultura**, v. 27, p. 561, 1975.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Volumes I, II, III, IV, V, VI. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926 – 1978.
- COVER, T.L.; BLASER, M.J. *Helicobacter pylori* infection, a paradigm for chronic mucosal inflammation: pathogenesis and implications for eradication and prevention. **Adv. Intern. Med.**, v. 41, p. 85-117, 1996.
- DAVIDSON, J.R., HUGHES, D., BLAZER, D.G., GEORGE, L.K. Post-traumatic stress disorder in the community: an epidemiologic study. **Psychol. Méd.**, v. 21, p. 713–21, 1991.
- DE LIMA, M.R.F.; LUNA, J.S.; DOS SANTOS, A.F.; DE ANDRADE, M.C.C.; SANT’ANA, A.E.G.; GENET, J.P.; MÁRQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU; N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 105, p. 137-147, 2006.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica**. 2 ed. São Paulo: Editora Unesp, p. 339, 2002.
- EKABO, O.A.; FARNSWORTH, N.R.; HENDERSON, T.O.; MAO, G.; MUKHERJEE, R. Antifungal and molluscicidal saponins from *Serjania salzmanniana*. **J. Nat. Prod.**, v. 59 (4), p. 431-5, 1996.
- ELSANULLAH, R. S.; PAGE, M.C.; TILDESLEY, G.; WOOD, J.R. Prevention of gastroduodenal damage induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: controlled trial of ranitidine. **B.M.J.**, v. 297, p. 1017-21, 1998.
- ERNST, P.B.; GOLD, B.D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 54, p. 615-640, 2000.
- ESPINDOLA, L.S.; VASCONCELOS JUNIOR, J.R.; DE MESQUITA, M.L.; MARQUIÉ, P.; DE PAULA, J.E.; MAMBU, L.; SANTANA, J.M. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. *lingua*. **Planta Med.**, v. 70, p. 1093-1095, 2004.
- FIRENZUOLI, F.; GORI, L. Herbal Medicine Today: Clinical and Research Issues. **Evid. Based Complement. Alternat. Méd.**, v. 4 (1), p. 37–40, 2007.
- FREIRE, M.G.; GOMES, V.M.; CORSINI, R.E.; MACHADO, O.L.T.; DE SIMONE, S.G.; NOVELLO, J.C.; MARANGONI, S.; MACEDO, M.L.R. Isolation and partial characterization of a novel lectin from *Talisia esculenta* seeds that interferes with fungal growth. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 40, p. 61-68, 2002.
- FRIES, J.F.; MILLER, S.R.; SPITZ, P.W.; WILLIAMS, C.A.; HUBERT, H.B.; BLOCH, D.A. Toward an epidemiology of gastropathy associated with nonsteroidal anti-inflammatory drug use. **Gastroenterology**, v. 96, p. 647-55, 1989.

- GABRIEL, S.E.; JAAKKIMAINEN, L.; BOMBARDIER, C. Risk of serious gastrointestinal complications related to use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a meta-analysis. **Ann. Intern. Med.**, v. 115, p. 787-96, 1991.
- GO, M.F. Natural history of *Helicobacter pylori* infection. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 16 (1), p. 3-15, 2002.
- GORIN, A.J.P.; TEIXEIRA, A.Z.A.; TRAVASSOS, R.L.; LABORIAN, S.L.M., LACOMINI, M. Characterization of carbohydrate components of an unusual hydrogel formed by seed coats of *Magnosia pubescens* (Tingui). **Carbohydr. Res.**, v. 286, p. 325-333, 1996.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R.M.B. The diversity of plants. Where is it? Why is it there? What will it become? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 66 (1), p. 205-210, 1994.
- HALLER, H.L.; GOODHUF, L.D.; JONES, H.A. Constituents of Derris and other rotenone bearing plants. **Chem. Rev.**, v. 30, p. 33, 1942.
- HEGNAUER, R. **Chemotaxonomie der Pflanzen IV**. Birkhauser Verlag, Basel, 1973.
- HULL, M.A.; KNIFTON, A.; FILIPOWICZ, B.; BROUGH, J.L.; VAUTIER, G.; HAWKEY, C.J. Healing with basic fibroblast growth factor is associated with reduced indomethacin induced relapse in a human model of gastric ulceration. **Gut**, v. 40, p. 204-210, 1997.
- KO, R.J. Causes, epidemiology, and clinical evaluation of suspected herbal poisoning. **Clin. Toxicol.**, v. 37 (6), p. 697-708, 1999.
- KONTUREK, S.J.; KONTUREK, P.C.; BRZOZOWISKI, T.; KONTUREK, J.W.; PAWLIK, W.W. From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 56, p. 507-30, 2005.
- KRUKOFF, B.A.; SMITH, A.C. Rotenone: Yelding plants of South America. **Am. J. Bot.**, v. 24, p. 573-587, 1937.
- KUIPERS, E.J.; THUIS, J.C.; FESTEN, H.P. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 9 (2), p. 59-69, 1995.
- KUIPERS, E.J. Exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 13, p. 3-12, 1999.
- KUSTERS, J.G.; VAN VLIET, A.H.M.; KUIPERS, E.J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19 (3), p. 449-490, 2006.
- LAINE, L.; COHEN, H.; BRODHEAD, J. Prospective evaluation of immediate versus delayed refeeding and prognostic value of endoscopy in patients with upper gastrointestinal hemorrhage. **Gastroenterology**, v. 102, p. 314-6, 1992.

- LAM, S.K.; SIRCUS, W. Studies on duodenal ulcer I. The clinical evidence for the existence of two populations. **Q. J. Med.**, v. 44, p. 369–87, 1975.
- LAM, S.K. Aetiological factors of peptic ulcer: perspectives of epidemiological observations this century. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 9 (1), p. 93–8, 1994.
- LEVENSTEIN S.; KAPLAN, G.A.; SMITH, M.W. Psychological predictors of peptic ulcer incidence in the Alameda County Study. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 24 (3), p. 140- 6, 1997.
- LEVENSTEIN, S. The Very Model of a Modern Etiology: A Biopsychosocial View of Peptic Ulcer. **Psychosom. Med.**, v. 62, p. 176-82, 2000.
- LYDIARD, R.B.; GREENWALD, S.; WEISSMAN, M.M.; JOHNSON, J.; DROSSMAN, D.A.; BALLENGER, J.C. Panic disorder and gastrointestinal symptoms: findings from the ECA. **Am. J. Psychiatry**, v. 151, p. 64–70, 1994.
- MAHMOUD, I.; MOHARRAN, F.A.; MARZOUK, M.S.; SOLIMAN, H.S.; EL-DIB, R.A. Two new flavonol glycosides from leaves of *Koelreuteria paniculata*. **Die Pharmazie**, v. 56, p. 580-582, 2001.
- MCCOLL, K.E.L.; EL-NUJUMI, A.M.; CHITTAJALLU, R.S.; DAHILL, S.W.; DORRIAN, C.A.; EL-OMAR, E.; PENMAN, I.; FITZSIMONS, E.J.; DRAIN, J.; GRAHAM, H.; ARDILL, J.E.S.; BESSENT, R. A study of the pathogenesis of *Helicobacter pylori* negative chronic duodenal ulceration. **Gut**, v. 34, p. 762–8, 1993.
- MCDADE, T.W.; REYES-GARCIA, V.; BLACLACKINTON, P.; TANNER, S.; HUANCA, T.; LEONARD, W.R. Ethnobotanical knowledge is associated with indices of child health in the Bolivian Amazon. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104 (15), p. 6134-9, 2007.
- MENDONÇA, R.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E.N. Flora vascular do Cerrado. p. 287-556. In: Sano & Almeida (eds.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, Embrapa-CPAC, 1998.
- MESQUITA, M.L.; GRELLIER, P.; BLOND, A.; BROUARD, J.P.; PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S.; MAMBU, L. New ether diglycosides from *Matayba guianensis* with antiplasmodial activity. **Bioorg Med Chem**, v. 13, p. 4499-4506, 2005a.
- MESQUITA, M.L.; DESRIVOT, J.; BORRIES, C.; FOURNET, A.; PAULA, J.E.; GRELLIER, P.; ESPINDOLA, L.S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 783-787, 2005b.
- MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microsc. Res. Tech.**, v. 53, p. 360-371, 2001.
- MINCIS, M. **Gastroenterologia e hepatologia: diagnóstico e tratamento**. 3 ed. São Paulo: Editorial Lemos, 2002.

- NAPOLITANO, D.R.; MINEO, J.R.; DE SOUZA, M.A.; DE PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S.; ESPINDOLA, F.S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. **J. Ethnopharmacol.**, v. 99, p. 37-41, 2005.
- NISBET, L.J.; MOORE, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? **Curr. Opin. Biotechnol.**, v. 8 (6), p. 708-12, 1997.
- ORTEGA, A.; GARCIA, E.P.; CAIDENAS, J.; MANCERA, C.; MARQUINA, S.; GORDUNO, C.I.M.; MALDONADO, E. Methylodonates, a new type of diterpene with modified decalin skeleton from *Dodonea viscosa*. **Tetrahedron**, v. 57, p. 2981-2989, 2001.
- PACHECO, M.T.B.; BIGHETTI, E.; ANTÔNIO, M.; DE CARVALHO, J.E.; ROSALI, C.F.; SGARBIERI, V.C.S. Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. **Rev. Nutri.**, v. 19 (1), p. 47 – 55, 2006.
- POTT, A.; POTT, V. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: Embrapa – SPI, 1994.
- PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R.S.; SILVA, A.P. **Flores e frutos do cerrado**. Ed. UnB, Brasília, 2000.
- RENNÓ, L.R. **Pequeno dicionário etimológico das Famílias Botânicas**. Belo Horizonte: Imprensa da Universidade de Minas Gerais, 1963.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. p. 87-166. In: Sano & Almeida (eds.). **Cerrado: ambiente e flora**. Embrapa Cerrados, Planaltina, 1998.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Williams & Wilkins, p.1-14, 1996.
- RODRIGUES, A.M.S.; DE PAULA, J.E.; DEGALLIER, J.; MOLEZ, J.F.; ESPINDOLA, L.S. Larvicidal activity of some Cerrado Plant extracts against *Aedes aegypti*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 22, p. 314-317, 2006.
- ROGERS, M.P.; WHITE, K.; WARSHAW, M.G.; YONKERS, K.A.; RODRIGUEZ-VILLA, F.; CHANG, G.; KELLER, M.B. Prevalence of medical illness in patients with anxiety disorders. **Int. J. Psychiatry Med.**, v. 24, p. 83–96, 1994.
- ROTTER, J.I.; RIMOIN, D.L. Peptic ulcer disease: a heterogeneous group of disorders? **Gastroenterology**, v. 73, p. 604–7, 1977.
- SATYANARAYANA, M.N. Capsaicin and gastric ulcers. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 46, p. 275–328, 2006.
- SEGAWA, K.; NAKAZAWA, S.; TSUKAMOTO, Y.; KURITA, Y.; GOTO, H.; JUKUI, A.; TAKANO, K. Peptic ulcer is prevalent among shift workers. **Dig. Dis. Sci.**, v. 32, p. 449–53, 1987.

- SILVA, S.R. **Plantas do Cerrado: utilizadas pelas comunidades da região do grande Sertão Veredas**. Brasília: Fundação Pró-Natureza – Funatura, 1998.
- SONNENBERG, A. Factors which influence the incidence and course of peptic ulcer. **Scand. J. Gastroenterol.**, v. 155, p. 119–40, 1988.
- SONNENBERG, A.; SONNENBERG, G.S. Occupational factors in disability pensions for gastric and duodenal ulcer. **J. Occup. Med.**, v. 28, p. 87–90, 1986.
- SPIRO, H.M. Peptic ulcer is not a disease—only a sign. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 9, p. 623–4, 1987.
- SPIRO, H.M. Peptic ulcer: Moynihan’s or Marshall’s disease? **Lancet**, v. 352, p. 645–6, 1998.
- SPTIZER, V. Fatty acid composition of some seed-oils of the Sapindaceae. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1357-1360, 1996.
- TEIXEIRA, J.R.; LAPA A.J.; SOUCCAR C.; VALLE J.R. Timbos: ichthyotoxic plants used by Brazilian Indians. **J. Ethnopharmacol.**, v. 10 (3), p. 311-8, 1984.
- TENNANT, C.; GOULSTON, K.; LANGELUDDECKE, P. Psychological correlates of gastric and duodenal ulcer disease. **Psychol. Med.**, v. 16, p. 365–71, 1986.
- TEORREL, T. On the permeability of the stomach mucosa for acid and some other substances. **J. Gen. Physiol.**, v. 94, p. 308-14, 1940.
- TIBBLE, J.; SIGTHORSSON, G.; CALDWELL, C.; PALMER, R.H.; BJARNASON, I. Effects of NSAIDs on cryoprobe-induced gastric ulcer healing in rats. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 15, p. 2001-8, 2001.
- TUROLLA, M.R.S.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 42 (2), 2006.
- TYLER, V.E. Natural products and medicine: an overview. In: Balick, M.J.; Elisabetsky, E.; Laird, S.A., (eds). **Medicinal resources of the tropical forest, biodiversity and its importance to human health**. New York: Columbia University Press, p.3-10, 1996.
- VAN DER HAM, R. W. J. M.; TOMLIK, A. *Serjania* pollen and the origin of the tribe Paullinieae (Sapindaceae). **Rev. Palaeobot. Palynol.**, v. 83 (1-3), p. 43-53, 1994.
- VELDHUIS, J.D.; IRANMANESH, A. Physiological regulation of the human growth hormone (GH)–insulin-like growth factor type I (IGF-I) axis: predominant impact of age, obesity, gonadal function, and sleep. **Sleep**, v. 19 (10), p. 221–4, 1996.
- VILLEGAS, I.; LA CASA, C.; DE LA LASTRA, C.A.; MOTILVA, V.; HERRERIAS, J.M.; MARTIN, M.J. Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response. **Life Sci.**, v. 74, p. 873-884, 2004.

- VOUTQUENNE, L.; KOUKOUGAN, C.; LAVAND, C.; POUNY, I.; LITAUDON, M.  
Triterpenoid saponins and acylated prosapogenins from *Harpullia austrocaledonica*.  
**Phytochemistry**, v. 59, p. 825-832, 2002.
- WANG, G.Z.; HUANG, G.P.; YIN, G.L.; ZHOU, G.; GUO, C.J.; XIE, C.G.; JIA, B.B.;  
WANG, J.F. Aspirin Can Elicit The Recurrence of Gastric Ulcer Induced with Acetic  
Acid in Rats. **Cell. Physiol. Biochem.**, v. 20, p. 205-212, 2007.
- YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. (orgs.). **Plantas medicinais sob a ótica da Química  
Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001.



O artigo a seguir será submetido ao *Journal of Ethnopharmacology*

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA E TÓXICA DOS  
EXTRATOS METANÓLICO E CLOROFÓRMICO DAS FOLHAS DE *Serjania erecta*  
Radlk (SAPINDACEAE)**

**Ana Paula Nappi Arruda<sup>a</sup>; Catharine Ferrazoli<sup>a</sup>; Roberta Gomes Coelho<sup>b</sup>; Neli Kika  
Honda<sup>b</sup>; Clélia Akiko Hiruma-Lima<sup>a</sup>.**

<sup>a</sup>Departamento de fisiologia, Instituto de biociências, CP 510, CEP 18618-000, UNESP – São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de química, Centro de ciências exata e tecnologia, CP 549, CEP 79070-900, UFMS – Mato Grosso do Sul Federal University, Campo Grande, MS, Brazil

**RESUMO**

A planta *Serjania erecta* Radlk (SAPINDACEAE) é uma espécie presente na região de cerrado e apresenta como indicação popular a utilização de suas folhas para o tratamento de úlcera. A partir destas informações etnofarmacológicas, os extratos metanólico e clorofórmico de suas folhas foram avaliados quanto à sua ação gastroprotetora e tóxica. Os dois extratos não apresentaram atividade tóxica no modelo de toxicidade aguda e em triagem hipocrática em modelos animais *in vivo* e ambos apresentaram atividade gastroprotetora em modelo de indução de úlcera gástrica por etanol absoluto. O extrato clorofórmico (apolar) apresentou maior atividade gastroprotetora do que o extrato metanólico o que instigou a caracterização do mecanismo de ação deste extrato vegetal. Foi constatado que este extrato não apresenta atividade anti-secretória e sua ação gastroprotetora ocorre por envolvimento dos grupamentos sulfidrílicos, via óxido nítrico e também das terminações nervosas sensíveis à capsaicina. A caracterização fitoquímica do extrato metanólico aponta para a presença de saponinas, taninos, flavonóides e terpenos. Já o extrato clorofórmico de *S. erecta* apresenta saponinas, poliisoprenóides, triterpenos, esteróides, esteróides glicosilados e ácidos graxos de cadeia longa.

Palavras chaves: Cerrado; gastroproteção; planta medicinal, Sapindaceae; *Serjania erecta*.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Serjania* pertence à família Sapindaceae e a maioria de suas espécies é encontrada no bioma Cerrado. Segundo Napolitano et al. (2005), a rica flora do Cerrado brasileiro tem sido pobremente estudada para a validação da eficácia e efeitos terapêuticos de extratos brutos ou componentes isolados obtidos de uma ampla gama de famílias botânicas. Extratos brutos, tanto quanto flavonóides isolados de plantas pertencentes à família Sapindaceae, tem sido investigados por suas atividades antiinflamatória e anti-viral.

Sobre os nomes populares e a indicação popular da espécie *Serjania erecta* Radlk, Silva (1998) afirma que seu nome popular é Retrato-de-Teiú. Este nome refere-se à semelhança da folha com o lagarto Teiú que ocorre na região do Cerrado. O chá da folha macerada é usado como regulador menstrual e, além disso, também é extremamente utilizado para lavar ferimento, auxiliando na cicatrização. Segundo Corrêa (1924), esta planta passa por venenosa, ao menos atordoia os peixes e é conhecida popularmente por Cipó de timbó; Timbó bravo; Tururi; Turari. De acordo com Pott & Pott (1994), esta planta é conhecida por cipó-cinco-folhas e apresenta como indicação popular a utilização de suas folhas contra úlcera e a raiz contra pressão alta.

Os objetivos do trabalho foram: avaliar as atividades gastroprotetoras dos extratos metanólico e clorofórmico das folhas de *Serjania erecta* (Se); avaliar a segurança dos extratos através do ensaio de toxicidade aguda e *screening* hipocrático e caracterizar os prováveis mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica do extrato mais efetivo.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Espécie estudada

#### 2.1.1 Coleta

As folhas de *Serjania erecta* foram coletadas na região sul de Cáceres, estado do Mato Grosso, na Fazenda São Lizito, S16 grau 33' 00.7 - W 58 grau 06' 08.9", a 110 metros de altura.

Os coletores e identificadores da planta foram Arnildo Pott e Vali Pott, da Embrapa Gado de Corte de Campo Grande – MS. A exsicata foi depositada no próprio herbário da Embrapa Gado de Corte com o número da coleta: HMS 8355.

### **2.1.2 Preparação dos extratos metanólico e clorofórmico**

As folhas de *Serjania erecta* (180g) foram coletadas e secas à temperatura ambiente. Em seguida, as folhas foram trituradas em liquidificador NKS<sup>®</sup>. O pó resultante foi submetido à maceração em clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>) por 48 horas recipiente hermeticamente fechado e filtrado em papel de filtro. O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador, sob pressão reduzida, fornecendo o extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>). Esse procedimento foi realizado três vezes obtendo-se ao final cerca de 10 gramas de extrato clorofórmico. A torta resultante da extração com CHCl<sub>3</sub> foi submetida à maceração com solvente polar metanol (MeOH) da mesma maneira descrita anteriormente, originando o extrato metanólico de *S. erecta* (SeMeOH) com cerca de 14 gramas. O rendimento final do extrato SeCHCl<sub>3</sub> foi de 5,55 % e o do extrato SeMeOH foi de 7,78 %.

### **2.2 Animais**

Foram utilizados camundongos Swiss machos e fêmeas (30 – 35g) e ratos Wistar albinos machos (150 – 250g) para os experimentos. Eles foram provenientes do Biotério Central da UNESP de Botucatu, aclimatados às condições do biotério setorial por pelo menos sete dias antes da experimentação, sob temperatura de (23 ± 2°C) e ciclo claro-escuro de 12 horas controlados. Os animais foram alimentados com ração Guabi<sup>®</sup> e água *ad libitum*. Os experimentos obedeceram aos protocolos experimentais que foram submetidos e aprovados pelo Comissão de Ética na Experimentação Animal, do Instituto de Biociências da UNESP – Botucatu. O número de animais por grupo experimental variou de 5 a 11 animais por grupo.

## **2.3 Avaliação da atividade farmacológica**

### **2.3.1 Estudo de Toxicidade Aguda e “screening” hipocrático**

Este estudo foi realizado com o intuito de avaliar possíveis efeitos tóxicos agudos dos extratos metanólico e clorofórmico de *Serjania erecta* Radlk. Estes efeitos tóxicos poderiam se apresentar na forma de alterações de comportamento dos animais, na redução do peso corporal, na morte de animais ou na forma de modificações macroscópicas de órgãos vitais como fígado, rins, coração, baço e pulmão.

Foram testados grupos de camundongos (machos e fêmeas), com peso corporal entre 20 e 30 gramas, divididos aleatoriamente para os respectivos grupos de tratamento: Salina ou Tween 80 à 8% (controle) e extratos metanólico e clorofórmico de *Serjania erecta* na dose única de 5000 mg/kg. Os tratamentos foram realizados por via oral (v.o.) e os parâmetros comportamentais observados foram descritos por Malone & Robichaud (1962) e Brito (1994) (anexo 1). Os parâmetros foram analisados aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após a administração dos extratos. Os parâmetros de toxicidade aguda foram monitorados através do registro do número de mortes de animais por grupo. Como parâmetro adicional de toxicidade, o peso dos animais foi monitorado durante 14 dias após o início do experimento e ao final deste período todos os animais foram mortos para análise dos órgãos vitais. Estes foram devidamente pesados, no intuito de se avaliar possíveis alterações morfológicas detectadas macroscopicamente. Outro parâmetro analisado foi o peso relativo dos órgãos, obtidos da razão entre o peso do órgão e peso total do animal transformado em Arcoseno, para adequação estatística.

### **2.3.2 Lesões Ulcerosas**

Para avaliar a atividade antiulcerogênica dos extratos, foram realizados experimentos de indução de úlcera gástrica com base em fatores etiológicos da doença no homem como, por exemplo, acúmulo de suco gástrico e a ingestão de álcool etílico. Cada modelo experimental apresenta os seus respectivos grupos controle positivo (cimetidina, capsaicina ou carbenoxolona) e negativo (salina ou tween 80 à 8%) dependendo da especificidade de cada modelo. Os animais, antes de cada tratamento, foram mantidos em gaiola especial, para evitar coprofagia, sem maravalha e com água *ad libitum*.

Nestes modelos, em seguida à morte dos animais, os estômagos foram retirados e abertos pela curvatura maior. Após este procedimento, eles foram prensados entre placas de vidro transparente e escaneados para medição das áreas ulceradas com a utilização do programa AvSoft Bio View – Espectra.

### **2.3.3 Indução de úlcera por Etanol absoluto**

Este método foi baseado no modelo descrito por Morimoto et al., (1991). Foram utilizados ratos Wistar machos que foram divididos aleatoriamente em grupos para seus respectivos tratamentos (salina ou tween 80 à 8%, carbenoxolona 100 mg/kg e extratos metanólico e clorofórmico nas doses de 15,6; 31,2; 62,5; 125, 250 e 500 mg/kg). Cada tratamento foi administrado por via oral em dose volume de 10 mL/Kg. Decorridos 60 minutos, 1mL do agente lesivo (etanol 99,5%) foi aplicado em todos os animais. Transcorrido mais 1 hora deste tratamento. O pH do suco gástrico foi determinado por fitas de pH (Merck®, Alemanha) e em seguida os estômagos foram abertos ao longo da maior curvatura, prensados entre placas de vidro transparente e escaneados para posterior medição das áreas ulceradas com a utilização do programa AvSoft Bio View – Espectra. A seguir a este modelo foi dada sequência a caracterização dos mecanismos de ação do extrato clorofórmico, pois este se apresentou mais eficiente quando comparado ao extrato metanólico.

## **2.4 Caracterização da ação antiulcerogênica do extrato clorofórmico**

### **2.4.1 Úlceras induzidas pela Ligadura de piloro e avaliação dos parâmetros do suco gástrico**

Baseado no modelo descrito por Shay et al.(1945), onde os parâmetros do suco gástrico foram avaliados sob o efeito do extrato clorofórmico administrado por via oral ou via intraduodenal com o objetivo de avaliar o efeito local ou sistêmico do extrato. Após 24 horas de jejum os ratos, sob anestesia, sofreram uma incisão longitudinal logo abaixo da apófise xifóide para a ligadura do piloro. A administração do extrato clorofórmico de *S. erecta* (250 mg/kg), cimetidina 100 mg/kg (controle positivo) ou tween 80 à 8% (controle negativo), foi realizada logo após a ligadura, por via intraduodenal ou 30 minutos antes nos tratamentos por via oral. A dose do extrato (250 mg/kg) foi utilizada com base nos resultados obtidos nos

experimentos anteriores, por ser considerada a mais efetiva em termos de gastroproteção. Após esse processo as incisões foram suturadas, e após 4 horas os ratos foram mortos por deslocamento cervical e a incisão reaberta. Em seguida foi realizada uma ligadura da cárdia (para preservação do conteúdo gástrico) antes da retirada do estômago. O conteúdo estomacal foi coletado e, em seguida, determinado o volume do suco gástrico, o pH e a concentração de íons hidrogênio na secreção gástrica através de titulação com NaOH 0,01N em bureta digital modelo EM -burete, através da fenolftaleína como indicador. A concentração total de ácido foi expressa em mEq/ml/4h e o pH determinado por fitas de pH (Merck®, Alemanha).

#### **2.4.2 Determinação do papel dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção**

Baseado no método de Matsuda et al. (1999b), ratos Wistar machos permaneceram em jejum por 24 horas. Os animais foram separados em 6 grupos, onde 3 grupos foram pré-tratados com uma injeção intraperitoneal de NEM (N-ethylmaleimida), enquanto os 3 restantes receberam salina pela mesma via. Decorridos 30 minutos, cada grupo experimental recebeu (v.o.) seu tratamento correspondente (tween 80 à 8%, carbenoxolona 100 mg/kg e extrato clorofórmico de *S. erecta* 250 mg/kg). Depois de 60 minutos, os animais receberam um volume fixo de 1mL de etanol absoluto 99,5% (v.o) sendo mortos após 1 hora deste último tratamento. Os estômagos foram retirados e abertos pela grande curvatura, para então suas áreas de lesões serem medidas, como descrito anteriormente.

#### **2.4.3 Determinação do papel do Óxido Nítrico (NO) na gastroproteção**

Baseado no método descrito por Arrieta et al. (2003), ratos Wistar machos em jejum por 24 horas foram divididos em 6 grupos, onde 3 receberam injeção intraperitoneal de L-NAME (N-nitro-L-arginina metil éster), enquanto os outros 3 grupos receberam salina pela mesma via. Após 30 minutos, os grupos receberam administração oral dos respectivos tratamentos (tween 80 a 8%, carbenoxolona 100 mg/kg e extrato clorofórmico de *S. erecta* 250 mg/kg). Após 60 minutos, os animais foram tratados pela via oral com 1mL de etanol absoluto 99,5%. Os animais foram mortos após 1 hora, e os estômagos foram retirados e abertos pela grande curvatura, para então suas áreas de lesões serem medidas, como descrito anteriormente.

#### **2.4.4 Determinação do papel das terminações nervosas sensíveis à Capsaicina na gastroproteção**

Baseado no método de Pongpiriyadacha et al. (2003), ratos Wistar machos permaneceram em jejum por 24 horas. Os animais foram separados em 6 grupos, onde 3 grupos foram pré-tratados com uma injeção intraperitoneal de R.R. (Ruthenium Red), enquanto os 3 restantes receberam salina pela mesma via. Decorridos 30 minutos, cada grupo experimental recebeu (v.o.) seu tratamento correspondente (tween 80 a 8%, capsaicina 4 mg/kg e extrato clorofórmico de *S. erecta* 250 mg/kg). Depois de 60 minutos, os animais receberam um volume fixo de 1mL de etanol absoluto 99,5% (v.o), sendo mortos após 1 hora deste último tratamento. Os estômagos foram retirados e abertos pela grande curvatura, para então suas áreas de lesões serem medidas, como descrito anteriormente.

#### **2.5 Análise Estatística**

Os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  erro padrão da média. Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA) seguida do teste de Dunnett ou Tukey-Kramer quando o número de grupos era maior que 2. No caso da análise entre 2 grupos, o teste utilizou a tratativa de T de Student não pareado (unpaired t test). A significância mínima considerada foi de  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GraphPad InStat® versão 3.00.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Toxicidade Aguda e “screening” hipocrático**

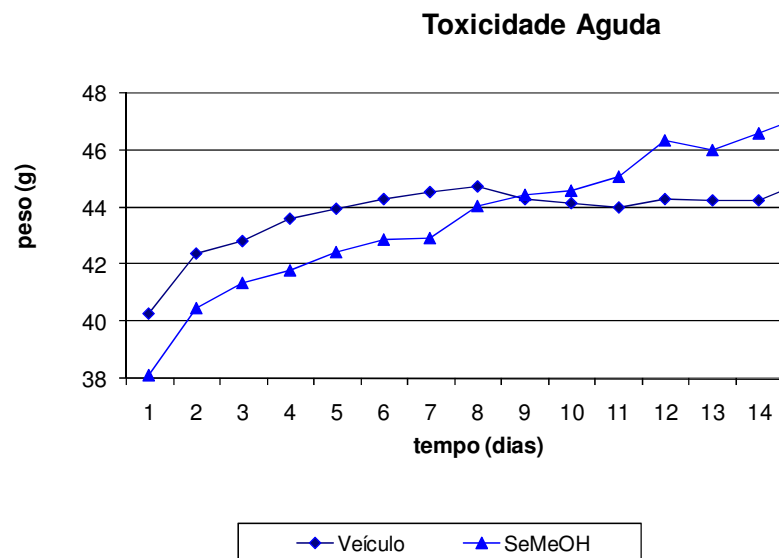
Esta foi uma avaliação estimativa e preliminar das possíveis propriedades tóxicas dos extratos testados, fornecendo informações acerca dos riscos para a saúde resultante de uma exposição de curta duração. Durante o ensaio, os efeitos da dose de 5g/kg foram observados nos camundongos fêmeas e machos para verificação da taxa de mortalidade e comparando-os com seus grupos controle. Além disso, o período de observação é suficientemente longo para avaliar completamente o caráter reversível ou irreversível dos efeitos observados (Brito,

1994). Este teste foi realizado com os dois extratos de *S. erecta*, o metanólico e o clorofórmico.

Sobre o extrato metanólico, este não provocou alterações nos parâmetros comportamentais analisados (dados não apresentados) quando comparados aos animais do grupo controle que receberam somente o veículo (tabela em anexo). O monitoramento diário do peso dos animais também não indicou variação significativa em relação ao grupo controle. Durante o período de observação também não ocorreram mortes de animais (Figuras 1 e 2).

Após a realização da avaliação com T de Student, verificou-se a não existência de diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos tratados com o extrato e os tratados com o controle negativo, tanto para os machos como para as fêmeas (Tabela 1).

**Figura 1 - Evolução do peso corporal (g) de camundongos machos tratados com dose única de 5000 mg/kg do extrato metanólico de *S. erecta* (SeMeOH).**



Varição da média dos pesos (g) dos animais monitorados durante 14 dias. Os pontos representam as médias dos grupos para cada dia de observação.

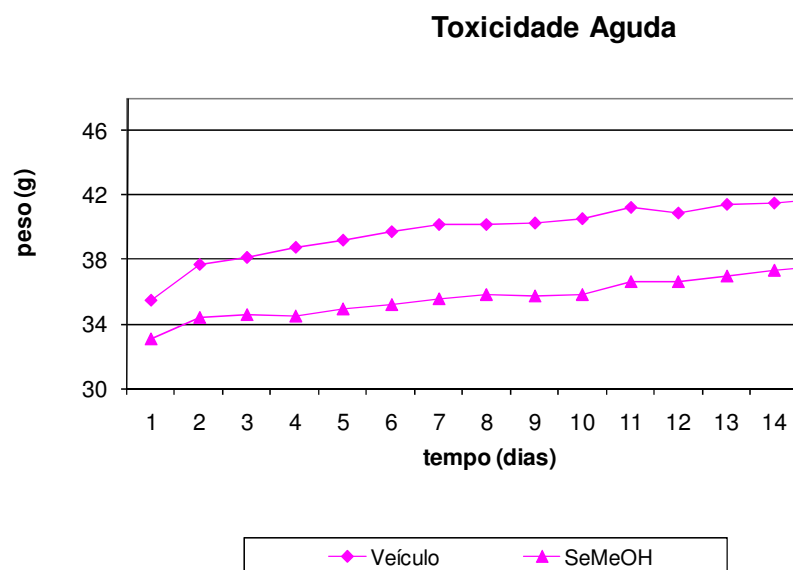


**Tabela 1 – Efeito da administração aguda (5000 mg/Kg) do extrato metanólico de *S. erecta* (SeMeOH) sobre o peso dos órgãos de camundongos machos e fêmeas.**

Sexo	Tratamento (dose)	Fígado	Coração	Pulmões	Rins	Baço
♂	<b>Veículo</b> (10 ml/kg)	13.19 ± 0.22	3.92 ± 0.11	4.89 ± 0.22	6.36 ± 0.11	3.72 ± 0.15
	<b>SeMeOH</b> (5g/kg)	13.80 ± 0.21	3.65 ± 0.05	5.10 ± 0.15	6.20 ± 0.11	3.91 ± 0.06
♀	<b>Veículo</b> (10 ml/kg)	13.36 ± 0.19	3.74 ± 0.14	4.78 ± 0.08	5.76 ± 0.06	4.01 ± 0.13
	<b>SeMeOH</b> (5g/kg)	13.19 ± 0.30	3.80 ± 0.10	4.85 ± 0.22	5.65 ± 0.15	4.22 ± 0.17

Dados da razão do peso dos órgãos dividido pelo peso corpóreo e transformado em arcoseno, valores expressos em média (arcoseno) ± erro padrão da média.

**Figura 2 - Evolução do peso corporal (g) de camundongos fêmeas tratadas com dose única de 5000 mg/kg do extrato metanólico de *S. erecta* (SeMeOH).**

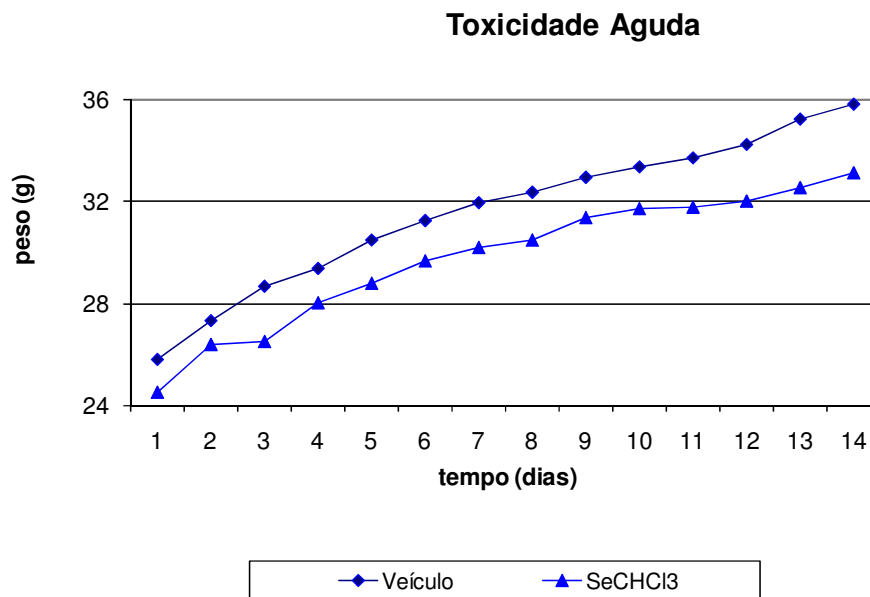


Varição da média dos pesos (g) dos animais monitorados durante 14 dias. Os pontos representam as médias dos grupos para cada dia de observação.

Sobre o extrato clorofórmico, a administração da dose de 5000 mg/kg também não provocou alterações nos parâmetros comportamentais analisados (dados não apresentados) quando comparados aos animais do grupo controle que receberam somente veículo (tabela em anexo). O monitoramento diário do peso dos animais não indicou variação significativa em relação ao grupo controle. Durante o período de observação não ocorreram mortes de animais submetidos ao tratamento (Figuras 3 e 4).

Com relação aos outros parâmetros analisados (o peso relativo dos órgãos), também foram verificados a não existência de diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos tratados com o extrato e os tratados com o veículo, tanto para os machos como para as fêmeas (Tabela 2).

**Figura 3 - Evolução do peso corporal (g) de camundongos machos tratados com dose única de 5000 mg/kg do extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>).**



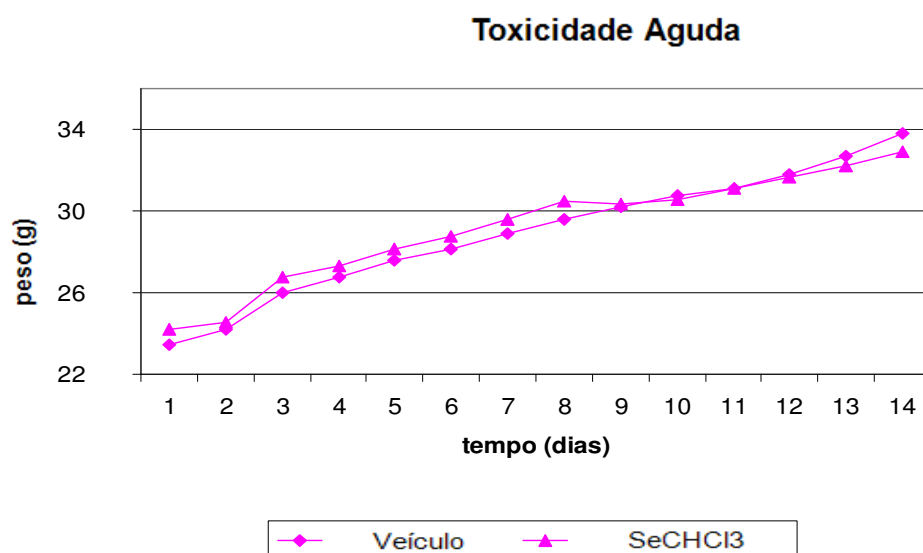
Varição da média dos pesos (g) dos animais monitorados durante 14 dias. Os pontos representam as médias dos grupos para cada dia de observação.

**Tabela 2 – Efeito da administração aguda (5000 mg/Kg) do extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>) sobre o peso dos órgãos de camundongos machos e fêmeas.**

Sexo	Tratamento (dose)	Fígado	Coração	Pulmões	Rins	Baço
♂	<b>Veículo</b> (10 ml/kg)	14.88 ± 0.44	3.75 ± 0.10	5.35 ± 0.34	6.13 ± 0.17	4.22 ± 0.14
	<b>SeCHCl<sub>3</sub></b> (5g/kg)	14.84 ± 0.23	3.95 ± 0.05	5.11 ± 0.14	6.30 ± 0.17	4.37 ± 0.14
♀	<b>Veículo</b> (10 ml/kg)	13.11 ± 0.14	3.98 ± 0.10	4.71 ± 0.07	5.83 ± 0.07	4.02 ± 0.17
	<b>SeCHCl<sub>3</sub></b> (5g/kg)	14.27 ± 0.75	4.07 ± 0.06	4.81 ± 0.17	5.82 ± 0.14	4.19 ± 0.24

Dados da razão do peso dos órgãos dividido pelo peso corpóreo e transformado em arcoseno, valores expressos em média (arcoseno) ± erro padrão da média.

**Figura 4 - Evolução do peso corporal (g) de camundongos fêmeas tratadas com dose única de 5000 mg/kg do extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>).**



Variação da média dos pesos (g) dos animais monitorados durante 14 dias. Os pontos representam as médias dos grupos para cada dia de observação.

Segundo Brito (1994), a extrapolação dos resultados de estudos de efeitos tóxicos para seres humanos, no caso produzido por administração aguda de uma substância em roedores, é internacionalmente aceita, embora não seja considerada como valor absoluto e tampouco dispense a realização de ensaios de tolerância entre seres humanos.

De acordo com Brito (1996), uma dose de 1g/kg de um determinado extrato têm uma correspondência relativa com substâncias isoladas na faixa de 100 mg/kg, como é o caso, por exemplo, da cimetidina. A partir desta afirmação, pode-se concluir que em 5 g/kg haveria um aumento de 5 vezes da concentração dos compostos presentes nos extratos, porém não se pode dizer, que eles não causem efeitos tóxicos em concentrações ainda mais altas.

As substâncias que são denominadas como sendo extremamente tóxicas são aquelas que em doses de microgramas podem produzir mortes. Outras substâncias químicas podem se apresentar relativamente inofensivas em doses de muitas gramas. A partir do fato de que uma grande variedade de concentração de várias substâncias químicas pode estar envolvida com a produção de sinais de intoxicação, foram criadas categorias de toxicidade baseadas na quantidade de agentes químicos necessários para produzir algum tipo de dano a algum organismo vivo. A exemplo desta categorização, podemos observar os dados seguintes (Loomis & Hayes, 1996): extremamente tóxico – (1 mg/kg ou menos); altamente tóxico – (1 a 50 mg/kg); moderadamente tóxico – (50 a 500 mg/kg); levemente tóxico – (0,5 a 5 mg/kg); praticamente não tóxico – (5 a 15 mg/kg); relativamente inofensivo – (mais de 15 mg/kg).

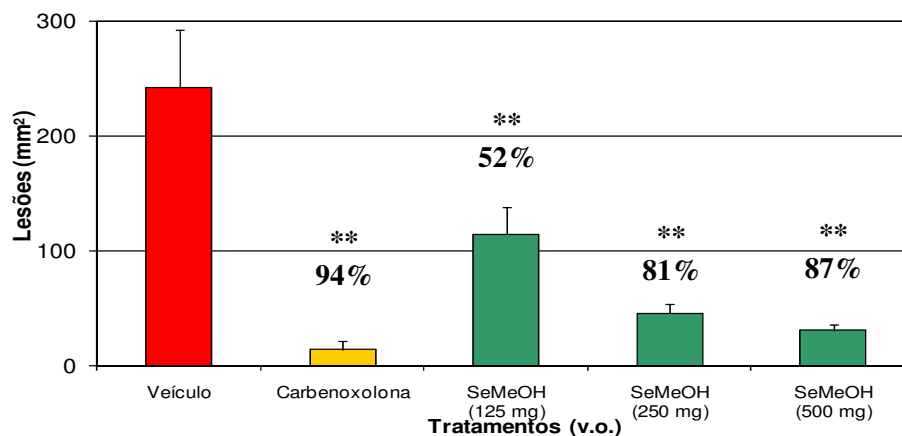
Os extratos metanólico e clorofórmico de *Serjania erecta* não apresentaram efeito tóxico agudo aparente após a administração de 5g/kg nos camundongos em ambos sexos. Para a continuidade dos estudos farmacológicos, foram avaliados tanto fêmeas como machos neste ensaio com o intuito de analisar qualquer tipo de toxicidade relacionada à questão hormonal. Além do fato de nenhum efeito tóxico agudo ter sido observado através dos parâmetros analisados neste trabalho, conforme os dados acima descritos foi possível afirmar que os extratos metanólico e clorofórmico das folhas de *S. erecta* são praticamente não tóxicos.

### **3.2 Indução de úlcera por Etanol absoluto**

Este é o modelo de indução de úlcera mais lesivo utilizado atualmente, portanto, ele apresenta dois papéis bastante importantes: primeiro, ele indica a ação gastroprotetora dos extratos frente a um agente extremamente lesivo, e, segundo, serve de triagem para verificação da dose mais eficiente dos extratos.

Sobre o extrato metanólico de *S. erecta*, foi possível constatar que houve uma significativa atividade gastroprotetora ( $p < 0,01$ ) nas três doses utilizadas, 125 mg/kg (52 %); 250 mg/kg (81 %) e 500 mg/kg (87%) em comparação com o grupo de animais tratados com o veículo (Figura 5). Na avaliação da ação do extrato polar nestas doses todos os tratamentos acidificaram significativamente o suco gástrico (Tabela 3). Também em comparação com os animais tratados somente com o veículo. Com relação às doses menores avaliadas de *S. erecta*, apenas a dose de 62,5 mg/kg apresentou significativa gastroproteção de 59% (Figura 6). Nestas doses, não ocorreram alterações significativas no pH (Tabela 4).

**Figura 5 – Ação do extrato metanólico (doses maiores) de *S. erecta* (SeMeOH) no modelo de indução de úlcera por Etanol absoluto em ratos.**



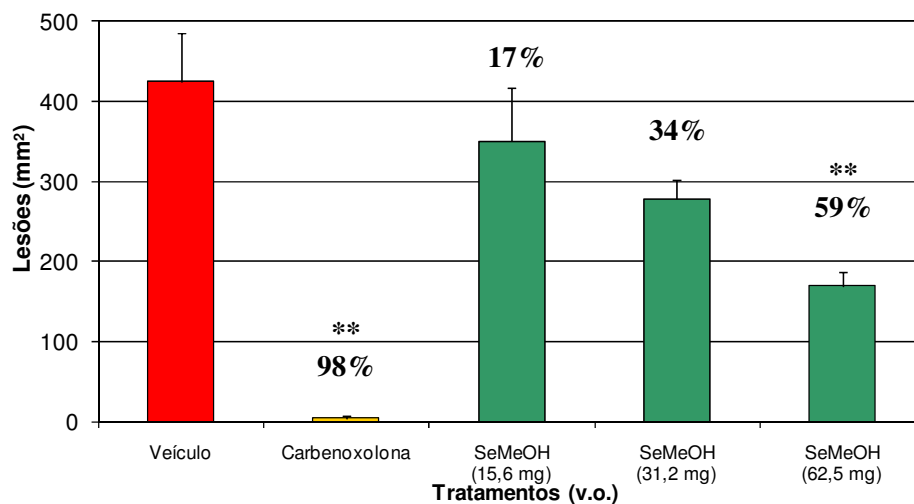
Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett \*\*  $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo salina.

**Tabela 3 – Ação do extrato metanólico no pH do suco gástrico de ratos submetidos ao modelo Etanol absoluto.**

TRATAMENTOS	pH
Veículo	5,14 ± 0,59
Carbenoxolona	3,42 ± 0,20*
Se 125 mg/kg	3,42 ± 0,29*
Se 250 mg/kg	3,57 ± 0,42*
Se 500 mg/kg	3,57 ± 0,36*

Valores expressos em média ± erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett,  $F_{(4,30)} = 3,39$ , \* para  $p < 0,05$  para valores de pH em teste Dunnett.

**Figura 6 – Ação do extrato metanólico (doses menores) de *S. erecta* (SeMeOH) no modelo de indução de úlcera por Etanol absoluto em ratos.**



Valores expressos em média ± erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett \*\*  $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo salina.

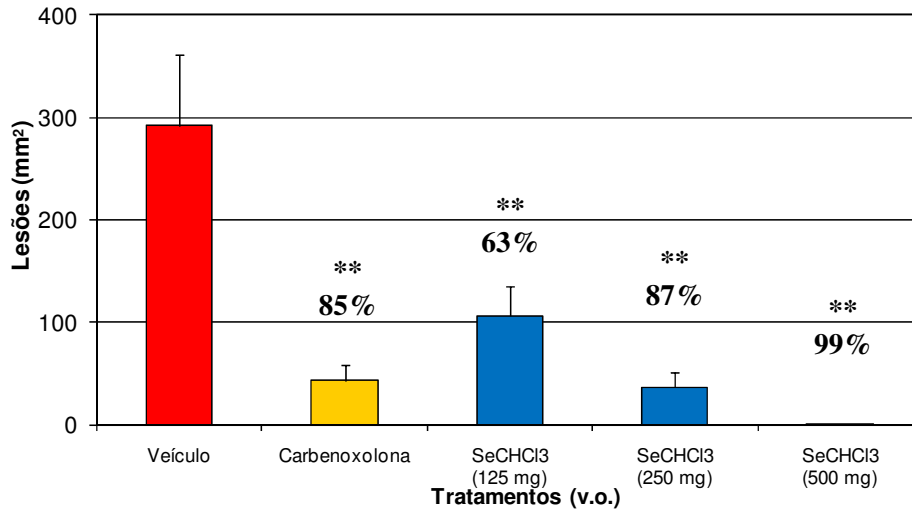
**Tabela 4 – Ação do extrato metanólico no pH do suco gástrico de ratos submetidos ao modelo Etanol absoluto.**

TRATAMENTOS	pH
Veículo	6,60 ± 0,24
Carbenoxolona	4,00 ± 0,70*
Se 15,6 mg/kg	6,00 ± 0,54
Se 31,2 mg/kg	6,20 ± 0,37
Se 62,5 mg/kg	6,20 ± 0,80

Valores expressos em média ± erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett,  $F_{(4,24)} = 3,23$ , \* para  $p < 0,05$  para valores de pH em teste Dunnett.

O extrato clorofórmico de *Serjania erecta* também apresentou significativa ação gastroprotetora ( $p < 0,01$ ) nas três doses utilizadas, 125 mg/kg (63%); 250 mg/kg (87%) e 500 mg/kg (99%) em comparação com os animais tratados com o veículo. Além de que as duas doses maiores mostraram efeito gastroprotetor superior ao controle positivo (carbenoxolona) (Figura 7). Na avaliação da ação do extrato nestas doses sobre o pH (Tabela 5), as doses de 250 e 500 mg/kg acidificaram significativamente o conteúdo gástrico dos animais em relação ao controle negativo. Doses menores do extrato clorofórmico de *S. erecta* também exercem gastroproteção. A dose de 62,5 mg/kg apresentou significativa gastroproteção de 70% (Figura 8). Além disso, as doses de 31,2 e 15,6 mg/kg apresentaram atividade gastroprotetora mediana, porém sem relevância estatística. Nestas doses, não ocorreram alterações nos valores de pH (Tabela 6).

**Figura 7 – Ação do extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>) no modelo de indução de úlcera por Etanol absoluto em ratos.**



Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett \*\*  $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo tween.

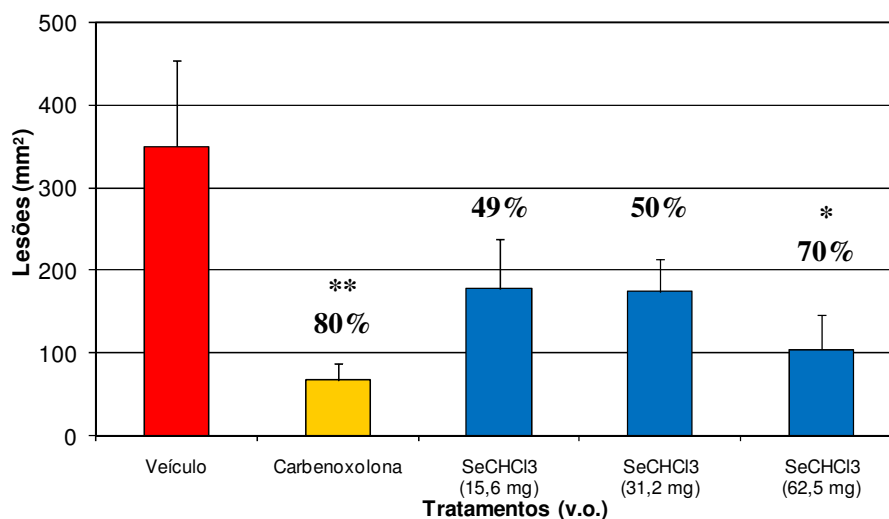
**Tabela 5 – Ação do extrato clorofórmico no pH do suco gástrico de ratos submetidos ao modelo Etanol absoluto.**

TRATAMENTOS	pH
Veículo	5,87 $\pm$ 0,78
Carbenoxolona	4,00 $\pm$ 0,69
Se 125 mg/kg	4,00 $\pm$ 0,37
Se 250 mg/kg	3,50 $\pm$ 0,37*
Se 500 mg/kg	3,44 $\pm$ 0,55*

Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett,  $F_{(4,35)} = 3,00$ ; \* para  $p < 0,05$  para valores de pH em teste Dunnett.



**Figura 8 – Ação do extrato clorofórmico (doses menores) de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>) no modelo de indução de úlcera por Etanol absoluto em ratos.**



Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett \*  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao grupo tween.

**Tabela 6 – Ação do extrato clorofórmico no pH do suco gástrico de ratos submetidos ao modelo Etanol absoluto.**

TRATAMENTOS	pH
<b>Veículo</b>	5,40 $\pm$ 0,81
<b>Carbenoxolona</b>	3,85 $\pm$ 0,26
<b>Se 15,6 mg/kg</b>	4,00 $\pm$ 0,63
<b>Se 31,2 mg/kg</b>	3,71 $\pm$ 0,42
<b>Se 62,5 mg/kg</b>	3,57 $\pm$ 0,71

Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett,  $F_{(4,27)} = 1,38$ ;  $p > 0,05$  para valores de pH em teste Dunnett.

O dano tecidual à mucosa gastrointestinal induzida pela toxicidade aguda e crônica do etanol pode estar associado com a geração de espécies reativas tóxicas que produzem um

desbalanço no processo celular oxidante / antioxidante. O tratamento agudo com etanol sobre a mucosa gástrica induz estresse oxidativo, dano no DNA, aumento na atividade xantina oxidase e nos níveis de malondialdeído e diminuição do conteúdo total de GSH (glutathiona reduzida) nas células da mucosa gástrica (Marotta et al., 1999). Antioxidantes intracelulares como a glutathiona e alfa-tocoferol protegem a mucosa gástrica do estresse oxidativo induzido pelo etanol. Quando o sistema de defesa antioxidante é insuficiente, radicais livres se acumulam causando lesão na membrana da célula, dano oxidativo e morte celular se a injúria persistir (Repetto & Llesuy, 2002).

Outra hipótese proposta para explicar o dano oxidativo induzido por etanol à mucosa gástrica é a vasoconstrição nas veias e artérias da mucosa gástrica, produzindo congestão, inflamação e lesão tecidual. As lesões provocadas pelo etanol dependem da dose administrada e podem ser prevenidas pela prostaglandina tipo E<sub>2</sub>, que inibe a motilidade gástrica e aumenta a secreção de muco (Araki et al., 2000). O muco gástrico protege o epitélio do estômago de espécies reativas de oxigênio *in vitro* (Yoshikawa et al., 1989). Se o muco gástrico é diminuído, a mucosa fica mais suscetível ao dano oxidativo (Giordano et al., 1990).

Os resultados dos extratos das folhas de *S. erecta* anteriormente descritos apresentaram efeito antiulcerogênico que pode estar relacionado à atividade citoprotetora e antioxidante, em vista dos extratos terem apresentado redução significativa da indução de úlcera por etanol.

Durante este ensaio biológico, o pH da solução dos extratos foi determinada e pode-se constatar que o pH era o mesmo, apresentou-se próximo de dois, ou seja, uma solução fortemente ácida. De acordo com Samuelson & Hinkle, (2003), a secreção ácida gástrica é firmemente regulada pelos efeitos estimulatórios da gastrina, histamina e acetilcolina, e pelas ações inibitórias da somatostatina (SST), que agem nos seus respectivos receptores das células parietais. Quando o pH gástrico se torna muito baixo, ocorre um aumento na secreção de SST para inibir não apenas a produção de ácido pelas células parietais, mas também, a secreção de gastrina pelas células G (Berne & Levy, 2000), prevenindo contra a hipergastrinemia que é um dos efeitos colaterais de muitos fármacos antissecretores. Além disso, é sabido que o estômago pode se defender de lesões causadas por uma variedade de agentes fortemente irritantes (ácidos e bases fortes, etc.) e agentes nocivos devido à ativação de algumas linhas de defesa, dentre elas pode-se dizer que as mais importantes são: secreção de muco e bicarbonato; hidrofobicidade da mucosa, microcirculação gástrica; a geração de

prostaglandinas pela mucosa; aumento de componentes sulfidrílicos na mucosa e a secreção de neuropeptídios vasoativos dos nervos sensoriais aferentes (Brzozowski et al., 2005).

Frente a estas afirmações pode-se dizer que além dos extratos apresentarem componentes bioativos gastroprotetores, o pH dos extratos também favorece o efeito antiulcerogênico pela estimulação das linhas de defesa da mucosa gástrica.

Também é interessante ressaltar os resultados excelentes de ambos os extratos em mostrar significativa gastroproteção com o extrato bruto na dose de 62,5 mg/kg, pois isto não costuma ser observado com extratos de planta e sim com frações ou substâncias isoladas.

Na avaliação dos resultados da porcentagem de gastroproteção dos extratos, foi constatado que o extrato clorofórmico se mostrou superior ao metanólico de *S. erecta*. Com o intuito de evidenciar os mecanismos de ação envolvidos na gastroproteção deste extrato, foi realizado o teste estatístico de Tukey entre as doses com as porcentagens de gastroproteção mais altas do extrato clorofórmico e foi constatado que não havia diferença significativa entre as doses de 250 mg/kg e a de 500 mg/kg. A partir desta constatação optou-se pela avaliação dos mecanismos antiulcerogênicos com a dose de 250 mg/kg.

### **3.3 Indução de úlcera por Ligadura de Píloro**

Este modelo permite estudar o efeito do extrato na secreção gástrica e em alguns eventos envolvidos na gastroproteção. Neste método, o conteúdo gástrico acumulado durante quatro horas é avaliado nos itens: volume secretado; pH e acidez total. Os valores da acidez total, expressos em mEq  $[H^+]$  /mL / 4h, não correspondem sempre ao pH, pois as proteínas presentes na secreção podem tamponar parte da acidez (Souccar & Lapa, 1998). As diferenças nas formas de administração do extrato (via oral ou intraduodenal) foram desenvolvidas para a avaliação da atividade antissecretória do extrato por ação local (via oral) ou sistêmica (via intraduodenal).

De acordo com os resultados descritos na tabela abaixo (tabela 7), pode-se observar que  $SeCHCl_3$  (250 mg/kg) alterou de maneira significativa apenas a concentração de  $H^+$  no ensaio com administração via oral, ou seja, o extrato apresentou um efeito local apenas na concentração de  $H^+$ , aumentando esta concentração em relação ao grupo controle negativo. Este dado confirma o resultado do ensaio anterior que evidenciou o efeito do extrato clorofórmico em manter o pH do suco gástrico reduzido.

No caso do controle positivo (cimetidina), verificou-se um efeito inibitório da secreção ácida pela observação conjunta do aumento significativo de pH somado à diminuição da concentração de H<sup>+</sup>, pela via oral. Pela via sistêmica também ocorreu a inibição da secreção ácida que pode ser observada pelo aumento significativo no pH e pela diminuição do volume gástrico. Estes resultados confirmam a efetividade do modelo experimental e descarta a ação antissecretória do extrato clorofórmico de *S. erecta* tanto o administrado oralmente quanto o sistemicamente.

**Tabela 7 – Efeito da administração oral ou intraduodenal do extrato clorofórmico de *Serjania erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>) sobre o pH, volume gástrico e concentração de H<sup>+</sup> no modelo de ligadura de piloro em ratos.**

Via	Tratamentos	[H <sup>+</sup> ] (mEq/ mL/ 4h)	pH (unidade)	Volume conteúdo gástrico (mL)
Oral	Veículo	1,55 ± 0,06	2,12 ± 0,12	4,46 ± 0,43
	Cimetidina (100 mg/kg)	1,22 ± 0,12*	2,75 ± 0,25*	3,31 ± 0,49
	SeCHCl <sub>3</sub> (250 mg/kg)	1,94 ± 0,08*	2,00 ± 0,00	5,97 ± 0,70
Duodenal	Veículo	1,98 ± 0,08	2,00 ± 0,00	4,99 ± 0,80
	Cimetidina (100 mg/kg)	2,29 ± 0,27	5,80 ± 0,54**	2,27 ± 0,23 *
	SeCHCl <sub>3</sub> (250 mg/kg)	2,26 ± 0,16	2,25 ± 0,70	4,91 ± 0,79

Valores expressos em média ± erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett. \*  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$

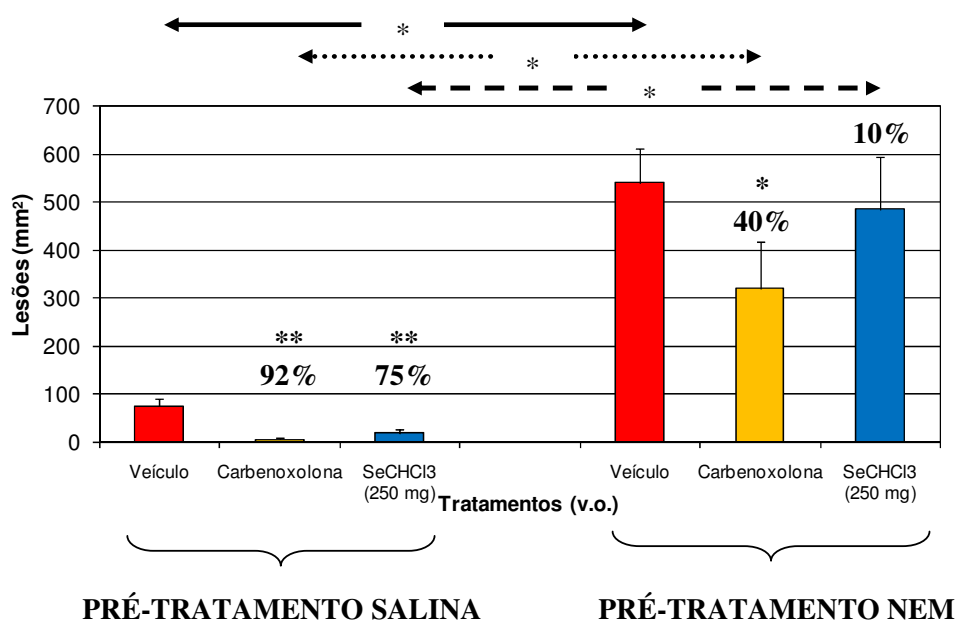
Sabe-se que a ligadura de piloro causa uma hipersecreção gástrica, mas as razões ainda não estão completamente esclarecidas (Andreo et al., 2006). De acordo com Brodie (1966), esta cirurgia causa expansão do estômago, aumentando a pressão nos receptores sensitivos da mucosa antral que ativam o reflexo vagal, aumentando a secreção gástrica. Além disso, após a ligadura de piloro ocorre uma migração de neutrófilos na mucosa sugerindo que estas células podem estar envolvidas nas lesões da mucosa gástrica, possivelmente pela liberação de radicais livres que causam a peroxidação lipídica e danos à membrana celular (Rastogi et al.,

1998). Segundo Saíram et al., (2002) este tipo de indução de úlcera ocorre devido à autodigestão da mucosa gástrica e pelo rompimento da barreira mucosa gástrica.

### 3.4 Determinação do papel dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção

O fármaco NEM apresenta a propriedade de quelar as pontes de dissulfeto que são responsáveis pela manutenção da conformação da barreira mucosa gástrica. Sendo assim, o pré-tratamento com NEM provocou aumento significativo das lesões gástricas em comparação aos grupos pré-tratados com salina (Figura 9). É possível verificar essa diferenciação em termos estatísticos pelas flechas horizontais localizadas na parte superior do gráfico que comparam os pré-tratamentos entre NEM e salina. O tratamento com SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) apresentou uma proteção significativa ( $p < 0,01$ ) ao promover 75% de redução das lesões gástricas no pré-tratamento com salina (i.p.) em comparação com o controle negativo. Nos grupos pré-tratados com NEM, a SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) apresentou uma gastroproteção de 10% em comparação com o controle negativo. Como pode ser observado, a depleção dos grupamentos sulfidrílicos reduziu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) o efeito gastroprotetor pelo tratamento com SeCHCl<sub>3</sub>.

**Figura 9 - Efeito do extrato clorofórmico de *S. erecta* (SeCHCl<sub>3</sub>) frente ao depletor de grupamentos sulfidrílicos endógenos (NEM) em modelo de úlcera induzida por Etanol em ratos.**



Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao respectivo grupo controle negativo (v.o.).

No modelo de indução de úlcera por etanol, o dano provocado à mucosa está associado com um significativo decréscimo nos níveis de compostos sulfidrílicos (SH) da mucosa, como por exemplo, o da glutathiona reduzida (GSH) e o pré-tratamento com bloqueadores de SH reverte a gastroproteção dos compostos sulfidrílicos (Szabo et al., 1981; Szabo & Brown, 1987).

Em adição à proteção da mucosa que é dependente de prostaglandina (Robert, 1979; Robert, 1984) evidências crescentes indicam que a sulfidrila endógena (SH) apresenta um papel importante na manutenção da integridade gastroduodenal e na proteção contra lesões induzidas quimicamente nas células, tecidos e órgãos (Boyd et al., 1981; Szabo et al., 1981; Hoppenkamps et al., 1984). A concentração relativamente alta de sulfidrila não protéica (N-PSH) é encontrada principalmente na forma de glutathiona reduzida (GSH) além de cisteína (CSH), coenzima A e outros tióis na mucosa gástrica, também indicam sua possível implicação na gastroproteção (Miller et al., 1985).

Eventos bioquímicos diferentes como, por exemplo, geração de radicais livres de oxigênio, peroxidação lipídica, o enfraquecimento do metabolismo da prostaglandina ou lesões endoteliais têm sido implicadas na patogênese das lesões agudas da mucosa induzidas quimicamente ou nos danos das células epiteliais (Robert, 1979; Mozsik et al., 1983; Szabo, 1984; Vincze et al., 1989; Szabo, 1991; Hiraishi et al., 1999). Peróxidos lipídicos e os radicais peróxidos da mucosa gástrica podem ser detoxificados pela GSH peroxidase através da formação da glutathiona oxidada (GSSG) a partir da glutathiona reduzida (GSH). Outros estudos revelaram que a diminuição de GSH e o aumento de GSSG na mucosa gástrica, por conseguinte o aumento do estresse oxidativo, pode ser um dos primeiros mecanismos de dano na mucosa (Nagy et al., 2007).

Várias pesquisas encontraram uma significativa diminuição de glutathiona reduzida na mucosa gástrica seguida a agentes químicos como DAINES e acrilonitrila (Szabo, 1981; Strubelt & Hoppenkamps, 1983; Ghanayem et al., 1985; Miller et al., 1985; Stubelt, 1987; Szabo et al., 1989). A depleção aguda de GSH durante a lesão da mucosa gástrica pode ser devido a: (1) direta oxidação de GSH para GSSG; (2) formação de uma associação de

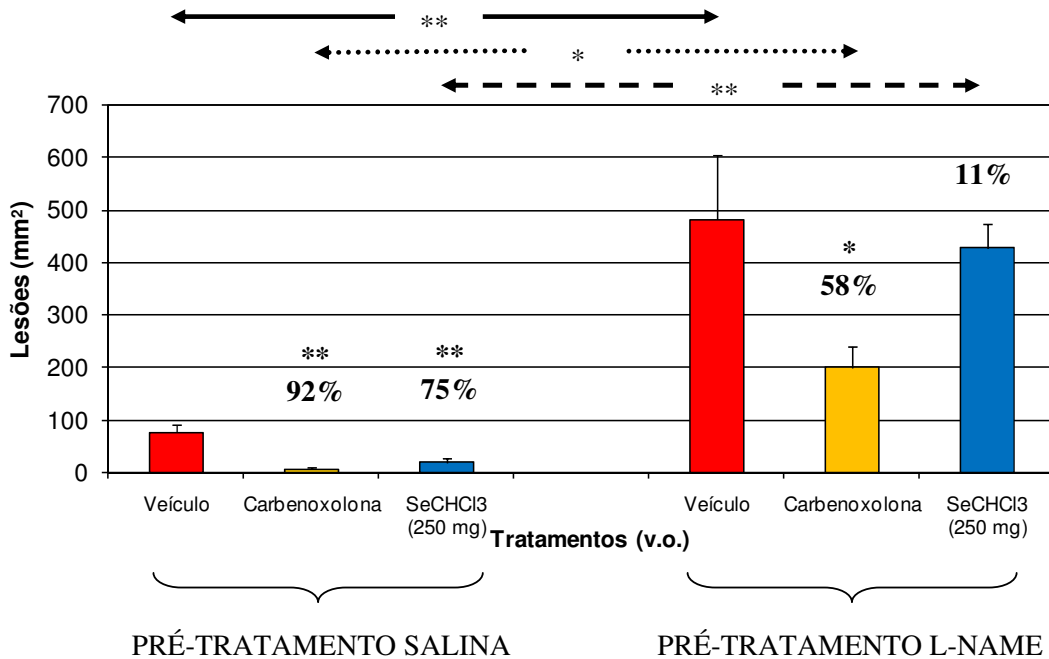
disulfetos com proteína de grupos SH ou cisteína; (3) conjugação não enzimática com GSH (Murphy & Kehrer, 1989).

O tratamento dos animais com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg) promoveu 75% ( $p < 0,01$ ) e 10% ( $p > 0,05$ ) de proteção frente à lesão induzida por etanol, respectivamente para os pré-tratamentos com salina e NEM. O pré-tratamento com NEM promoveu reduções drásticas na gastroproteção, tanto do extrato como do controle positivo efetuado pela carbenoxolona. Estes resultados indicam, portanto, a participação significativa de grupamentos sulfidrílicos na proteção promovida por  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg) no modelo lesão gástrica induzida por etanol.

### **3.5 Determinação do papel do óxido nítrico (NO) na gastroproteção**

Neste modelo, o fármaco L-NAME (inibidor de NO) foi capaz de aumentar a média de lesões gástricas de todos os grupos (veículo, carbenoxolona e  $\text{SeCHCl}_3$ ), em relação aos grupos pré-tratados com salina. É possível verificar essa diferenciação em termos estatísticos pelas flechas horizontais localizadas na parte superior do gráfico que comparam os pré-tratamentos entre salina e L-NAME (Figura 10). O tratamento com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg) apresentou uma proteção significativa ( $p < 0,01$ ) ao promover 75% de redução das lesões no pré-tratamento com salina (i.p.) em comparação com o controle negativo (veículo). Nos grupos dos animais pré-tratados com L-NAME, o tratamento oral com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg) não promoveu gastroproteção na mucosa gástrica dos animais em comparação com os animais tratados com o veículo. Como pode ser observado, o inibidor de NO reduziu de forma significativa o efeito gastroprotetor pelo tratamento com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg).

**Figura 10 - Efeito do extrato de SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) frente ao inibidor de NO endógeno (L-NAME) em modelo de úlcera induzida por Etanol em ratos.**



Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ . Os números percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao respectivo grupo controle negativo (v.o.).

O óxido nítrico (NO) exerce várias ações em comum com as prostaglandinas no trato gastrointestinal (TGI). Eles podem modular a atividade das células imunológicas da mucosa, dos mastócitos, bem como modular as interações dos leucócitos com o endotélio e a permeabilidade do epitélio intestinal (Wallace & Ma, 2001). O NO inibe o recrutamento de neutrófilos para os locais de inflamação e reduz a infiltração destes para a mucosa do trato gastrointestinal e inibidores da síntese de NO intensificam o recrutamento de leucócitos (Kubes & McCafferty, 2000). A propriedade anti-adesiva de NO pode ser sequenciada desta forma: inibição da produção de importantes moléculas pró-inflamatórias, alteração direta da habilidade dos neutrófilos de aderir e inibição da expressão de várias moléculas de adesão (Kubes & McCafferty, 2000). Interessantemente, o bloqueio da síntese de NO resulta em significativas mudanças na função da barreira epitelial intestinal (Kanwar et al., 1994; Kubes, 1992), que poderiam ser inibidas pelos mastócitos estabilizadores ou por receptores



antagonistas da histamina e fator de ativação plaquetária (PAF), sendo que estes dois podem ser secretados pelos mastócitos.

A importância do NO na defesa da mucosa do TGI é bem estabelecida (Wallace & Miller, 2000). Estudos com inibidores seletivos das formas constitutivas de NOS, nNOS e eNOS, têm ajudado a delinear os papéis do NO em vários processos no TGI. As ações de NO sobrepuseram-se consideravelmente aos da prostaglandinas por: modular a atividade das células imunes da mucosa (mastócitos e macrófagos), reduzir as interações adesivas dos leucócitos com o endotélio, modular a circulação sanguínea da mucosa, reduzir a permeabilidade epitelial e estimular a secreção de muco e de bicarbonato (Wallace, 1996). O NO tem provado ser o primeiro neurotransmissor não-adrenérgico e não colinérgico no TGI (Sanders & Ward, 1992). Não surpreendentemente, portanto, a inibição de eNOS e / ou nNOS resulta em distúrbios da circulação sanguínea, da motilidade e da secreção do TGI. O óxido nítrico também contribui para a defesa da mucosa através de sua propriedade citotóxica, uma defesa primária contra as bactérias e parasitas que são ingeridos (Marcinkiewicz et al., 2000).

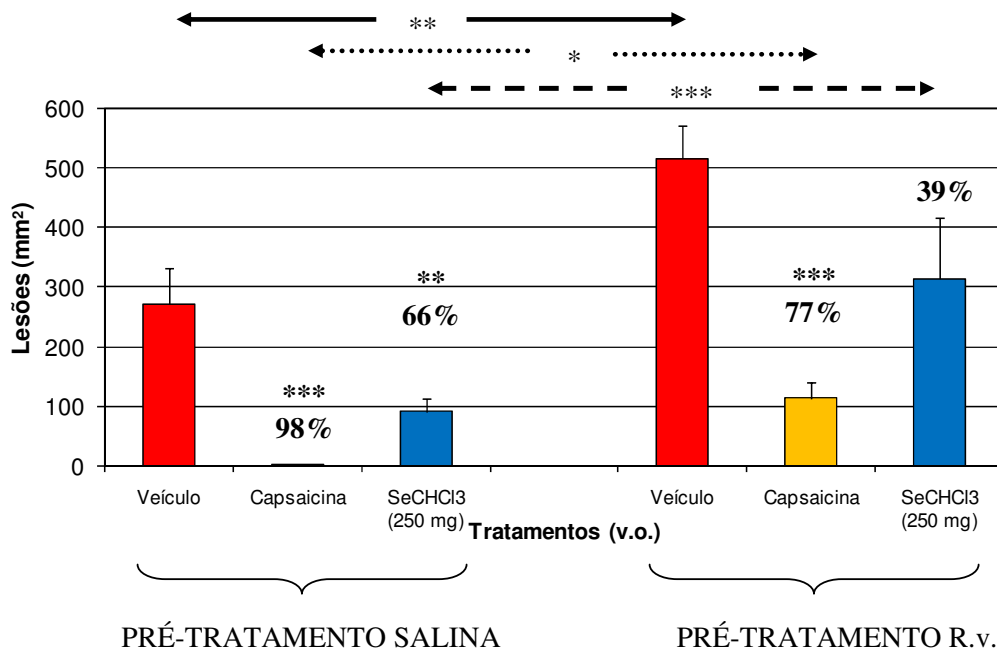
A supressão da síntese de NO no estômago causa à mucosa uma maior susceptibilidade às lesões (Whittle et al., 1990), ao passo que a administração de NO pode proteger o estômago de lesões (Macnaughton et al., 1989). De fato, alguns estudos conduziram ao desenvolvimento de uma série de drogas antiinflamatórias secretoras de NO, com uma ótima redução da toxicidade do TGI em comparação às drogas de mesma origem (Wallace et al., 1994a; Wallace et al., 1994b; Elliott et al., 1995; Wallace et al., 1995). Outro fato relevante é que existem vários trabalhos indicando que as ações protetoras dos neurônios sensitivos da mucosa gástrica são mediados via o aumento da produção de NO (Tepperman & Whittle, 1992; Lambrecht et al., 1993).

O tratamento dos animais com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg), promoveu 75% ( $p < 0,01$ ) e 11% ( $p > 0,05$ ) de proteção frente a lesão induzida por etanol, respectivamente para os pré-tratamentos com salina e L-NAME. O pré-tratamento com L-NAME promoveu reduções drásticas na gastroproteção, tanto do extrato como do controle positivo efetuado pela carbenoxolona. Estes resultados indicam, portanto, que também existe a efetiva proteção ( $p < 0,01$ ) do óxido nítrico promovida por  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg) no modelo lesão gástrica induzida por etanol.

### 3.6 Determinação do papel dos neurônios sensoriais sensíveis à capsaicina na gastroproteção

Neste modelo, o fármaco Rutênio vermelho (antagonista da capsaicina) foi capaz de aumentar a média de lesões gástricas de todos os grupos (veículo, capsaicina e SeCHCl<sub>3</sub>), em relação aos grupos pré-tratados com salina. É possível verificar essa diferenciação em termos estatísticos pelas flechas horizontais localizadas na parte superior do gráfico que comparam os pré-tratamentos entre salina e Rutênio vermelho (R.v.) (Figura 11). O tratamento com SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) apresentou uma proteção significativa ( $p < 0,01$ ) ao promover 66% de redução das lesões no pré-tratamento com salina (i.p.) em comparação com o controle negativo (veículo). Nos grupos pré-tratados com R.v., a SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) apresentou gastroproteção de 39% em comparação com o controle negativo. Como pode ser observado, o antagonista da capsaicina reduziu de forma significativa ( $p < 0,001$ ) o efeito gastroprotetor pelo tratamento com SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg).

**Figura 11 - Efeito do extrato de SeCHCl<sub>3</sub> (250 mg/kg) frente ao antagonista da capsaicina (Rutênio vermelho) em modelo de úlcera induzida por Etanol em ratos.**



Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Análise estatística entre os grupos: ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ . Os números

percentuais indicam a porcentagem de proteção em relação ao respectivo grupo controle negativo (v.o.).

Uma noção prevalente na população da Índia e talvez de outros países é a de que o consumo em excesso de pimenta vermelha comumente conhecida por “*chilli*” causa úlcera gástrica pela ação irritante e pela provável ação secretora de ácido. A pimenta vermelha ou “capsaicina” seu princípio ativo, tem sido vista como um dos fatores etiológicos de desordens nos países onde são consumidas (Limlomwongse et al., 1979). Estudos detalhados têm revelado os efeitos protetores da capsaicina em inibir a estimulação da secreção ácida, promover a secreção alcalina e de muco e, principalmente, a retirada de ácido do estômago pela estimulação da circulação sanguínea da mucosa gástrica que é o processo crucial da defesa, reparação e proteção contra lesões induzidas por agentes nocivos (Satyanarayana, 2006).

Recentemente, descobriu-se que as fibras nervosas extrínsecas aferentes da mucosa gástrica apresentam um importante papel na resistência da própria mucosa frente a lesões. Estas fibras extrínsecas aferentes que suprem o estômago surgem de duas fontes distintas: os neurônios sensoriais espinhais que apresentam seus corpos celulares no gânglio da raiz dorsal e alcançam o estômago via os nervos esplênico e mesentérico, e as fibras aferentes dos nervos vagos que se originam dos corpos celulares dos gânglios nodoso e jugular. As fibras nervosas aferentes são particularmente abundantes ao redor da irrigação arterial e arteriolar da mucosa gástrica. Os neurônios espinhais aferentes contém peptídeos bioativos, incluindo o peptídeo relacionado geneticamente à calcitonina (CGRP), as taquicininas, substância P (SP) e a neuroquinina A (NK). Os neurônios aferentes extrínsecos são não mielinizados ou finamente mielinizados e são ativados seletivamente pela capsaicina. Além disso, a capsaicina em baixas doses estimula a atividade das fibras nervosas aferentes, já em altas doses, causa degeneração dos nervos aferentes em ratos neonatais ou disfunções de longa duração em ratos adultos (Peskar, 2001).

Estas fibras nervosas aferentes são estimuladas através do receptor vanilóide 1 (VR1) por meio de três agonistas conhecidos que são: a capsaicina, a resiniferatoxina e a piperina. Suas funções são de proteger a mucosa gástrica contra as úlceras gástricas em paralelo com suas potentes estimulações sensoriais (Szallasi et al., 1996; Szolcsányi & Barthó, 2001).

Os receptores vanilóides da mucosa gastrointestinal estão envolvidos na regulação da motilidade gástrica, secreção ácida, aumento na circulação sanguínea gástrica através da ação

do peptídeo relacionado geneticamente a calcitonina, estimulação da secreção de bicarbonato e muco ou manutenção da integridade da mucosa na presença de substâncias nocivas (Pongpiriyadacha et al., 2003).

O tratamento dos animais com  $\text{SeCHCl}_3$  (250 mg/kg), promoveu 66% ( $p < 0,01$ ) e 39% ( $p > 0,05$ ) de proteção frente à lesão induzida por etanol, respectivamente para os pré-tratamentos com salina e R.v. O pré-tratamento com R.v. promoveu reduções drásticas na gastroproteção, tanto do extrato como do controle positivo efetuado pela capsaicina. Estes resultados indicam, portanto, a participação significativa ( $p < 0,001$ ) do extrato na gastroproteção através da interação com as terminações nervosas sensíveis à capsaicina via VR 1.

### **3.7 Determinação do papel da fitoquímica dos extratos na gastroproteção**

Foi realizada a determinação do perfil fitoquímico dos extratos metanólico e clorofórmico. No extrato metanólico foram encontrados: terpenos, saponinas, flavonóides e taninos, sendo que os compostos majoritários são os flavonóides e taninos. No extrato clorofórmico foram encontrados: esteróides, glicosídeos esteróides, triterpenos, saponinas, poliisoprenóides e ácidos graxos de cadeia longa, sendo que os compostos majoritários são os poliisoprenóides. Os dois extratos apresentaram um constituinte em comum, as saponinas.

As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos, sua estrutura determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes. Apesar de existir uma dificuldade na elucidação estrutural destes compostos, eles têm sido de grande interesse farmacêutico, seja como adjuvante em formulações, como componente ativo em drogas vegetais ou como matéria-prima para síntese de esteróides (Simões et al., 1999). Algumas saponinas mostraram um potente efeito gastroprotetor (Yoshikawa, 2000), e, além disso, já foram descobertas saponinas ativas que inibem o esvaziamento gástrico e a absorção de glicose pelo intestino delgado (Matsuda et al., 1998; Matsuda et al., 1999a). Como substâncias isoladas, são poucas as saponinas utilizadas, destacando-se a glicirrizina e o seu derivado hemi-succinato sódico do ácido glicirrético, conhecido como carbenoxolona (Simões et al., 1999).

Sobre o extrato metanólico e alguns de seus constituintes (taninos e flavonóides), os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água, porém apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas. Estes compostos

têm grande importância, pois são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e outros produtos vegetais (Simões et al., 1999). Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diversas moléstias, como: diarreia, reumatismo, feridas, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e processos inflamatórios em geral (Haslam, 1996). Os taninos ajudam no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada. Debaixo dessa camada, ocorre o processo natural de cura. Provavelmente, um processo similar ocorre nos casos de úlcera gástrica, em que uma camada de tanino-proteína complexados protege a mucosa do estômago (Haslam, 1989).

Já os flavonóides, constituem uma importante classe de polifenóis que está presente com relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais (Simões et al., 1999). Extratos de polifenóis que contêm flavonóides foram testados em modelo de indução de úlcera com ácido acético e descobriu-se que eles potencializam a cicatrização das úlceras crônicas (gástrica e duodenal) e sua ação se dá provavelmente através do aumento dos níveis de prostaglandinas da mucosa (Konturek et al., 1986; Konturek et al., 1987). Atividade antioxidante também foi observada em extratos contendo flavonóides (Larson, 1998; Ohshima et al., 1998; Gonzalez & Di Stasi, 2002).

A respeito dos poliisoprenóides encontrados no extrato clorofórmico, uma nova função celular tem-lhe sido atribuída recentemente, a proteção das membranas celulares contra a peroxidação (Swiezewska & Danikiewicz, 2005). De acordo com esta sugestão, o poliisoprenóide pode constituir uma proteção contra as espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas pela luz UV ou por agentes químicos (Korohoda et al., 1980).

Sobre os terpenos do extrato metanólico e os triterpenos do extrato clorofórmico, a classe dos terpenóides, que inclui os triterpenos, também apresenta importância significativa na busca por novos compostos com atividade antiulcerogênica (Astudillo et al., 2002; Rodríguez et al., 2003). Uma revisão sobre fármacos antiulcerogênicos oriundos de plantas mostrou que os triterpenos são componentes com atividade antiulcerogênica em potencial, em função de sua habilidade de fortalecer os fatores defensivos como a estimulação ou manutenção da síntese de prostaglandinas em altos níveis. (Lewis & Hanson, 1991). Além disso, também foi descrita a atividade antioxidante para alguns triterpenos (Andrikopoulos et al., 2003).

Confirmando os dados descritos acima, segundo Lewis & Hanson (1991), as saponinas, os taninos, os triterpenóides, e os flavonóides são referenciados como componentes antiulcerogênicos que, neste caso em conjunto com os poliisoprenóides, podem ser os responsáveis pela ação antiulcerogênica de *Serjania erecta*.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho corroboram a indicação popular para a utilização das folhas de *Serjania erecta* Radlk (SAPINDACEAE) no tratamento da úlcera gástrica, pois ambos os extratos (polar e apolar) apresentaram atividade gastroprotetora frente ao indutor mais lesivo de úlcera gástrica (etanol absoluto) e não apresentaram atividade tóxica no modelo de toxicidade aguda e screening hipocrático. A atividade gastroprotetora de ambos os extratos, clorofórmico e metanólico, se mostrou altamente eficaz mesmo para pequenas doses, como a de 70 mg/kg, resultado este raramente observado em extratos brutos.

Para o extrato clorofórmico, os resultados apresentados demonstram que seu mecanismo de ação se dá através dos grupamentos sulfidrílicos, do óxido nítrico e da estimulação das terminações nervosas sensíveis à capsaicina. Os componentes do extrato que provavelmente estão envolvidos com a ação gastroprotetora são: as saponinas e os triterpenos. Adicionalmente, o extrato clorofórmico não apresentou atividade anti-secretória.

Para o extrato metanólico, por sua vez, os componentes que provavelmente estão relacionados com a atividade gastroprotetora são: as saponinas, os taninos, os flavonóides e os terpenos.

Em vista dos resultados apresentados neste trabalho, recomenda-se, fortemente, a continuidade dos estudos com os extratos da planta *Serjania erecta* voltados para a atividade gastroprotetora. A frente de trabalho proposta é a elaboração de ensaios que permitam avaliar quais os componentes fitoquímicos dos extratos polar e apolar que estão envolvidos na atividade antiulcerogênica. Para tanto, as substâncias deverão ser testadas isoladamente e em conjunto para determinação dos resultados mais significativos para esta atividade.

A continuidade dos estudos com a espécie *Serjania erecta* permitirá avaliações adicionais que poderão levá-la a se tornar matéria-prima de medicamentos disponíveis no mercado nas formas de fitofármacos ou fitoterápicos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHILA, A., RANI, K. Chemistry of the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss.). **Fortschr. Chem. Org. Naturst.**, v. 78, p. 47-149, 1999.
- ANDRIKOPOULOS, N.K., KALIORA, A.C., ASSIMOPOLOU, N.A., PAPAPEORGIU, V.P. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation. **Phytother. Res.**, v. 7, p. 501– 507, 2003.
- ANDREO, M.A., BALLESTEROS, K.V.R., HIRUMA-LIMA, C.A., DA ROCHA, L.R.M., BRITO, A.R.M.S., VILEGAS, W. Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **J. Ethnopharmacol.**, v. 54, p. 131-138, 2006.
- ARAKI, H., UKAWA, H., SUGAWA, Y., YAGI, K., TAKEUCHI, K. The roles of prostaglandin E receptor subtypes in the cytoprotective action of prostglandin E<sub>2</sub> in rat stomach. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 14 (1), p. 116-124, 2000.
- ARRIETA, J., BENITEZ, J., FLORES, E., CASTILHO, C., NAVARRETE, A. Purification of gastroprotective triterpenoids from stem bark of *Amphipterygium adstringens*; roles of prostaglandins, sulphidryls, nitric oxide and capsaicin neurons. **Planta Med.**, v. 69, p. 905-909, 2003.
- BAGCHI, D., RAY, S.D., BAGCHI, M., PREUSS, H.G., STOHS, S.J. Mechanistic pathways of antioxidant cytoprotection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 40(6), p. 717-726, 2002.
- BERNE, R. M., LEVY, M. N. **Principles of Physiology**. 3 ed. Philadelphia: Mosby, 2000.
- BOYD, S.C., SASAME, H.A., BOYD, M.R. Gastric glutathione depletion and acute ulcerogenesis by diethylmaleate given subcutaneously to rats. **Life Sci.**, v. 28, p. 2987-2992, 1981.
- BRITO, A.R.M.S. **Manual de ensaios toxicológicos in vivo**. Ed. Unicamp Campinas, p. 11 - 15, 1994.
- BRITO, A.R.M.S. How do study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. **J. Ethnopharmacol.**, v. 54, p. 131-138, 1996.
- BRODIE, D.A. The mechanism of gastric hyperacidity produced by pylorus ligation in the rat. **Am. J. Dig. Dis.**, v. 11, p. 231- 241, 1966.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Volumes I, II, III, IV, V, VI. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926 – 1978.
- ELLIOTT, S.N., MCKNIGHT, W., CIRINO, G., WALLACE, J.L. A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats. **Gastroenterology**, v. 109, p. 524–530, 1995.

- GHANAYEM, B.I., BOOR, P.J., AHMED, A.E. Acrylonitrile-induced gastric mucosal necrosis: role of gastric glutathione. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 232, p. 570-577, 1985.
- GIORDANO, O., GUERREIRO, E., PESTCHANKER, M., GUZMÁN, J., PASTOR, D., GUARDIA, T. The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. **J. Nat. Prod.**, v. 53, p. 803-809, 1990.
- HASLAM, E. **Plant polyphenols**. Cambridge: Cambridge University, 1989.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible mode of action. **J. Nat. Prod.**, v. 59, p. 205-215, 1996.
- HIRAISHI, H., SHIMADA, T., IVEY, K.J., TERANO, A. Role of antioxidant defenses against ethanol-induced damage in cultured rat gastric epithelial cells. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 289, p. 103-109, 1999.
- HOPPENKAMPS, R., THIES, E., YOUNES, M., SIEGERS, C.P. Glutathione and GSH-dependent enzymes in the human gastric mucosa. **Klin Wochenschr**, v. 62, p. 183-186, 1984.
- KANWAR, S., WALLACE, J.L., BEFUS, D., KUBES, P. Nitric oxide synthesis inhibition increases epithelial permeability via mast cells. **Am. J. Physiol.**, v. 266, p. 222-229, 1994.
- KONTUREK, S.J., RADECKI, T., BRZOZOWSKI, T., DROZDOWICZ, D., PIASTUCKI, I., MURAMATSU, M., TANAKA, M., AIHARA, H. Anti-ulcer and gastroprotective effect of Solon, a synthetic flavonoids derivative of sophoradin. Role of endogenous prostaglandins. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 21, p. 6-10, 1986.
- KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, T., DROZDOWICZ, D., PAWLICK, W., SENDUR, R. Gastroprotective and ulcer healing effects of solon, a synthetic flavonoid derivative of Sophoradin. **Hepato-Gastroenterol.**, v. 34, p. 164-170, 1987.
- KOROHODA, W., STANISZ, J., STANISZ, A., CHOJNACKI, T., PALAMARCZYK, G., RADOMINSKA-PYREK, A. Induction of an attachment and spreading on glass of Ehrlich ascites tumor cells by alpha-saturated polyprenols. **Eur. J. Cell Biol.**, v. 21, p. 239-43, 1980.
- KUBES, P., MCAFFERTY, D. M. Nitric oxide and intestinal inflammation. **Am. J. Med.**, v. 109, p. 150-158, 2000.
- KUBES, P. Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. **Am. J. Physiol.**, v. 262, p. 1138-1142, 1992.
- KYOGOKU, K., HATAYAMA, K., YOKOMORI, S., SAZIKI, R., NAKANE, S., SASAJIMA, M., SAWADA, J., OHZEKI, M., TANAKA, I. Anti-ulcer effect of isoprenyl flavonoids. II. Synthesis and anti-ulcer activity of new chalcones related to sophoradin. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 27, p. 2943-2952, 1979.



- LAMBRECHT, N., BURCHERT, M., RESPONDEK, M., MULLER, K.M., PESKAR, B.M. Role of calcitonin gene-related peptide and nitric oxide in the gastroprotective effect of capsaicin in the rat. **Gastroenterology**, v. 104, p. 1371–1380, 1993.
- LIMLOMWONGSE, L.; CHAITAUCHAWONG, C.; TONGYAI, S. Effect of capsaicin on gastric acid secretion and mucosal blood flow in the rat. **J. Nutr.**, v. 109, p. 773–777, 1979.
- LEWIS, D.A., HANSON, P.J. Anti-ulcer drugs of plant origin. In: Ellis, G.P., West, G.B. (Eds.), **Progress in Medicinal Chemistry**, vol. 28. Elsevier Science Publishers, p. 201–231, 1991.
- LOOMIS, T.A., HAYES, A.W. **Loomis's essentials of toxicology**. 4 ed. Academic press limited: London, p. 17 – 30, 1996.
- MACNAUGHTON, W.K., CIRINO, G., WALLACE, J.L. Endothelium-derived relaxing factor (nitric oxide) has protective actions in the stomach. **Life Sci.**, v. 45, p. 1869–1876, 1989.
- MALONE, M.H., ROBICHAUD, R.C. A hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, v. 25, p. 320-322, 1962.
- MARCINKIEWICZ, J., CHAIN, B., NOWAK, B., GRABOWSKA, A., BRYNIARSKI, K., BARAN, J. Antimicrobial and cytotoxic activity of hypochlorous acid: interactions with taurine and nitrite. **Inflamm. Res.**, v. 49, p. 280–289, 2000.
- MAROTTA, F., TAJIRI, H., SAFRAN, P., FESCE, E., IDEO, G. Ethanol related gastric mucosal damage: evidence of a free radical-mediated mechanism and beneficial effect of oral supplementation with bionormalizer, a novel natural antioxidant. **Digestion**, v. 60 (6), p. 538-543, 1999.
- MATSUDA H., LI Y., MURAKAMI, T., MATSUMURA, N., YAMAHARA, J., YOSHIKAWA, M. Antidiabetic principles of natural medicines. III. Structure-related inhibitory activity and action mode of oleanolic acid glycosides on hypoglycemic activity. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 46, p. 1399—1403, 1998.
- MATSUDA, H.; LI, Y.; YAMAHARA, J.; YOSHIKAWA, M. Inhibition of gastric emptying by triterpene saponin, momordin Ic, in mice: roles of blood glucose, capsaicin-sensitive sensory nerves, and central nervous system. **J. Pharmacol. Exper. Ther.**, v. 289, p. 729— 734, 1999a.
- MATSUDA, H., LI, Y., YOSHIKAWA, M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by mormodin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. **Life Sci.**, v. 65, p. 27-32, 1999b.
- MILLER, T.A., LI, D., KUO, Y.J., SCHMIDT, K.L., SHANBOUR, L.L. Nonprotein sulfhydryl compounds in canine gastric mucosa: effects of PGE2 and ethanol. **Am. J. Physiol.**, v. 249, p. 137-144, 1985.

- MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO, K. Effects of the new antiulcer agent kb-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of terpenone and cimetidine. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 57, p. 495-505, 1991.
- MOZSIK, G., MORON, F., FIEGLER, M., JAVOR, T., NAGY, L., PATTY, I., TARNOK, F. Interrelationships between membrane-bound ATP-dependent energy systems, gastric mucosal damage produced by NaOH, hypertonic NaCl, HCl, and alcohol, and prostacyclin-induced gastric cytoprotection in rats. **Prostaglandins Leukot. Méd.**, v. 12, p. 423-436, 1983.
- MURPHY, M.E., KEHRER, J.P. Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy. **Biochem. J.**, v. 260, p. 359-364, 1989.
- NAGY, L., NAGATA, M., SZABO, S. Protein and non-protein sulfhydryls and disulfides in gastric mucosa and liver after gastrototoxic chemicals and sucralfate: Possible new targets of pharmacologic agents. **World J. Gastroenterol.**, v. 13(14), p. 2053-2060, 2007.
- NAPOLITANO, D.R., MINEO, J.R., DE SOUZA, M.A., DE PAULA, J.E., ESPINDOLA, L.S., ESPINDOLA, F.S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. **J. Ethnopharmacol.**, v. 99, p. 37-41, 2005.
- PESKAR, B.M. Neural aspects of prostaglandin involvement in gastric mucosal defense. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 52 (4), p. 555-68, 2001.
- PONGPIRIYADACHA, Y., MATSUDA, H., MORIKAWA, T., ASAO, Y., YOSHIKAWA, M. Protective effects of polygodial on gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents in rats and the possible mechanisms of action. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26 (5), p. 651-7, 2003.
- POTT, A., POTT, V. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: Embrapa – SPI, 1994.
- RASTOGI, L., PATNAIK, G.K., DIKSHIT, M. Free radicals and antioxidant status following pylorus ligation induced gastric mucosal injury in rats. **Pharmacol. Res.**, v. 38, p. 125-132, 1998.
- REPETTO, M.G., LLESUY, S.F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 35 (5), p. 523-534, 2002.
- ROBERT, A. Cytoprotection by prostaglandins. **Gastroenterology**, v. 77, p. 761-767, 1979.
- ROBERT, A., EBERLE, D., KAPLOWITZ, N. Role of glutathione in gastric mucosal cytoprotection. **Am. J. Physiol.**, v. 247, p. 296-304, 1984.
- SAIRAM, K., RAO, CH.V., BABU, M.D., KUMAR, V., AGRAWAL, V.K., GOEL, R.K. Antiulcerogenic activity of methanolic extract of *Emblica officinalis*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 82, p. 1-9, 2002.

- SAMUELSON, L. C., HINKLE, K. L. Insights into the regulation of gastric acid secretion through analysis of genetically engineered mice. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 65, p. 383 -400, 2003.
- SANDERS, K.M., WARD, S.M. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. **Am. J. Physiol.**, v. 262, p. 379-392, 1992.
- SATYANARAYANA, M.N. Capsaicin and gastric ulcers. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 46, p. 275-328, 2006.
- SHAY, H., KOMAROV, S.A., FELS, S.S., MERANZE, D., GRUENSTEIN, M., SIPLET, H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. **Gastroenterology**, v. 5, p. 43 -61, 1945.
- SILVA, S.R. **Plantas do Cerrado: utilizadas pelas comunidades da região do grande Sertão Veredas**. Brasília: Fundação Pró-Natureza – Funatura, 1998.
- SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P, GOSMANN, G., DE MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R.(orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / Ed. da UFSC, 1999.
- SOUCCAR, C, LAPA, A. **II Curso iberoamericano de validação de plantas medicinais com atividade gastrintestinal**. Escola paulista de medicina: São Paulo, 1998.
- STRUBELT, O., HOPPENKAMPS, R. Relations between gastric glutathione and the ulcerogenic action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 262, p. 268-278, 1983.
- STUBELT, O. The role of sulfhydryls in the ulcerogenic action of nonsteroidal antirheumatics. In: Szabo S, Mózsik Gy, editors. **New Pharmacology of Ulcer Disease. Experimental and New Therapeutic Approaches**. New York: Elsevier, p. 437-446, 1987.
- SWIEZEWSKA, E., DANIKIEWICZ, W. Polyisoprenoids: structure, biosynthesis and function. **Prog Lipid Res.**, v. 44(4), p. 235-58, 2005.
- SZABO, S., TRIER, J.S., FRANKEL, P.W. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. **Science**, v. 214, p. 200—202, 1981.
- SZABO, S. Role of sulfhydryls and early vascular lesions in gastric mucosal injury. **Acta Physiol. Hung.**, v. 64, p. 203-214, 1984.
- SZABO, S., BROWN, A. Prevention of ethanol-induced vascular injury and gastric mucosal lesions by sucralfate and its components: possible role of endogenous sulfhydryls. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 185, p. 493—497, 1987.
- SZABO, S., SPILL, W.F., RAINSFORD, K.D. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy. Mechanisms and management. **Med. Toxicol. Adverse Drug Exp.**, v. 4, p. 77-94, 1989.

- SZABO, S. Mechanisms of gastric mucosal injury and protection. **J. Clin. Gastroenterol.**, v. 13 (2), p. 21-34, 1991.
- SZALLASI A., JONASSOHN, M., ÁCS, G., BIRO, T., ACS, P., BLUMBERG, P.M., STERNER, O. The stimulation of capsaicin-sensitive neurones in a vanilloid receptor-mediated fashion by pungent terpenoids possessing an unsaturated 1,4-dialdehyde moiety. **Br. J. Pharmacol.**, v. 119, p. 283—290, 1996.
- SZOLCSÁNYI, J., BARTHÓ, L. Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. **J. Physiol.**, v. 95, p. 181—188, 2001.
- TEPPERMAN, B.L., WHITTLE, B.J. Endogenous nitric oxide and sensory neuropeptides interact in the modulation of the rat gastric microcirculation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 105, p. 171–175, 1992.
- VINCZE, A., GARAMSZEGI, M., JAVOR, T., SUTO, G., TIGYI, A., TOTH, G., ZSOLDOS, T., MOZSIK, G. The free radical mechanisms in beta-carotene induced gastric cytoprotection in HCl model. **Acta Physiol. Hung.**, v. 73, p. 351-355, 1989.
- WALLACE, J.L., REUTER, B., CICALA, C., MCKNIGHT, W., GRISHAM, M.B., CIRINO, G. Novel nonsteroidal anti-inflammatory drug derivatives with markedly reduced ulcerogenic properties in the rat. **Gastroenterology**, v. 107, p. 173–179, 1994a.
- WALLACE, J.L., REUTER, B., CICALA, C., MCKNIGHT, W., GRISHAM, M.B., CIRINO, G. A diclofenac derivative without ulcerogenic properties. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 257, p. 249–255, 1994b.
- WALLACE, J.L., MCKNIGHT, W., DEL SOLDATO, P., BAYDOUN, A.R., CIRINO, G. Anti-thrombotic effects of a nitric oxide-releasing, gastric-sparing aspirin derivative. **J. Clin. Invest.**, v. 96, p. 2711–2718, 1995.
- WALLACE, J.L. Cooperative modulation of gastrointestinal mucosal defence by prostaglandins and nitric oxide. **Clin. Invest. Med.**, v. 19, p. 346–351, 1996.
- WALLACE, J.L., MILLER, M.J. Nitric oxide in mucosal defense: a little goes a long way. **Gastroenterology**, v. 119, p. 512–520, 2000.
- WALLACE, J., MA, L. Inflammatory Mediators in Gastrointestinal Defense and Injury. **Exp. Biol. Med.**, v. 226, p. 1003-1015, 2001.
- WHITTLE, B.J.R., LOPEZ-BELMONTE, J., MONCADA, S. Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interactions with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 99, p. 607–611, 1990.
- YOSHIKAWA, T., UEDA, S., NAITO, Y., OYAMADA, H., MORITA, Y., YONETA, T., KONDO, M. Role of oxygen-derived free radicals in gastric mucosal injury induced by ischemia or ischemia reperfusion in rats. **Free Radic. Res. Commun.**, v. 7, p. 285-291, 1989.

YOSHIKAWA, M., MURAKAMI, T., OOMINAMI, H., MATSUDA, H. Bioactive saponins and glycosides. XVI. Nortriterpene oligoglycosides with gastroprotective activity from the fresh leaves of *Euptelea polyandra* Sieb. et Zucc. (1): structures of Eupteleasaponins I, II, III, IV, V, and V acetate. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 48, p. 1045—1050, 2000.

## **ANEXO**

### Teste Hipocrático – Toxicidade de drogas por Análise Comportamental

Droga..... Via de administração.....  
 Dose .....mg/kg; Volume da injeção;.....mL; Concentração da droga.....  
 Hora da injeção.....h.....min.;Data...../...../..... Administrador:.....  
 Investigador..... Assinatura.....  
 Animal..... Sexo(    ); Peso.....g; Tempo de jejum.....

<u>Sintomas</u>	<i>Normal</i>	<i>Tempo e data</i>					
Aparência geral	4						
Frênilo vocal	0						
Irritabilidade	0						
Reposta ao toque	4						
Aperto da cauda	4						
Contorção	0						
Trem posterior	0						
Endireitamento	4						
Tônus muscular	4						
Força de agarrar	4						
Ataxia	0						
Reflexo auricular	4						
Reflexo corneal	4						
Tremores	0						
Convulsões	0						
Estimulações	4						
Straub	0						
Hipnose	0						
Anestesia	0						
Lacrimação	0						
Ptose	0						
Micção	4						
Piloereção	0						
Defecação	4						
Hipotermia	0						
Respiração	4						
Cianose	0						
Morte							

Códigos: Testes com anotação normal “0”, a intensidade do efeito varia na escala de 1 a 4

Teste com anotação normal “4”, a intensidade do efeito poderá variar de 0 a 3 quando ocorrer diminuição, 4 quando igual ao controle e de 5 a 8 quando ocorrer aumento.

Observações gerais/comentários

.....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....