

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 13/01/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE SÃO VICENTE

PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE AQUÁTICA

Fitoterápicos padronizados para o tratamento de doenças

crônicas: *Rhizophora mangle*

Mestrando: Leonardo Mendes de Souza Mesquita

Prof. Dr. Wagner Vilegas

Orientador

São Vicente, SP

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE SÃO VICENTE

PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE AQUÁTICA

Fitoterápicos padronizados para o tratamento de doenças

crônicas: *Rhizophora mangle*

Mestrando: Leonardo Mendes de Souza Mesquita

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Biodiversidade Aquática

Prof. Dr. Wagner Vilegas

Orientador

São Vicente, SP

2017

615.32 Mesquita, Leonardo Mendes de Souza
M529 Fitoterápicos padronizados para o tratamento de
doenças

crônicas: *Rhizophora mangle* / Leonardo Mendes de Souza
Mesquita - São Vicente, 2017.

73 p.: il, figs., gráfs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual
Paulista, Campus do Litoral Paulista - Instituto de Biociências.
Orientador: Wagner Vilegas

1. Farmacologia. 2. Plantas medicinais. 3. *Rhizophora mangle*. 4. Extratos vegetais. 5. Diabetes – Tratamento. 6. Anti-inflamatório. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UNESP

Campus do Litoral Paulista

Ao meu avô João Mendes de Souza e padrinho João Carlos Lopes de Souza

(in memoriam)

"Non c'è niente da capire non c'è niente da spartire

Il successo a volte toglie il privilegio di soffrire

Finisce sempre bene altrimenti non è finita"

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro aos meus familiares, mãe, pai, irmã, cunhado e afilhado, os quais sempre me apoiaram nas escolhas, desafios, guiando os melhores caminhos. Obrigado por aguentarem minha variação de humor constante, minhas "patadas gratuitas", a minha desorganização cotidiana. Prometo que um dia tudo vai valer a pena. AMO vocês mais que tudo!

Ao meu melhor amigo e orientador Wagner Vilegas. Obrigado por servir de exemplo e inspiração. Obrigado por ser paciente, atencioso e generoso. Obrigado pela confiança em mim depositada e por me fazer crescer não só como pesquisador, mas como ser humano.

Aos meus melhores abacateiros, Gabriel Vicente Zavan Rodrigues, Luiz Henrique Lima Affonso e Stephany Cizino Olenick, obrigado por me apoiarem, serem verdadeiros, pacientes, meu porto-seguro de todas as horas. Aos meus queridos amigXs, Camila Helena de Moraes, Carolina Coam Brugneroto, Marina Castilho Terreri, Marina Vieira, Ludmila Barbosa Rodrigues, Bettina Correa da Silva Vostoupal, Pablo Cardoso, Mayara Bianchini. Obrigado por cuidarem de mim, não só nas quartas-feiras a noite, mas em todos os roles, reuniões, jantares, festas, encontros, luais. obrigado por sempre me acompanharem e elevarem minha endorfina. Com certeza, vocês são os responsáveis por tornar minha vida mais leve e dinâmica! Se a Unifesp me deu algo, com certeza foi vocês <3

A eterna VIII turma "MELIOR" turma que essa UNESP já teve. Especialmente a Beatriz Zachello Nunes, Marília Nagata Ragagnin e Rafael Henrique Bagini. Até hoje sinto falta de trabalhar com vocês, e desconfio que nunca vou achar em outros grupos, a eficiência que tínhamos! obrigado por mesmo não estando perto, se fazerem presentes.

A todos do Laboratório de Bioprospecção em Produtos Naturais. Especialmente minha co-orientadora, Cláudia Quintino da Rocha, obrigado pela paciência, por pegar na minha mão em cada fragmentação "cabeluda" que eu enfrentei, cada ensaio que fiz e mostrar que o trabalho constrói um mundo melhor. Douglas Gatte-Picchi, mesmo teimoso e maníaco por organização, sempre escutou meus desabafos e foi praticamente um psicólogo do trabalho. E minha querida companheira fiel de trabalho Carolina Gomes de Andrade, é ensinando que se

aprende, e por isso te agradeço, além de ser uma excelente parceira, sei que podemos contar um com o outro.

A princesa dos Carotenoides, Daniella Carisa Murador, a princesa das Antocianinas, Anna Rafaela Cavalcante Braga, e minha nutricionista favorita, Perla Pizzi Argentato, obrigado por me mostrarem o significado de parceria e de "uma mão lava a outra", só tenho a agradecer pela amizade e confiança. Além das minhas mentoras da próxima etapa, doutorado, Veridiana Vera de Rosso e Luciana Pellegrini Pisani; obrigado pela confiança em mim depositada e por me fazerem sentir acolhido no meu novo grupo de pesquisa! Além das minhas queridas novas companheiras de pesquisa, as maníacas do zodiaco: Aline Santamarina, Giovana Jamar, Laís Vales Menitti, Joana Pereira de Carvalho Ferreira e Bruna Vitória Neves.

A minha parceira de mestrado, Caroline Fabri Bittencourt Rodrigues. Obrigado por seguir lado a lado comigo nessa jornada de trabalho. Lembro como se fosse ontem, chegamos no fim do primeiro semestre sem praticamente nenhum resultado, mas juntos conseguimos transpor os desafios! Que nos encontremos sempre na nossa caminhada, Xupin!

Aos meus queridos amigos que conheci neste período e quero levar para sempre na minha jornada de trabalho e de vida, a NATA. Danielle das Chagas Santos, Rafaela Regina Fantatto, Renan Luis Fragelli e Thaís Conte Vargas. Obrigado pelos papos malucos que alegraram meus dias e pela sinceridade tão intrínseca do nosso grupo. Mesmo estando longe um dos outros, sabemos o quão fortes somos!

Obrigado ao Nicholas Tadeu Vannuchi da Costa Almeida, por ser meu técnico de LOL mais paciente e meu "sup" dos assuntos pessoais! A Helen Colbachini, por seus sorrisos sinceros e apoio incondicional em todas as horas. Vinicius Filipe Fernandes Pereira, pelas risadas e diversão. Priscila Marchetti Dolphini por todos os momentos de distração, cafés e risadas que passamos juntos. Marcelo Marucci Pereira Tangerina, por ser o "MELIOR" companheiro de balada e toda paciência em me explicar sobre os mais diversos assuntos. Mariana da Fontoura Martins, com certeza você é meu presente gaúcho e uma ótima conselheira, somos muito parecidos e espero poder ter retribuído todo apoio que me deste nesse caminho!!

Aos meus amigos mais antigos, que com certeza fazem parte do meu alicerce pessoal e emocional, Edson Raphael Toffoli Baida, Fabiana Minamitani e Pedro Rafael Fattor de

Oliveira (Helenoo); obrigado por esses quase 20 anos de amizade e por me causarem a sensação de conforto que só uma família pode dar. Obrigado também a Fernanda Lanza Trinca, por ser minha inspiradora a cursar biologia, só de lembrar da sua risada me faz pensar que todos os esforços valem a pena! E ao Murilo Hunold Martinho, melhor primo, companheiro de aventuras e amigo!

Aos professores e funcionários do IB-CLP. Obrigado Tânia Márcia Costa, Wagner Valenti, Alessandra da Silva Augusto, Odair José Garcia de Almeida, Fernanda David, Karine Delevati Colpo, Otto Fazano Bismark Gadig e Maria Bernadete Gonçalves Martins. Com um pedacinho de cada um de vocês, construo minha vida!

E a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do atual trabalho (2014/23951-3).

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

λ	Comprimento de onda
ABTS	2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
AERM	Extrato acetônico das cascas de <i>Rhizophora mangle</i>
ACN	Acetonitrila
ESI	Electrospray ionization (Ionização por electrospray)
EtOH	Etanol
FIA	Flow Injection Analysis (Análise por injeção em fluxo ou análise por inserção direta da amostra)
FIA-ESI-IT-MS	Flow Injection Analysis - Electrospray Ionization - Ion Trap - Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas acoplada a um ion-trap com interface de Ionização por Electrospray e inserção direta da amostra)
HFD	Dieta hiper lipídica (High fat diet)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
HPLC-PDA	High Performance Liquid Chromatography - Photodiode Array Detector (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Fotodiodos)
HRF	Heterocyclic Ring Fission (Clivagem Heterocíclica)
IT	Ion Trap
kiTT	Insulin tolerance test (Teste de tolerância a insulina)
[M – H]⁻	Molécula desprotonada
<i>m/z</i>	Relação Massa/Carga
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption/ionization-Time of flight (Ionização e dessorção a laser assistida por matriz)
MeOH	Metanol
MS	Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease (Doença hepática gordurosa não alcoólica)
PAs	Proantocianidinas
PAD	Photodiode Array Detector (Detector com Arranjo de Fotodiodos)
QM	Quinone methide (quinona metídeo)
RDA	Retro-Diels-Alder
tr	Tempo de retenção
UV	Ultravioleta
RP18	Reversed Fase octadecylsilan (Fase reversa octadecilsilano)

Sumário

CAPÍTULO I.....	17
1. Introduction	20
2. Materials and methods	22
2.1 Sample taxon	22
2.2 Chemical characterization	22
2.3 Experimental model of diet-induced obesity	24
2.4 Antioxidant activity	26
2.5 Statistical analyses	26
3. Results and discussion	27
3.1 Chemical characterization of the extract.....	27
3.2 Free radical scavenging activity	35
3.3. Hepatoprotective and insulin sensitizer activity	36
4. Conclusions	42
Acknowledgement.....	42
References	42
CAPÍTULO II	48
1. Introduction	51
2. Material and Methods	52
2. 1 Plant material.....	52
2.2 Preparation of plant extract (AERM).....	52
2.4 Analgesic activity	54
3. Results and discussion	55
4. Conclusions	65
Acknowledgments	66
References	66
CAPÍTULO III	70
Considerações finais	70
Referências Bibliográficas	73

RESUMO

As espécies vegetais contendo substâncias bioativas são, cada vez mais, objeto de pesquisas, levando a alternativas para tratamentos terapêuticos ou revelando substâncias que posteriormente possam ser exploradas com o intuito de produzir fármacos. Estudos de plantas são de grande importância, em razão do vasto número de metabólitos secundários que podem ser encontrados. Eles têm cada vez mais atraído a atenção da sociedade, mostrando-se uma fonte alternativa aos altos custos dos medicamentos alopáticos. Mas, para que as plantas sejam usadas com eficácia e segurança, são necessários estudos multidisciplinares. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária e o Ministério da Saúde aprovaram o uso de 71 plantas medicinais no tratamento contra diabetes, úlceras, inflamações e outras doenças crônicas. Contudo, essa é uma lista ainda limitada, pois várias espécies não são disponíveis o ano todo e/ou nas várias regiões do Brasil. Em contrapartida, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae, popularmente conhecida como mangue vermelho) é uma espécie que ocorre no Brasil desde o Pará até Santa Catarina. É comumente utilizada pelas populações tradicionais costeiras, principalmente para o tratamento de diabetes, hemorroidas, analgesia e dores estomacais. Recentemente, nosso grupo de pesquisa verificou que o extrato acetônico das cascas de *R. mangle* possui atividades antioxidante e antiulcerogênica, e é eficaz no tratamento da colite experimental. Contudo, foi realizada apenas uma avaliação preliminar da composição química das cascas. Por isso, este trabalho abordou o estudo químico de *R. mangle*, enfatizando o estudo das cascas. Desenvolvemos estratégias analíticas baseadas em espectrometria de massas utilizando as técnicas de Electrospray-Ion Trap e Maldi-TOF, as quais permitiram a padronização qualitativa do extrato ativo. Como resultado, identificamos a presença de taninos condensados possuindo de 2 a 12 unidades de catequinas. Além disso, investigamos a atividade desse extrato no tratamento da obesidade e como anti-inflamatório, obtendo resultados promissores. Esses resultados fornecem subsídios para o melhor entendimento das atividades farmacológicas previamente observadas.

Palavras chave: *Rhizophora mangle*, Diabetes, catequinas, analgesia

ABSTRACT

Plant species containing bioactive compounds are continuously being investigated, in order to search for alternative therapeutic treatments. These studies can reveal substances that can be explored in order to produce new drugs. Investigation of plants are of great importance, because of the large amounts of secondary metabolites that can be found. They have increasingly attracted the attention of the society, proving to be an alternative source to the high costs of allopathic medicines. However, multidisciplinary studies are necessary to ensure that plants are used with effectively and safety. The National Sanitary Surveillance Agency and the Ministry of Health have approved 71 medicinal plants to be used against diabetes, ulcers, inflammation and other chronic diseases. However, this list is still limited because several species are not available year-round and/or in the various regions of Brazil. In contrast, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae, popularly known as red mangrove) is a Brazilian species that occurs from Pará to Santa Catarina. It is commonly used by traditional coastal populations, mainly for the treatment of diabetes, hemorrhoids, analgesia and stomach pains. Recently, our research group verified that the acetone extract of *R. mangle* barks has antioxidant and antiulcerogenic activities and it is also effective in the treatment of the experimental colitis. However, only a preliminary evaluation of the chemical composition of the barks was previously carried out. Thus, this work deals with the chemical study of *R. mangle*, emphasizing the study of barks. We developed analytical strategies based on Electrospray- Ion trap mass spectrometry as well as MALTI-TOF techniques that allowed the qualitative standardization of the active extract. As a result, we could identify a sequence of condensed tannins with polymerization degree from 2 to 12. Besides, we tested this extract to treat obesity and as anti-inflammatory, with promising results. These results allowed us to better understand the pharmacological activities observed.

Keywords: *Rhizophora mangle*, Diabetes, catechins, analgesy

Identificação da proposta

A presente dissertação de mestrado, intitulada "Fitoterápicos padronizados para o tratamento de doenças crônicas: *Rhizophora mangle*", financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP - 2014:23113-0) faz parte do Projeto BIOTA FAPESP (2009/52237-9), coordenado pelo Prof. Dr. Wagner Vilegas. Os resultados aqui apresentados concentram-se na caracterização química do extrato acetônico (70% v/v) de cascas de uma árvore advinda do ecossistema Manguezal, *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). Tal extrato já havia sido investigado e observou-se que possui ação para o tratamento de injúrias gastro-intestinais, com patentes depositadas no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI). Entretanto, não se sabia com precisão quais eram as substâncias responsáveis por tais atividades. Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi responder à seguinte pergunta:

“Qual é a composição química das cascas de Rhizophora mangle?”

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

No contexto do panorama nacional e mundial, as doenças crônicas representam um sério problema no sistema público de saúde. Dentre elas estão aquelas relacionadas ao sistema gastrointestinal (úlceras, colites, diarreia e inflamações), diabetes, dores, problemas do sistema imunológico e câncer.

Além disso, importantes atividades farmacológicas foram encontradas em extratos acetônicos e hidroalcoólicos e/ou nas frações n-butanólica (n-BuOH) e em acetato de etila (EtOAc) das cascas de *R. mangle* para o tratamento de doenças crônicas, especialmente úlceras e colite. Os extratos atuaram no fortalecimento das linhas de defesa antioxidantes e na redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias (de Faria et al., 2012a, 2012b). A elucidação completa dos mecanismos envolvidos nessas ações farmacológicas abre novas possibilidades para outros estudos farmacológicos relacionados, como por exemplo, investigação pré-clínica e clínica em pacientes com DII. Além disso, o estudo de *R. mangle* é importante como estratégia para ampliar o número de plantas disponíveis para uso no sistema público de saúde, tendo em vista que ocorre desde o Pará até Santa Catarina. Adicionalmente, comunidades tradicionais costeiras usam *R. mangle* em suas enfermidades, mesmo não havendo respaldo e segurança quanto a sua constituição química.

A úlcera péptica é uma doença crônica dos tempos modernos, acelerada por fatores como vida atribulada (estresse), vícios comuns (cigarro e álcool) e dieta pobre e desequilibrada, sendo muitas vezes fatal, mesmo tendo altas chances de cura. Porém, sua reincidência é de quase de 100% após dois anos de interrupção do tratamento. Por isso, é um sério problema de saúde pública (Leong, 2009, Sone et al., 2008). Outra doença que tem elevada incidência e prevalência é a Doença Inflamatória Intestinal (DII) que engloba, fundamentalmente, duas doenças distintas: a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerativa (CU).

A colite ulcerativa é mais comum que a Doença de Crohn, sendo que a incidência e prevalência da DII variam amplamente devido às diferentes metodologias de estudo utilizadas. Estudos afirmam que ambas as doenças tornaram-se mais comuns no último século, especialmente devido à influência de fatores ambientais associados ao estilo de vida moderno e urbanizado (Crohn, 2000), já que fatores como estresse e dieta estão envolvidos na origem dessa doença. No Brasil, apesar da inexistência de dados epidemiológicos oficiais, a incidência de colite ulcerativa e da Doença de Crohn tem aumentado nos últimos anos segundo a Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn, atingindo níveis similares aos de países desenvolvidos (Loftus, 2004).

Vários medicamentos têm sido usados para tratar essas doenças inflamatórias. No entanto, devido a sérios efeitos colaterais, é necessário encontrar novas alternativas (Duffy et al., 2014). As plantas de manguezais são fontes potenciais de compostos biologicamente ativos e possuem ampla aplicação em práticas etnofarmacêuticas. A padronização de fitoterápicos é pré-requisito para qualidade, além da constância dos efeitos terapêuticos e segurança do usuário.

Tendo em vista essas considerações, na primeira etapa deste trabalho aplicamos técnicas de espectrometria de massas usando inserção direta do extrato em sistema Electrospray-Ion Trap para caracterizar as moléculas de baixo e médio peso molecular. Foi realizada uma análise *full-scan*, seguida pela fragmentação MS^n de cada íon. Usando essa abordagem, detectamos a presença de taninos condensados com unidades poliméricas de 2 a 4 unidades de catequinas. Paralelamente, tendo em vista que um dos problemas que mais tem atingido a população mundial é a obesidade, e que essa é uma doença multifatorial, a qual gera vários problemas associados, como diabetes mellitus tipo 2, pressão alta, problemas no fígado, depressão, etc. Decidimos testar a atividade desse extrato no tratamento de Diabetes mellitus tipo 2, e gerar um respaldo científico ao conhecimento tradicional. Observamos que o

extrato possui ação significativa na resistência à insulina, bem como melhora nos problemas relacionados ao fígado. Esses resultados resultaram no manuscrito "Extract of the mangrove tree *Rhizophora mangle* L. induces antiradical effects and reverse insulin resistance in a model of diet-induced obesity", a ser submetido no *Journal of Ethnopharmacology*.

Tendo em vista que a técnica de FIA-ESI-IT-MS/MS não é adequada para o estudo de moléculas de alto peso molecular, na segunda etapa utilizamos a técnica MALDI-TOF para caracterizar os taninos de unidades poliméricas superiores. Como resultado, foram detectados taninos condensados com até 12 unidades de catequina, afzelequina e galocatequina. Além disso, avaliamos a atividade do extrato para ação analgésica, uma vez que o conhecimento popular sugere tal atividade. Esses ensaios mostraram que o extrato possui ação equivalente à da morfina. Essa parte do trabalho serviu de base para o manuscrito "Evaluation of antinociceptive activity of polyphenols contained in the standardized extract of *Rhizophora mangle*", a ser submetido para o *Evidence-based complementary and alternative medicine*.

CAPÍTULO III

Considerações finais

Rhizophora mangle e sua utilização no tratamento de doenças crônicas

A presença de taninos é comum em plantas do ecossistema manguezal e conhecido para espécies do gênero *Rhizophora*. Atribui-se o efeito anti ulcerativo e anti colite de *R.*

mangle à presença desses compostos fenólicos. Há dois mecanismos de ação principais para a proteção de doenças gastro-intestinais: (i) químico, com ativação de defesas antioxidantes (Bonacorsi et al., 2012), e (ii) físico, com formação de uma camada tanino/proteína, que protege a mucosa gástrica promovendo maior resistência a lesões químicas, mecânicas e irritações (Jesus et al. 2012).

Dryden et al. (2006) estudou por meio de injeção intraperitoneal em ratos o efeito do extrato rico em polifenóis do chá verde em doenças gastrointestinais; constatando que houve diminuição da inflamação do cólon, fator de necrose tumoral (TNF- α) e aumento da expressão de hemeoxigenase-1 (HO-1), evidenciando um papel importante das defesas antioxidantes. Lee et al. (2004), avaliou o efeito de um dos componentes isolados do chá verde, epicatequina galato, confirmando que este polifenol pode melhorar os danos celulares da mucosa causado por contaminação de *Helicobacter pylori*; por meio de proteção do DNA, inibição da morte celular apoptótica induzida, repressão do fator de transcrição NF- κ B e inibição de 5-lipoxigenase. Entretanto, todos esses mecanismos são iniciados com a glicosilação de TLR-4 (tall like 4), e o tratamento com epicatequina galato inibe efetivamente a ativação deste receptor.

Estudos mostram que muitos taninos possuem a capacidade de sequestrar radicais livres, atuando positivamente em muitas doenças, como câncer, esclerose, aterosclerose, anginas e outras doenças crônicas (Jesus et al. 2012). Muitas das drogas gastroprotetivas agem nos fatores de neutralização de secreção, como antiácidos, receptores de H₂ e inibidores de bomba de prótons, assim como o medicamento omeoprazol, comumente utilizado. Berenguer et al. (2005), avaliou o efeito protetor de *R. mangle* em úlceras gástricas induzidas por anti-inflamatórios não esteroidais utilizando Dicoflenaco como modelo e concluiu que a melhora do quadro ulcerativo é devido as propriedades antioxidantes, as quais aumentam a atividade de enzimas GHH-Px e SOD, e por outro lado, diminuem a peroxidação lipídica.

Cheng et al. (2011) relatam o importante papel das catequinas na proteção da mucosa gástrica de camundongos. Possivelmente, esses metabólitos previnem lesões nas células do epitélio intestinal e induzem a expressão de HO-1 via modulação da translocação protéica de Nrf2. Esses resultados suportam o possível uso de catequinas como uma dieta preventiva contra injúrias gástro-intestinais causadas pelo estresse oxidativo. Portanto, o extrato acetônico de *R. mangle*, caracterizado nesse trabalho é uma excelente fonte de catequinas e compostos polifenólicos, responsáveis pelo efeito observado por nosso grupo de pesquisa e que foi objeto de patente (INPI: BR10201202881).

Apesar do AERM ser composto em sua maioria por taninos, outras substâncias foram encontradas, derivados de ácido químico e de quercetina. Essas substâncias de menor peso molecular, além de também atuarem nos mecanismos de defesa antioxidante, possuem atividade reportada no tratamento das doenças crônicas avaliadas no atual projeto. Neste trabalho, realizamos a caracterização qualitativa desses constituintes, tendo-se observado a presença de proantocianidinas, as quais podem ser correlacionadas com as atividades farmacológicas observadas. Provavelmente atuam no mecanismo de defesa antioxidante, na inativação da cascata de inflamação TL-4, no aumento da expressão enzimática de HO-1 e na formação de um complexo de ligação Tanino/Proteína, prevenindo lesões químicas, mecânicas e irritações. Além disso, derivados de catequinas já vem sendo empregados para o tratamento de injúrias gastro intestinais, o que corrobora com os resultados observados pelo nosso grupo de pesquisa.

Os taninos de *R. mangle* são uma mistura complexa e de alta polaridade. Ao que tudo indica, os extratos de *R. mangle* são futuros potenciais fitoterápicos de qualidade, pois apresentam sua composição química totalmente caracterizada, com ação farmacológica comprovada. A caracterização química dos metabólitos secundários majoritários permitiu testar esse extrato contra outras doenças crônicas: analgesia e diabetes, oriundas de um

processo inflamatório crônico/agudo e que exhibe melhoras após a suplementação/aplicação destas substâncias.

Estes estudos não terminam aqui. Na próxima etapa deste trabalho pretende-se desenvolver formulações farmacêuticas que viabilizem o uso do extrato de *Rhizophora mangle*, de forma a avançar no aproveitamento racional da biodiversidade brasileira. Além disso, avançar nos estudos de biodisponibilidade de taninos, apesar do elevado peso molecular, apresentam vários benefícios medicinais e nutricionais, mas o mecanismo de ação ainda é pouco compreendido.

Referências Bibliográficas

Berenguer B; Sánchez LM; Quílez A; López-Barreiro M; Haro O; Gálvez J; Martín MJ; 2005. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. *Journal of Ethnopharmacology*. 103:194-200.

Bonacorsi C; Raddi MSG; Fonseca LM; Sannomiya M; Vilegas W; 2012. Effect of *Byrsonima crassa* and Phenolic Constituents on *Helicobacter pylori*-Induced Neutrophils Oxidative Burst. *International Journal of Molecular Sciences*. 13:133-141.

Cheng Y-T; Wu C-H; Ho C-Y; Yen G-C; 2011. Catechins protects against ketoprofen-induced oxidative damage of the gastric mucosa by up-regulating Nrf2 *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 24: 475-483.

Crohn BB; Ginzburg L; Oppenheimer GD; 2000. Regional ileitis: a pathological and clinical entity. *Mount Sinai Journal of Medicine*. 67: 174-189.

Dryden GW; Song M; McClain C; 2006. Polyphenols and gastrointestinal diseases. *Current Opinion in Gastroenterology*. 22(2): 165-170.

Duffy D; Rooney B; Whellan DJ; 2014. PA32540 for secondary prevention of cardiovascular disease in patients at ulcers. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 12(11): 1251-1260.

Jesus NZT; Falcão HS; Gomes IF; Leite TJA; Lima GRM; Barbosa-Filho JM; Tavares JF; da Silva MS; Athayde-Filho PF; Batista LM; 2012. Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*. 13: 3203-3228.

Leong RW; 2009. Differences in peptic ulcer between the East and the West. *Gastroenterology Clinics of North America* 38: 363-379.

Loftus EV; 2004. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence and environmental influences. *Gastroenterology*. 126:1504-1517.

Sone Y; Kumada T; Toyoda H; Yokoyama M; Kato M; Asaka M; 2008. Eradicating *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease reduces medical costs in the community. *Helicobacter* 13: 346-35.

Souza-Brito ARM; De Faria FM; Silva MA; Dos Santos LC; Vilegas W; 2012. Composições farmacêuticas contendo fração obtida de *Rhizophora mangle* e seu uso e certificado de adição “Composições farmacêuticas contendo procianidinas de frações da casca de *Rhizophora mangle*”. INPI: BR 10 2012 02 8815 0.