



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102013031926-0 A2

(22) Data do Depósito: 12/12/2013

(43) Data da Publicação: 06/10/2015

(RPI 2335)



(54) **Título:** USO DE COMPOSTOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DA ARRABIDAEA BRACHYPODA COMO ANTIULCEROGÊNICO

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/352; A61P 17/02

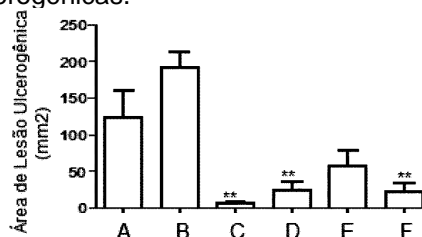
(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO, UNIVERSITÉ DE GENÈVE, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

(72) **Inventor(es):** CLÁUDIA QUINTINO DA ROCHA, WAGNER VILEGAS, EMERSON FERREIRA QUEIROZ, JEAN-LUC WOLFENDER, LAURENCE MARCOURT, ALBA REGINA MONTEIRO SOUZA BRITO, FELIPE MEIRA DE FARIA

(74) **Procurador(es):** FABIÓLA DE MORAES SPIANDORELLO

(57) **Resumo:** USO DE COMPOSTOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DA ARRABIDAEA BRACHYPODA COMO ANTIULCEROGÊNICO.

Esta invenção descreve o uso de compostos obtidos a partir do extrato de raízes, caules, cascas e folhas de espécies vegetais do gênero Arrabidaea, em especial a Arrabidaea brachypoda, também conhecida como cipó-una ou cervejinha do campo, para tratar doenças ulcerogênicas.



USO DE COMPOSTOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DA ARRABIDAEA
BRACHYPODA COMO ANTIULCEROGÊNICO

Campo da invenção:

Esta invenção descreve o uso de compostos obtidos a
5 partir do extrato de raízes, caules, cascas e folhas de
espécies vegetais do gênero *Arrabidaea*, em especial a
Arrabidaea brachypoda, também conhecida como cipó-una ou
cervejinha do campo, para tratar doenças ulcerogênicas.

Fundamentos da invenção:

10 A denominação úlcera descreve, genericamente, qualquer
lesão superficial em tecido cutâneo ou mucoso. Nessas
lesões, ocorre a ruptura do epitélio de modo a haver
exposição de tecidos mais profundos.

As úlceras podem ser classificadas de acordo com o
15 tipo de tecido acometido. Assim, úlceras cutâneas acometem
a pele (áreas não pilificadas ou couro cabeludo), úlceras
mucosas acometem as mucosas (externas ou internas), úlceras
serosas acometem serosas e as úlceras complexas acometem
diferentes tipos de tecidos ao longo de sua extensão ou
20 profundidade.

A úlcera péptica é um exemplo de lesão que ocorre no
revestimento do estômago ou na primeira parte do intestino
delgado, chamada duodeno. Quando localizada no estômago, a
úlcera péptica é denominada úlcera gástrica.

25 Os fatores agressores da mucosa gástrica se originam a
partir de uma variedade de estímulos endógenos ou exógenos,
dentre os quais estão o consumo de álcool, tabagismo, dieta
inadequada, o consumo de anti-inflamatórios não-esteroidais
(AINEs) e a presença, no local, da bactéria *Helicobacter*
30 *pylori*.

Dentre as opções terapêuticas existentes no mercado para tratamento das úlceras, estão disponíveis medicamentos que promovem uma ação antibacteriana, a neutralização do ácido gástrico, a redução da secreção ácida estomacal e a
5 citoproteção.

São utilizados inibidores da bomba protônica (tal como o omeprazol e o lansoprazol) e antagonistas do receptor de histamina H₂ (cimetidina). Fármacos como a carbenoxolona e a indometecina também são usados. Os fármacos disponíveis
10 atuam predominantemente minimizando os fatores lesivos da mucosa e a terapia está associada ao surgimento dos efeitos adversos e, em muitos casos, ocorre recidiva da lesão gástrica.

Em vista das dificuldades acima apontadas, tanto na
15 prevenção quanto no tratamento das doenças, esta invenção propõe o uso de compostos obtidos a partir da *Arrabidaea brachypoda* no tratamento de doenças ulcerogênicas.

Estado da técnica:

Documentos disponíveis no estado da técnica descrevem
20 diferentes compostos obtidos a partir da *Arrabidaea*, bem como a incorporação destes em composições farmacêuticas.

O documento brasileiro PI 0600943-3 A2 descreve o uso de extratos fitoterápicos a base de *Arrabidaea chica* como antifúngico e antibacteriano. Os extratos podem ser
25 utilizados como fármaco ou aditivo a cosméticos, podendo ser aplicados diretamente ou incorporados a um veículo farmacológico ou cosmético.

No documento WO 2013/091056 são descritas composições farmacêuticas estáveis compreendendo o extrato de *Arrabidaea*
30 *chica* em sistemas de liberação controlada, na forma de

lipossomas, micropartículas ou nanopartículas.

No WO 0152809 são descritas preparações cosméticas ou farmacêuticas contendo uma quantidade ativa de extrato de *Arrabidaea chica*, enquanto que em JP 2001/122763 descreve-se
5 uma composição para uso externo compreendendo plantas, tais como aquelas do gênero *Arrabidaea*, bem como seus extratos.

Nenhum dos documentos do estado da técnica descreve o uso de compostos obtidos a partir da *Arrabidaea brachypoda* para o tratamento de doenças ulcerogênicas.

10 **Sumário da invenção:**

Esta invenção descreve o uso de compostos obtidos a partir de extratos da *Arrabidaea brachypoda* para o tratamento de doenças ulcerogênicas.

Breve descrição das figuras:

15 A Figura 1 representa graficamente o efeito da administração oral do extrato das raízes de *A. brachypoda* a animais submetidos ao modelo de úlcera induzida por etanol, em que A representa o controle (salina), B representa o controle (salina) com pré-tratamento com N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) sobre a área de lesão ulcerogênica, C
20 representa a carbenoxolona, D representa a carbenoxolona com pré-tratamento com N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) sobre a área de lesão ulcerogênica, E representa o extrato das raízes de *A. brachypoda* e F representa o mesmo
25 extrato com pré-tratamento com N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) sobre a área de lesão ulcerogênica.

A Figura 2 representa graficamente o efeito da administração oral do extrato das raízes de *A. brachypoda* a animais submetidos ao modelo de úlcera induzida por etanol,
30 em que A representa o controle (salina), B representa o

controle (salina) com pré-tratamento com N-etilmaleimida (NEM) sobre a área de lesão ulcerogênica, C representa a carbenoxolona, D representa a carbenoxolona com pré-tratamento com N-etilmaleimida (NEM) sobre a área de lesão
5 ulcerogênica, E representa o extrato das raízes de *A. brachypoda* e F representa o mesmo extrato com pré-tratamento com N-etilmaleimida (NEM) sobre a área de lesão ulcerogênica.

As Figuras 3 e 4 representam graficamente o efeito da
10 administração oral do extrato das raízes de *A. brachypoda* por 7 e 14 dias consecutivos sobre o peso do fígado (A), pulmões (B), testículos (C), coração (D) e rins (E) de animais submetidos ao modelo de úlcera induzida por ácido acético, em que (a) é SHAM, (b) é salina, (c) é lansoprazol
15 e (d) é o extrato de *A. brachypoda*.

A Figura 5 representa graficamente a evolução do efeito da administração oral do extrato das raízes de *A. brachypoda* por 14 dias consecutivos sobre o peso do fígado (A), pulmões (B), testículos (C), coração (D) e rins (E) de
20 animais submetidos ao modelo de úlcera induzida por ácido acético, em que (a) é SHAM, (b) é salina, (c) é lansoprazol e (d) é o extrato de *A. brachypoda*.

As Figuras 6 e 7 representam graficamente o efeito da administração oral do extrato das raízes de *A. brachypoda*
25 após 7 e 14 dias consecutivos sobre a cicatrização da lesão induzida em ratos por ácido acético, em que (A) é salina, (B) é lansoprazol e (C) é *A. brachypoda*.

A Figura 8 representa graficamente a evolução do processo de cicatrização da lesão induzida por ácido
30 acético em ratos que tratados oralmente com o extrato das

raízes de *A. brachypoda* por 14 dias consecutivos, em que (A) é salina, (B) é lansoprazol e (C) é *A. brachypoda*.

A Figura 9 representa graficamente uma comparação da atividade enzimática da MPO em animais tratados com salina (A), lansoprazol (B) e extrato de *A. brachypoda* (C) por 7 (a) e 14 (b) dias.

As Figuras 10A e 10B são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com salina por 7 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (A) e 100x (B).

As Figuras 10C e 10D são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com lansoprazol por 7 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (C) e 100x (D).

As Figuras 10E e 10F são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com *A. brachypoda* por 7 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (E) e 100x (F).

As Figuras 11A e 11B são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com salina por 14 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (A) e 100x (B).

As Figuras 11C e 11D são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com lansoprazol por 14 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (C) e 100x (D).

As Figuras 11E e 11F são fotomicrografias de estômagos de ratos com úlcera induzida por ácido acético após tratamento com *A. brachypoda* por 14 dias consecutivos, nos aumentos de 20x (E) e 100x (F).

A Figura 12 representa graficamente a gastroproteção promovida pela administração oral de salina (A), lansoprazol (B) e do extrato hidroalcoólico das raízes de *A. brachypoda* (10, 30, 100 e 300 mg.Kg-1, respectivamente C, D, E e F) no modelo de úlceras induzidas por etanol em ratos.

A Figura 13 representa graficamente o efeito do pré-tratamento oral de SHAM (A), salina (B), carbeneo (C) e extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* (D) no modelo de indução de úlceras por AINE.

A Figura 14 representa graficamente o efeito da administração oral salina (A), carbeneo (B) e extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* (C) sobre a produção de muco aderido pela mucosa gástrica de ratos submetidos à ligadura do piloro.

Descrição detalhada da invenção:

A invenção consiste no uso de compostos obtidos a partir de extratos de raízes, caules, cascas e folhas de espécies do gênero *Arrabidaea*, em especial, a partir de raízes de *Arrabidaea brachypoda*, conhecida como cervejinha do campo ou cipó-una.

O extrato de raízes desta planta compreende frações enriquecidas em compostos que apresentam uma atividade antiulcerogênica.

Método de obtenção dos compostos:

Os compostos da presente invenção são obtidos a partir de extratos padronizados de espécies do gênero *Arrabidaea*, em especial a *Arrabidaea brachypoda*.

Para a obtenção do extrato, a biomassa compreendendo raízes, caules, cascas, e folhas, bem como misturas destes,

é extraída por meio de percolação, maceração soxhlet ou por meio de gases em estado supercrítico, bem como uma mistura dessas técnicas.

A biomassa pode estar verde e/ou seca, pulverizada, 5 moída, em pedaços e/ou esfarelada. De forma opcional, a biomassa é congelada antes de ser processada.

O congelamento prévio do material vegetal evita a degradação térmica provocada pelo aquecimento ao passar pelo moinho elétrico.

10 A extração é feita utilizando meio básico ou meio ácido, em meio aquoso ou utilizando solventes orgânicos, isolado ou em combinações.

Os ácidos podem ser ácidos fortes ou fracos, diluídos ou concentrados, isolados ou em misturas.

15 Em modalidades específicas da invenção, o ácido é selecionado dentre ácido acético, ácido clorídrico e ácido fórmico.

As bases, por sua vez, podem estar concentradas ou diluídas, isoladas ou em misturas.

20 Em modalidades específicas da invenção, a base é selecionada dentre hidróxido de amônia (NH_4OH) e carbonato de sódio (Na_2CO_3).

O solvente orgânico é selecionado dentre aqueles que compreendem compostos halogenados, álcoois, aldeídos, 25 éteres, ésteres, cetonas, alcanos, cicloalcanos, compostos fenólicos, benzenos e derivados, isolados ou suas misturas.

O extrato obtido pode ser seco com a tecnologia de secagem por pulverização (*spray-drying*), à pressão reduzida ou à temperatura ambiente.

30 Para a secagem por pulverização, as temperaturas de

entrada e saída variam entre 150 e 190 °C e 80 e 90 °C, respectivamente. Já na secagem à pressão reduzida, a mesma varia entre 25 e 100 °C.

Os diferentes compostos são separados e purificados por meio de técnicas cromatográficas com ou sem pressão, como cromatografia a pressão atmosférica ou cromatografia a baixa, média ou alta pressão.

Para execução da técnica, pode-se utilizar uma fase estacionária normal, tal como a sílica gel, ou uma fase inversa, tal como a C-8 ou C-18.

Ainda, pode-se utilizar a partição líquido/líquido, tal como a cromatografia contra corrente, ou a partição centrífuga, utilizando resinas de troca iônica ou membranas de filtração.

A fim de identificar as moléculas responsáveis pela atividade farmacológica, o extrato de raízes de *Arrabidaea brachypoda* é submetido a um fracionamento guiado.

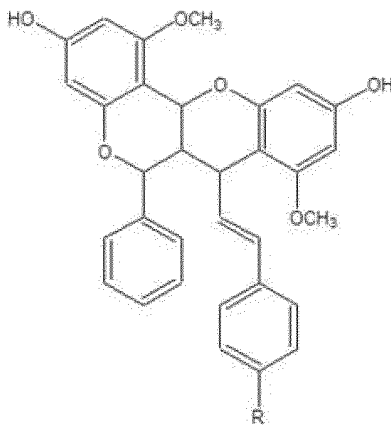
O extrato é fracionado por cromatografia a pressão média (MPLC) em fase reversa, com um sistema de solventes apresentando gradiente por passos de metanol-água a partir de 10:90, com aumento gradual até 100%.

A pressão máxima é de 20 bar (2×10^3 kPa) e as amostras são colocadas em um cartucho de introdução após sua mistura com a fase estacionária (sílica) em uma proporção em peso de 1:3.

As frações são testadas nos testes antiulcerogênico. A partir destas frações, são obtidos os compostos isolados RAB-01, RAB-02 e RAB-03, cujas estruturas são elucidadas através de métodos espectroscópicos (tal como ultravioleta - UV, ressonância magnética nuclear - RMN 1D e 2D,

espectrometria de massa a baixa e alta resolução - MS e HRMS), além de reações químicas e enzimáticas.

Os compostos isolados foram identificados como sendo flavonoides diméricos de fórmula I abaixo:



5 em que, para RAB-01, R é hidroxila; para RAB-02, R é metoxila e para RAB-03, R é hidrogênio.

A estrutura dos mesmos é identificada por técnicas clássicas de elucidação estrutural, incluindo ultravioleta, ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de
10 massa (MS).

Os dados referentes a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (MeOD, 500 MHz), ressonância magnética nuclear de carbono (MeOD, 125 MHz) e espectrometria de massas para cada um dos componentes RAB-01, RAB-02 e RAB-03 estão
15 descritos abaixo e nas tabelas 1, 2 e 3:

RAB-01 - Sólido amorfo vermelho; $[\alpha]_D^{20,1}$ $-108,43^\circ$ (c 0.1 MeOH); UV λ_{max} (log e) 266 nm (5.02); $^1\text{H-RMN}$ (CD₃OD, 500 MHz) e $^{13}\text{C-RMN}$ (CD₃OD, 125 MHz): Tabela 1; ESI-MS (modo positivo): m/z 525.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS: m/z 525.1926 $[\text{M}+\text{H}]^+$
20 (calculado para C₃₂H₂₈O₇, 525.1913, Δ ppm = 1.3).

RAB-02 - Sólido amorfo laranja; $[\alpha]_D^{20,9}$ $-118,80^\circ$ (c 0.1 MeOH); UV λ_{max} (log e) 254 nm (4.82); $^1\text{H-RMN}$ (CD₃OD,

500 MHz) e ^{13}C -RMN (CD_3OD , 125 MHz): Tabela 1; ESI-MS (Modo positivo) m/z 539.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (modo positivo) m/z 539.2095 $[\text{M}+\text{H}]^+$] $^+$ (calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{30}\text{O}_7$, 539.2070, Δ ppm = 4.6).

5 **RAB-03** - Sólido amorfo laranja; $[\alpha]_{\text{D}}^{20,1}$ -82,86 (c 0.1 MeOH); UV λ_{max} (log e) 266 nm (5.78); ^1H -RMN (CD_3OD , 500 MHz) e ^{13}C -RMN (MeOD, 125 MHz): tabela 1; ESI-MS (modo positivo) m/z 509.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; HRMS (Pos. Mod): 509.1974 $[\text{M}+\text{H}]^+$] $^+$ (calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{29}\text{O}_6$, 509.1964, Δ ppm = 2.0).

10 **Tabela 1.** Dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (500 e 125 MHz, CD_3OD , δ em ppm) do composto RAB-01.

N°	^1H	^{13}C
1		161.1
2	6.08 d, $J = 2.2$	92.8
3		161.1
4	5.94 d, $J = 2.2$	96.4
4a		157.8
6	4.78 d, $J = 11.2$	78.2
6a	2.22 dt, $J = 11.2, 1.9$ Hz	42.4
7	3.17 ddd, $J = 5.5, 1.9,$ 1.6 Hz	34
7a		101.8
8		160.2
9	6.05 d, $J = 2.1$ Hz	93
10		159.1
11	5.98 d, $J = 2.1$ Hz	96.5
11a		155.4
12a	5.28 d, $J = 2.3$ Hz	63.5
12b		103.8

1'		140.4
2',6'	7.24 d, $J = 7.6$ Hz	128.5
3',5'	7.38 m	129.5
4'	7.38 m	129.6
A	5.95 dd, $J = 15.9, 5.5$ Hz	130.7
B	5.81 dd, $J = 15.9, 1.6$ Hz	131.7
1''		130.4
2'', 6''	7.05 d, $J = 8.6$ Hz	128.4
3'', 5''	6.64 d, $J = 8.6$ Hz	116.2
4''		157.7
1-OMe	3.81 s	56.1
8-OMe	3.62 s	55.9
4''-OMe	-	-

Tabela 2. Dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (500 e 125 MHz, CD_3OD , δ em ppm) do composto RAB-02.

N°	^1H	^{13}C
1		160.9
2	6.08 d, $J = 2.1$ Hz	92.7
3		161,1
4	5.94 d, $J = 2.1$ Hz	96.3
4a		157.7
6	4.77 d, $J = 11.3$ Hz	78.1
6a	2.19 dt, $J = 11.3, 1.9$ Hz	42.3
7	3.17 ddd, $J = 5.6, 1.9,$ 1.6 Hz	34
7a		101.6
8		160.2
9	6.05 d, $J = 2.1$ Hz	93
10		159.2

11	5.98 d, $J = 2.1$ Hz	96.5
11a		155.3
12a	5.27 d, $J = 2.3$ Hz	63.4
12b		103.7
1'		140.4
2',6'	7.23 d, $J = 7.0$ Hz	128.5
3',5'	7.38 m	129.5
4'	7.38 m	129.5
A	5.99 dd, $J = 15.8, 5.6$ Hz	131.5
B	5.83 dd, $J = 15.8, 1.6$ Hz	131.3
1''		131.1
2'', 6''	7.11 d, $J = 8.8$ Hz	128.2
3'', 5''	6.75 d, $J = 8.8$ Hz	114.8
4''		160.2
1-OMe	3.79 s	56.1
8-OMe	3.62 s	55.9
4''-OMe	3.73 s	55.6

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (500 e 125 MHz, CD_3OD , δ em ppm) do composto RAB-03.

N°	^1H	^{13}C
1		161.1
2	6.08 d, $J = 2.2$ Hz	92.8
3		161.1
4	5.95 d, $J = 2.2$ Hz	96.4
4a		157.8
6	4.79 d, $J = 11.3$ Hz	78.2
6a	2.24 dt, $J = 11.3, 1.9$ Hz	42.2
7	3.21 ddd, $J = 5.7, 1.9, 1.7$ Hz	34.2

7a		101.5
8		160.2
9	6.05 d, $J = 2.3$ Hz	93
10		159.2
11	5.99 d, $J = 2.3$ Hz	96.6
11a		155.4
12a	5.28 d, $J = 2.4$ Hz	63.5
12b		103.8
1'		140.4
2',6'	7.24 d, $J = 7.6$ Hz	128.5
3',5'	7.38 m	129.5
4'	7.38 m	129.6
A	6.15 dd, $J = 15.7, 5.7$ Hz	133.8
B	5.91 dd, $J = 15.7, 1.7$ Hz	132
1''		138.6
2'', 6''	7.18 m	127.2
3'', 5''	7.18 m	129.4
4''	7.10 m	128
1-OMe	3.79 s	56.1
8-OMe	3.61 s	55.9
4''-OMe	-	-

Incorporação dos compostos RAB-01, RAB-02 e RAB-03 em composições farmacêuticas:

As composições farmacêuticas obtidas de acordo com a presente invenção compreendem os compostos RAB-01, RAB-02 e
5 RAB-03 em quantidades padronizadas, em sua forma isolada ou em associação com outros produtos naturais ou sintéticos, em diferentes proporções.

Preferencialmente, as composições farmacêuticas desta

invenção compreendem os compostos RAB-01, RAB-02 e RAB-03 em uma faixa de concentração que varia de 0,001 a 50 % de pelo menos um dos compostos em sua forma livre ou na forma de sal (como cloratos, sulfatos ou boratos), associados a excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

As composições farmacêuticas podem ainda compreender fármacos, vitaminas, sais e/ou açúcares.

As composições ora descritas são apresentadas na forma de comprimidos, cápsulas gelatinosas (duras ou moles), microcápsulas, nanopartículas, tinturas, xaropes, emulsões do tipo O/A e A/O, lipossomas, líquidos injetáveis, aerossóis, pós, liofilizados e similares, para serem administradas por via oral, tópica, injetável ou inalável.

As referidas composições são úteis no tratamento de úlceras, principalmente úlceras pépticas.

Exemplos da invenção:

A seguir, são apresentados exemplos expositivos de realizações particulares da presente invenção, sem criar quaisquer limitações ao seu escopo.

20 1 - Obtenção do extrato hidroalcoólico de *Arrabidaea brachypoda*:

Numa cuba de um extrator dotado de agitação mecânica, adiciona-se 1,5 kg de raízes, caules ou folhas de plantas do gênero *Arrabidaea*, tais como a *Arrabidaea brachypoda*, secas em estufas com temperatura controlada a 60 °C.

O material é pulverizado e congelado em nitrogênio líquido e, posteriormente, triturado em moinho elétrico.

Em seguida, adiciona-se 9,0 L de etanol 70% (v/v), com agitação frequente, pelo período de 150 horas.

30 A dorna de extração é aquecida gradativamente, em uma

velocidade de aquecimento de 10 °C por minuto, até que se atinja uma temperatura entre 45 e 50 °C. Em seguida, o extrato é filtrado a quente, em uma temperatura que varia de 35 a 40 °C a vácuo, através de filtros de 100 a 150 mm.

5 Após evaporação do solvente em evaporador rotativo com pressão reduzida e temperatura máxima de 40 °C, obtém-se cerca de 20 g de um extrato hidroalcoólico concentrado.

2 - Obtenção da partição diclorometano de Arrabidaea brachypoda:

10 Cerca de 8,0 g do extrato hidroalcoólico é dissolvido em 500 mL de solução de água/metanol 8:2 e 250 mL de diclorometano a uma temperatura que varia de 20 a 25 °C.

A solução é adicionada a um balão de separação e, após a agitação, aguarda-se a separação das fases ao abrigo da luz. A fase diclorometânica é retirada e adiciona-se mais 250 mL de diclorometano, repetindo-se as etapas de agitação e separação de fases ao abrigo da luz.

O processo é repetido até a exaustão, ou seja, até que a fase diclorometânica não apresente mais coloração ao ser misturada com a fase aquosa. A fase diclorometânica é rotaevaporada, apresentando um rendimento de 31,2%.

3 - Obtenção dos compostos ativos a partir da purificação do extrato de Arrabidaea brachypoda:

25 Após obtenção do extrato hidroalcoólico (conforme exemplificado em 1) e obtenção da partição diclorometano (conforme exemplificado em 2), uma fase diclorometânica apresentando um rendimento de 33,7% é obtida.

O extrato diclorometânico assim obtido é purificado por cromatografia líquida a média pressão (CLMP) utilizando sistema eluente composto por uma mistura de metanol e água

30

em modo gradiente (5 % a 100 % em 72 horas) e uma fase estacionária a fase inversa (C-18 e 15-25 µm) em uma coluna de 460 mm de largura por 70 mm de diâmetro.

Os compostos foram detectados por ultravioleta a 254 nm. As frações obtidas são submetidas a diversas técnicas cromatográficas, de modo a isolar os compostos RAB-01, RAB-02 e RAB-03.

Avaliação da atividade gastroprotetora:

Para efeito comparativo, as drogas utilizadas para a determinação da atividade antiulcerogênica dos compostos obtidos a partir da *Arrabidaea brachypoda* foram:

- lansoprazol;
- carbenoxolona;
- indometacina;
- cimetidina.

Todas as drogas foram preparadas imediatamente antes da administração em solução salina com concentração de 0,09%.

Os animais utilizados eram ratos machos unib-WH, com massa entre 150 e 250 gramas. Os animais foram aclimatados às condições do laboratório por pelo menos sete dias antes da manipulação experimental, com temperatura (23 ± 2 °C) e ciclos claro-escuro de 12 horas controlados. Ainda, os mesmos foram alimentados com ração e água *ad libitum* e distribuídos ao acaso nos diferentes grupos experimentais, sendo submetidos a jejum (com água *ad libitum*) de pelo menos 12 horas, dependendo do tipo de experimento.

- *Envolvimento do NO na gastroproteção (técnica desenvolvida por Sikiric et al. em 1997):*

Os ratos submetidos a jejum por 24 horas foram

divididos em grupos de acordo com os tratamentos.

O grupo controle recebeu injeção peritoneal de solução salina ou a administração de L-NAME (N-nitro-L-arginina metil éster), um inibidor da NO-sintase pela mesma via (10 mg/kg).

Após 30 min, os grupos receberam (i) veículo (salina), (ii) extrato de *Arrabidaea brachypoda* e (iii) carbenoxolona (controle positivo) por via oral.

Posteriormente, decorridos 50 minutos da administração dos pré-tratamentos, os animais receberam oralmente etanol absoluto. Os animais foram sacrificados após 1 hora e os estômagos foram removidos e abertos na grande curvatura para determinação da área das lesões.

- *Envolvimento de grupamentos sulfidríla na gastroproteção (técnica desenvolvida por Matsuda et al. Em 1999):*

Após jejum de 24 horas, os animais foram divididos ao acaso em grupos, tratados com uma injeção subcutânea de solução salina (controle negativo) ou 10 mg/kg de N-etilmaleimida (NEM), um bloqueador dos grupos sulfidrílas.

Após 30 min do pré-tratamento, os grupos receberam veículo (10 mL/kg), carbenoxolona (controle positivo) e extrato de *A. brachypoda* (300 mg/kg) por via oral.

Trinta minutos após o tratamento, todos os grupos de animais receberam etanol absoluto por via oral. Uma hora depois, os animais foram sacrificados e seus estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura para determinação da área das lesões.

- *Determinação dos níveis de PGE₂ (técnica desenvolvida por Curtis et al. em 1995):*

O tecido dos animais submetidos à úlcera induzida por DAINES foi homogeneizado e preparado conforme metodologia conhecida, procedendo-se à sensibilização e leitura por ELISA.

5 Dosagens em tecido de animais submetidos à úlcera induzida por etanol:

- Determinação dos níveis de glutathiona (GSH):

 Para efetuar a determinação do conteúdo de glutathiona total, usou-se o método descrito por Anderson em 1985, que se baseia na oxidação total da glutathiona reduzida (GSH) presente em uma amostra à sua forma oxidada (GSSG), por meio da incubação da amostra com o ácido ditiobisnitro benzóico (DTNB).

 O DTNB reduzido adquire uma coloração amarelada, que pode ser determinada espectrofotometricamente. O GSSG gerado é reduzido por ação da enzima glutathiona redutase na presença de NADPH.

 O GSH formado se oxida novamente, gerando um ciclo contínuo, no qual a velocidade de redução do DTNB (e o seu consequente aumento de absorbância a 412 nm) é proporcional à quantidade total de glutathiona (GSH+GSSG).

 Para efetuar a determinação do conteúdo de glutathiona total, foram utilizados os extratos citosólicos obtidos dos estômagos dos animais do experimento de úlcera induzida por etanol.

 As amostras, após descongelamento, tiveram 20 µL do seu volume retirado e pipetado em uma placa de 96 canais, onde se adicionam 140 µL de NADPH, 5 µL de PBS e 20 µL DTNB.

30 A placa foi disposta no leitor do espectrofotômetro,

onde permaneceu incubada por 5 minutos em uma temperatura de 30°C.

Após este período, foram adicionados 15µL de glutathiona redutase e registrou-se o aumento de absorvância a 412 nm. Os resultados foram expressos como nmol/g de tecido.

- Determinação da atividade da glutathiona redutase (GR):

Para a determinação da atividade da GR, a reação enzimática foi preparada com 100 µL da amostra (após centrifugação e diluição do sobrenadante em tampão fosfato pH = 7,4, na relação 1:10) e 150 µL da mistura formada por EDTA (0,20 mM), glutathiona oxidada (1 mM) e NADPH (0,1 mM). A absorvância foi lida a 365 nm, entre 0 e 10 min, conforme técnica desenvolvida por Carlberg & Mannervik, 1985.

- Determinação da atividade da glutathiona peroxidase (GPx):

As amostras foram centrifugadas a 12000 rpm, a 4 °C, por 15 min e o sobrenadante foi diluído em tampão fosfato 0,1 M (pH = 7,4) na proporção 1:10.

A uma alíquota de 100 µL do raspado, foram adicionados 150 µL de solução de glutathiona reduzida (10 mM), NADPH (4 mM) e glutathiona redutase (1U) e 20 µL de H₂O₂ (25 mM), de acordo com método desenvolvido por Yoshikawa *et al.* em 1993. A absorvância foi determinada a 365 nm, entre 0 e 10 min.

- Avaliação do efeito cicatrizante de úlcera induzida por ácido acético (técnica desenvolvida por Takagi *et al.* em 1969):

Os ratos foram anestesiados com cloridrato de xilazina

e cetamina para a realização de uma incisão longitudinal logo abaixo da apófise xifoide.

A parede anterior do estômago foi exposta e uma área da serosa foi delimitada com um anel plástico sobre a qual se adicionou 50 µL de ácido acético P.A. com auxílio de uma micropipeta automática, sendo mantido o contato entre o ácido e a serosa durante 60 segundos.

Em seguida, a área foi limpa com solução salina e os animais tiveram suas cavidades abdominais fechadas, sendo mantidos em repouso até completa recuperação da anestesia para, então, serem acondicionados no biotério.

Depois de 48 horas do procedimento cirúrgico, iniciou-se a administração oral dos tratamentos (uma vez ao dia durante 7 e 14 dias) com o EAB (300 mg/Kg), lansoprazol (30 mg/kg - controle positivo) e veículo (solução salina 0.9% - controle negativo).

Os animais foram pesados e observados desde a indução das lesões até o final dos tratamentos. Ao final deste período, os animais foram sacrificados, seus estômagos foram removidos e abertos no sentido da maior curvatura para determinação da área da lesão ulcerativa.

Também foram coletadas seções de tecido para confecção de lâminas histológicas. Os animais também tiveram coração, pulmões, fígado, rins e testículos coletados e pesados para verificação de possíveis sinais de toxicidade.

- Expressão das proteínas COX-1, COX-2 e EGF:

O homogenato gástrico foi centrifugado a 12000 rpm, a 4 °C, por 15 minutos. Valores determinados de proteína (50 µg) foram aplicados em gel de poliacrilamida e submetidos à eletroforese, com solução tampão. O gel foi submetido a

120V durante todo o processo.

Em seguida, as proteínas separadas no SDS-PAGE foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose, em equipamento de eletrotransferência, com as membranas embebidas em tampão de transferência, mantidas em voltagem constante de 25 V, corrente de 1,0 A por 12 minutos.

As membranas de nitrocelulose contendo as proteínas transferidas foram incubadas em solução bloqueadora por uma hora para diminuir a ligação inespecífica de proteínas.

Em seguida, as membranas foram submetidas a sucessivas lavagens com tampão, em intervalos de 5 minutos. A membrana foi incubada a 4 °C durante uma noite, usando anticorpo específico para COX-1, COX-2 e EGF.

Após esse procedimento, a membrana de nitrocelulose foi novamente submetida a sucessivas lavagens com tampão, sendo, em seguida, incubada à temperatura ambiente por 1 h com anticorpo secundário para COX-1, COX-2 e EGF.

Para detectar as bandas imunoreativas, as membranas foram embebidas com solução de quimioluminescência por 5 minutos. Após esse período, as membranas foram colocadas em fotodocumentador para detecção das bandas fluorescentes e posterior análise densitométrica com auxílio do software específico.

- Determinação da atividade da MPO:

Por se tratar de um importante indicador inflamatório, verificou-se, ainda, a atividade da MPO no modelo de úlcera crônica.

- Preparação de lâminas histológicas:

Os cortes e lâminas histológicas foram preparados por fixação do material em ALFAC (formalina, álcool 80% e ácido

acético) por 24 horas. As peças foram então desidratadas e incluídas em meio sólido apropriado.

Posteriormente, os blocos do meio foram cortados (7 µm de espessura) em micrótomo, de maneira seriada. As amostras
5 foram submetidas à coloração por hematoxilina-eosina (HE) para observação geral da estrutura e celularidade em microscopia de luz.

- Análise estatística:

Todos os resultados foram tratados estatisticamente e
10 expressos como média ± desvio ou erro padrão e submetidos à análise de variância de uma via e, posteriormente, teste de Dunnett e/ou Tuckey com um nível de significância mínimo de *P < 0,05.

- Úlcera gástrica induzida por etanol (técnica
15 desenvolvida por Morimoto et al. em 1991):

Ratos unib-WH foram submetidos a jejum de 24 h com água *ad libitum*. No dia do experimento, eles foram divididos em 7 grupos: salina como controle negativo, lansoprazol como controle positivo e quatro grupos com o
20 extrato das raízes da *A. brachypoda* em diferentes concentrações (doses de 10, 30, 100 e 300 mg.Kg⁻¹) dissolvido em salina em concentrações de 10 mL.Kg⁻¹.

Os animais receberam o tratamento previsto para cada grupo e, uma hora depois, foi administrado 1 mL de etanol
25 absoluto por via oral.

Após uma hora da indução da úlcera, os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical e seus estômagos retirados para quantificação das lesões.

Calculadas as áreas das lesões, os estômagos foram
30 homogeneizados, preparados os extratos citosólicos e

membranados para a realização de ensaios bioquímicos.

- Úlcera gástrica induzida por anti-inflamatório não esteroideal (AINE):

Os animais foram submetidos a jejum de 24 horas com
5 água *ad libitum*. No dia do experimento, os animais foram
divididos em cinco grupos: SHAM, salina, carbenoxolona,
tratamento com o extrato da planta *A. brachypoda* que será
submetido à administração de indometacina e tratamento com
o extrato da planta em que a indometacina não será
10 administrada, para posterior avaliação dos níveis de
prostaglandina E2.

Os grupos receberam os respectivos tratamentos via
oral e, após 30 minutos, foi administrado o agente lesivo,
indometacina (50 mg.Kg⁻¹ solubilizada em carbonato de sódio
15 0,5%) em todos os grupos, menos no grupo SHAM e no que
recebeu tratamento com a planta apenas para a verificação
da PGE.

Transcorridas seis horas da administração da
indometacina, todos os animais foram sacrificados por
20 deslocamento cervical e tiveram seus estômagos retirados
para contagem das lesões. A porção glandular foi raspada e
congelada a -80 °C para ensaios bioquímicos.

- Ligadura de piloro e avaliação dos parâmetros do
suco gástrico (técnica desenvolvida por Shay e Gruenstein
25 em 1946):

Os ratos ficaram em jejum de 48 horas com água *ad
libitum*. No dia do experimento, os animais foram divididos
em quatro grupos: salina, lansoprazol, cimetidina e
tratados com extrato da planta *A. brachypoda*.

30 Os ratos foram anestesiados e sofreram uma incisão

longitudinal logo abaixo da apófise xifoide para a amarradura do piloro.

A administração das drogas foi realizada logo após a amarradura, por via intraduodenal. As incisões foram suturadas e, após quatro horas da cirurgia, os ratos foram sacrificados. Os estômagos foram retirados cuidadosamente e a secreção ácida foi coletada. Após centrifugação, o volume e pH da secreção de cada animal foi medido.

- Determinação da produção de muco aderido à mucosa gástrica (técnica desenvolvida por Corne et al. em 1974):

Os ratos ficaram de jejum por 24 horas com água *ad libitum* para a realização do experimento. Os animais foram divididos em três grupos: salina, carbenoxolona e extrato da planta *A. brachypoda*.

Os grupos receberam os respectivos tratamentos por via oral e, transcorrida 1 hora, foi realizada a ligadura do piloro. Após quatro horas os animais foram sacrificados e os estômagos foram retirados e abertos no sentido da grande curvatura.

Os segmentos glandulares do estômago foram removidos e pesados e cada segmento foi transferido imediatamente para um tubo contendo agente corante. Após imersão por 2 horas nesta solução, o excesso de tinta foi removido por duas lavagens sucessivas com 10 mL de solução de sucrose 0.25 M, primeiro por 15 minutos e, então, por 45 minutos.

A tinta complexada com o muco da parede gástrica foi extraída com 10 mL de $MgCl_2$ 0,5 M por agitação intermitente por 1 minuto, a intervalos de 30 minutos, durante 2 horas.

Uma alíquota de 4 mL do extrato azul foi vigorosamente agitada com um volume igual de éter dietílico. A emulsão

resultante foi centrifugada a 3600 rpm por 20 minutos e a absorvância da camada aquosa foi determinada a 580 nm.

A quantidade de corante extraída por grama de tecido glandular foi então calculada e expressa como concentração do corante em µg por mL de solução por grama de porção glandular.

- Atividade da mieloperoxidase (MPO):

A atividade da mieloperoxidase foi determinada através do método descrito por Krawisz et al. em 1984. As amostras foram homogeneizadas em tampão de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) a 0,5% (p/v) em tampão fosfato salina (50 mM, pH 6,0) com diluição final de 1:20 (p/v) até que a obtenção de um aspecto uniforme.

O HTAB atua como detergente, facilitando a liberação da enzima MPO dos grânulos de azurófilos dos neutrófilos, onde se encontra armazenada.

O homogenato foi submetido ao banho ultrassônico por 10 segundos, seguido de triplo processo de congelamento e descongelamento, que facilita a ruptura das estruturas celulares e, em consequência, a liberação da enzima.

A amostra foi centrifugada a 7000 G, durante 10 minutos e a atividade da MPO foi determinada seguindo a cinética da reação frente à água oxigenada.

Numa placa de ELISA, foram colocados 50 µL do sobrenadante e 150 µL de reativo de coloração e peróxido de hidrogênio (0,066%), em tampão fosfato (50mM, pH 6,0).

A absorbância foi determinada a 450 nm e a atividade da enzima foi calculada por interpolação em curva padrão, realizada com MPO procedente de neutrófilos humanos.

Uma unidade de MPO é definida como a quantidade

necessária para degradar 1 mmol/minuto de peróxido de hidrogênio 25 °C. Os resultados foram expressos como U/g de proteína.

Resultados obtidos:

5 - *Envolvimento do NO na gastroproteção*

A figura 1 mostra os dados obtidos na avaliação do envolvimento do NO na gastroproteção promovida pela *A. brachypoda* (300 mg.kg⁻¹).

Os resultados mostrados indicam que a gastroproteção exercida pelo extrato de *A. brachypoda* não deve ser mediada pelo NO, pois mesmo com sua síntese bloqueada pelo L-NAME, a atividade foi verificada pela redução dos danos à mucosa gástrica, tanto dos animais que não receberam L-NAME quanto daqueles que o receberam.

15 - *Envolvimento dos grupamentos sulfidrila na gastroproteção:*

Na Figura 2, está representado graficamente o resultado da observação feita sobre o envolvimento de grupamentos sulfidrila na proteção à mucosa gástrica exercida pela administração oral de *A. brachypoda* (300 mg.kg⁻¹).

Os resultados obtidos demonstram que o grupo salina associado a NEM (B) não respondeu ao pré-tratamento com NEM, no entanto, uma análise sobre o resultado com os grupos tratados com carbenoxolona permite sugerir que *A. brachypoda* pode não depender de grupamentos sulfidrila para promover proteção à mucosa gástrica, muito embora este modelo experimental tenha apresentado variação anormal no controle negativo.

30 - *Ensaio de atividade antioxidante:*

Os ensaios avaliaram a atividade antioxidante das enzimas glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxidase (GPx) e os níveis de grupamentos sulfidrila (GSH) na mucosa gástrica de ratos submetidos ao modelo de úlcera induzida por etanol.

Tabela 1 - Efeito da administração oral do extrato das raízes de A. brachypoda sobre a atividade enzimática de GR e GPx da mucosa gástrica de ratos submetidos ao modelo de úlcera induzida por etanol.

Tratamentos	GR (nmol/min/mg de proteína)	GPx (nmol/min/mg de proteína)
Salina	7,65 ± 0,37	19,39 ± 3,86
Lansoprazol	10,53 ± 0,42*	33,54 ± 2,12*
A. brachypoda	8,29 ± 0,85	21,91 ± 3,28

Os dados mostrados na Tabela 1 indicam que a *A. brachypoda* não exerce ação sobre as enzimas GR e GPx, ao contrário do lansoprazol que apresentou maior atividade dessas duas enzimas na mucosa gástrica de ratos.

Tabela 2 - Efeito da administração oral do extrato das raízes de A. brachypoda sobre os níveis de GSH na mucosa gástrica de ratos submetidos ao modelo de úlcera induzida por etanol.

Tratamentos	GSH (nmol/mg de proteína)
Salina	4,81 ± 1,15
Lansoprazol	13,45 ± 2,25*
A. Brachypoda	7,55 ± 2,09

Os níveis de GSH não foram mantidos ou aumentados pela administração oral de *A. brachypoda* aos ratos submetidos ao

modelo de úlcera induzida por etanol, já o tratamento com lansoprazol levou a preservação ou ao aumento dos níveis citosólicos de GSH.

- Úlcera induzida por ácido acético - modelo

5 subcrônico:

Avaliação da toxicidade subcrônica:

As Figuras 3, 4 e 5 são ilustrativas dos dados que representam indicativos de toxicidade subcrônica dos tratamentos experimentais.

10 Um análise da relação entre o peso dos órgãos e dos animais tratados por 7 dias mostrou que os grupos em que foi administrado lansoprazol e *A. brachypoda* apresentaram redução desta relação nos pulmões, este último tratamento também apresentou o mesmo efeito para o coração (Figura 3).

15 A Figura 4 mostra a mesma relação verificada na Figura 3, no entanto, a análise se deu após 14 dias de tratamento e não foram observadas diferenças significantes.

A Figura 5 mostra a evolução de peso corporal dos animais tratados subcronicamente e também serve como
20 indicativo de toxicidade, embora tenha havido queda na média do peso corporal dos animais tratados com lansoprazol, nenhuma diferença estatística significativa foi observada.

Cicatrização da lesão:

25 As Figuras 6 e 7 representam os dados obtidos na verificação da área de lesão ulcerogênica medida após 7 e 14 dias consecutivos de tratamento.

Na Figura 6, observa-se que o tratamento com *A. brachypoda* promoveu redução da área de lesão após o período
30 de 7 dias, bem como o grupo controle administrado com o

lansoprazol.

De acordo com a Figura 7, fica claro que o tratamento com *A. brachypoda* mantém seu efeito cicatrizante após 14 dias consecutivos de tratamento, sendo mais eficiente que o grupo controle lansoprazol.

A Figura 8 mostra a evolução do processo de cicatrização, evidenciado pela redução da área da lesão ao longo do período de tratamento. É importante ressaltar que, após 20 dias, as lesões são recuperadas fisiologicamente.

Os dados mostrados evidenciam a aceleração promovida pelos tratamentos com lansoprazol e *A. brachypoda* na recuperação da mucosa gástrica de ratos.

- Atividade da MPO:

As Tabelas 3 e 4 reúnem os dados obtidos na avaliação da atividade enzimática da enzima MPO.

Tabela 3. Efeito da administração oral do extrato das raízes de A. brachypoda por 7 dias consecutivos sobre a atividade da MPO da mucosa gástrica de animais submetidos ao modelo de úlcera induzida por ácido acético.

Tratamentos	MPO (U/mg de proteína)
Salina	125,10 ± 41,62
Lansoprazol	110,50 ± 33,43
<i>A. brachypoda</i>	166,00 ± 21,61

Após 7 dias de tratamento, os grupos experimentais apresentaram elevada atividade da enzima MPO. Ainda, o grupo tratado com *A. brachypoda* apresentou valores mais elevados que os demais grupos, embora não tenha sido verificada diferença estatística.

Tabela 4. *Efeito da administração oral do extrato das raízes de A. brachypoda por 14 dias consecutivos sobre a atividade da MPO*

da mucosa gástrica de animais submetidos ao modelo de úlcera
induzida por ácido acético.

Tratamentos	MPO (U/mg de proteína)
Salina	148,60 ± 40,30
Lansoprazol	98,05 ± 15,99*
A. brachypoda	64,74 ± 22,02**

Os grupos tratados com lansoprazol e *A. brachypoda* por 14 dias consecutivos tiveram redução da atividade da MPO, com maior significância para este último.

A Figura 9 reúne graficamente os resultados das Tabelas 3 e 4, comparando-os. Uma análise dos resultados obtidos para a atividade da MPO mostra que a mesma encontra-se alta após 7 dias de tratamento, sendo reduzida nos grupos tratados com lansoprazol e *A. brachypoda* por mais de 7 dias, sugerindo uma participação importante da enzima no processo de cicatrização.

- Análise histológica:

As figuras 10A, 10B, 10C, 10D, 10E e 10F e 11A, 11B, 11C, 11D, 11E e 11F correspondem a fotomicrografias dos estômagos dos animais submetidos ao modelo subcrônico de úlcera induzida por ácido acético e tratados por 7 e 14 dias, respectivamente.

A análise das fotomicrografias mostradas na Figura 10 sugere que o tratamento com *A. brachypoda* promoveu recuperação da mucosa, manutenção das glândulas e redução da borda de lesão, o que caracterizou seu efeito protetor, no entanto verifica-se maior extensão da submucosa que pode estar associada ao infiltrado neutrofílico que se desloca para a mucosa.

A Figura 11 mostra que os grupos tratados com lansoprazol e *A. brachypoda* aceleraram a cicatrização da mucosa gástrica em relação ao grupo salina, o qual apresenta grande infiltrado neutrofílico nas camadas mucosa e submucosa. As imagens mostram

intensa redução da lesão nos grupos experimentais, demonstrando a melhora promovida pela administração tanto de lansoprazol quanto de *A. brachypoda*.

- Experimento de indução de úlcera por etanol:

5 A figura 12 evidencia que a atividade antiulcerogênica do extrato das raízes da planta *A. brachypoda* é melhor obtida para as doses de 300 mg.Kg⁻¹.

As demais doses não apresentaram atividade significativa.

10 Em vista deste resultado, os experimentos subsequentes foram realizados com esta dose.

- Experimento de indução de úlcera por AINE:

De acordo com os dados ilustrados na figura 13, o pré-tratamento com o extrato hidroalcoólico da planta *A. brachypoda* na dose de 300 mg.Kg⁻¹ promove a proteção da mucosa no modelo de 15 indução de úlcera por AINE.

- Ligadura do piloro e avaliação dos parâmetros do suco gástrico:

Os resultados apontados na tabela 5 abaixo mostram que o extrato hidroalcoólico das raízes da *A. brachypoda* possui 20 atividade antissecretora, já que se observa um aumento no pH e uma diminuição do volume de secreção no grupo de animais tratados com o extrato, quando comparado com o grupo tratado com a solução salina.

25 Tabela 5 - Volume (mL) e pH da secreção ácida gástrica medidos após a administração intraduodenal do extrato hidroalcoólico de *A. Brachypoda* no modelo de ligadura do piloro

Tratamento	Volume de secreção ácida gástrica (mL)	pH
Salina	0,51 10	4,90 0,13
Lansoprazol	0,81 0,15	5,41 0,04***

Cimetidina	0,31 0,03**	5,39 0,11***
A. brachypoda	0,47 0,09	5,19 0,05***

- Determinação da produção de muco:

Os dados ilustrados na figura 14 mostram que o tratamento com o extrato hidroalcoólico da *A. brachypoda* não interfere na produção de muco aderido à mucosa.

5 - Determinação da MPO e determinação dos níveis de GSH:

Os dados apresentados na tabela 6 abaixo mostram que o tratamento com o extrato hidroalcoólico de *A. brachypoda* mostrou-se eficaz em reduzir a atividade da MPO.

10 *Tabela 6 - Atividade enzimática da MPO em ratos tratados com o extrato hidroalcoólico (70%) das raízes da planta A. brachypoda no modelo de úlceras induzidas por etanol.*

Tratamentos	MPO (U/mg de proteína)
Salina	0,26 0,01
Lansoprazol	0,16 0,04*
A. brachypoda	0,12 0,01**

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de compostos obtidos a partir de extratos da *Arrabidaea brachypoda* **caracterizado** pelo fato de ser no preparo de uma composição farmacêutica para tratar doenças
5 ulcerogênicas.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que as doenças parasitárias são selecionadas do grupo que consistem em úlceras que acometem a pele, úlceras mucosas, úlceras serosas e as úlceras complexas.

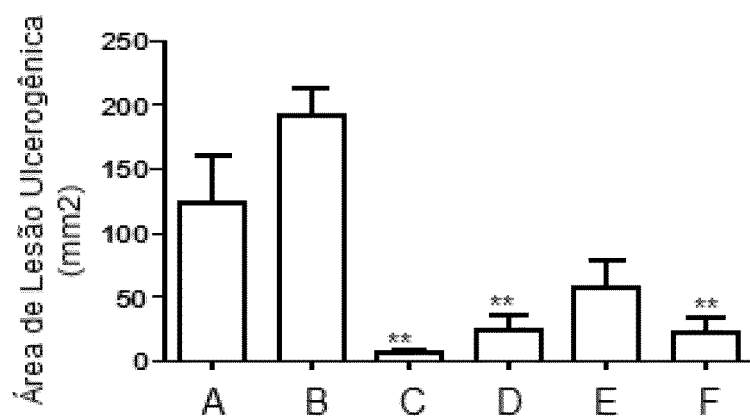


FIGURA 1

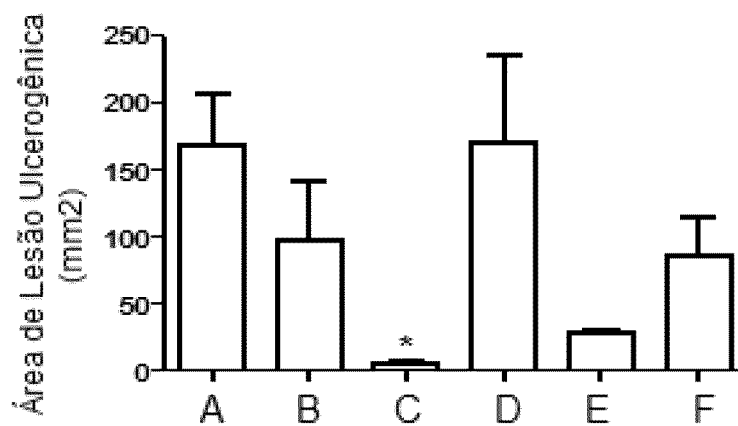


FIGURA 2

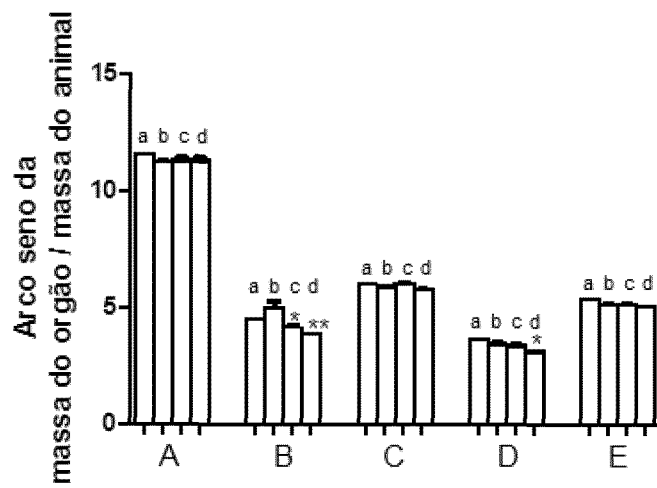


FIGURA 3

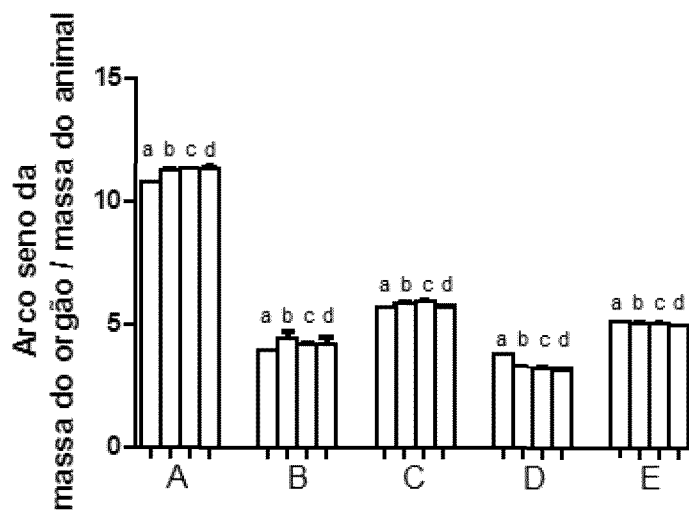


FIGURA 4

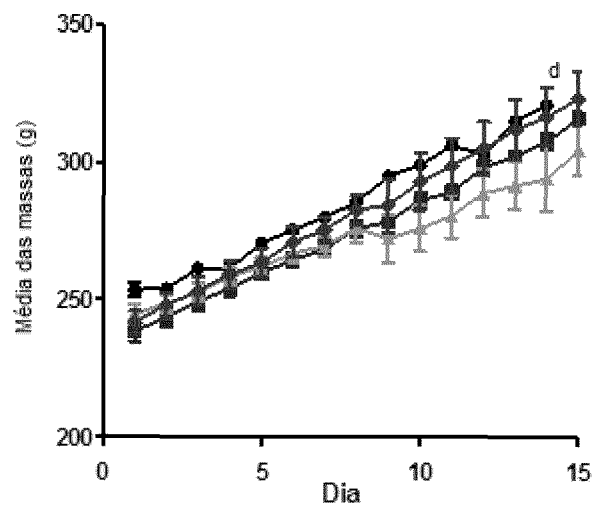


FIGURA 5

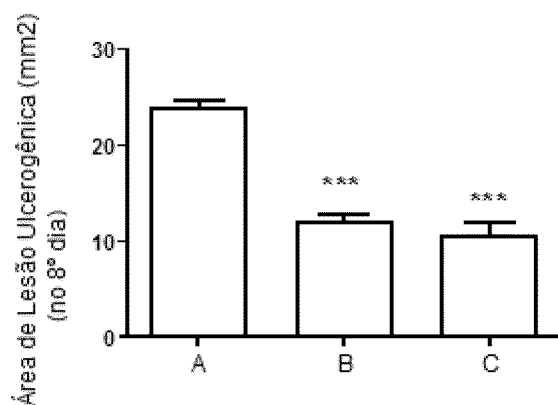


FIGURA 6

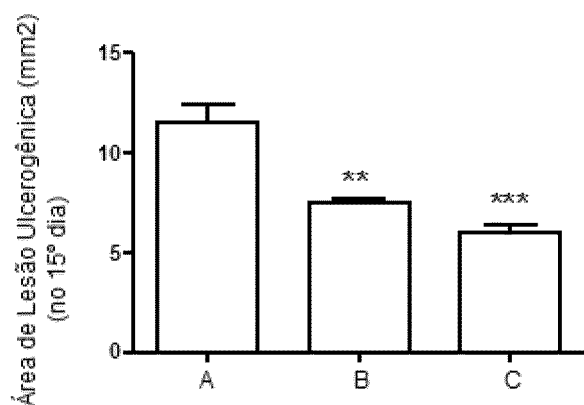


FIGURA 7

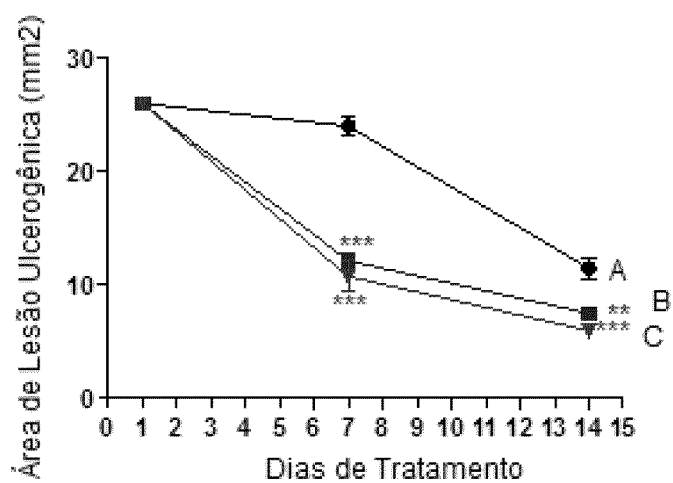


FIGURA 8

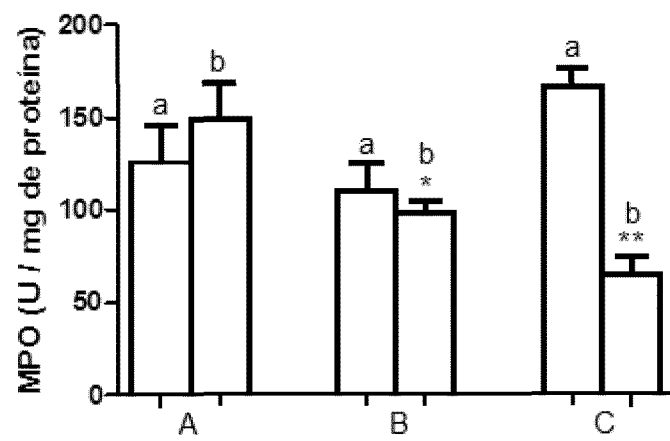


FIGURA 9

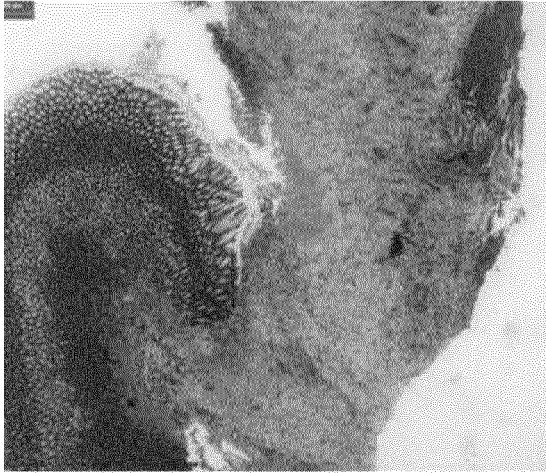


FIGURA 10A

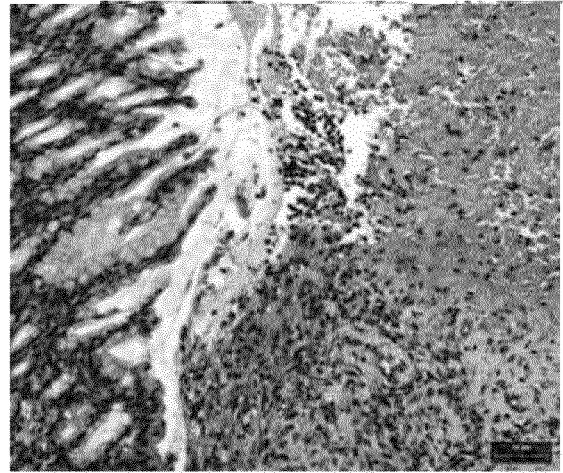


FIGURA 10B

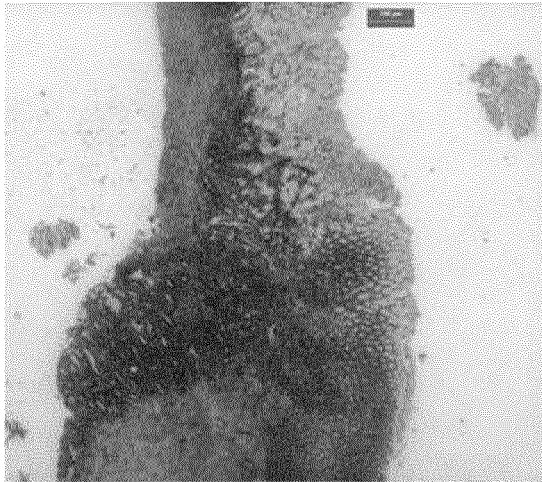


FIGURA 10C

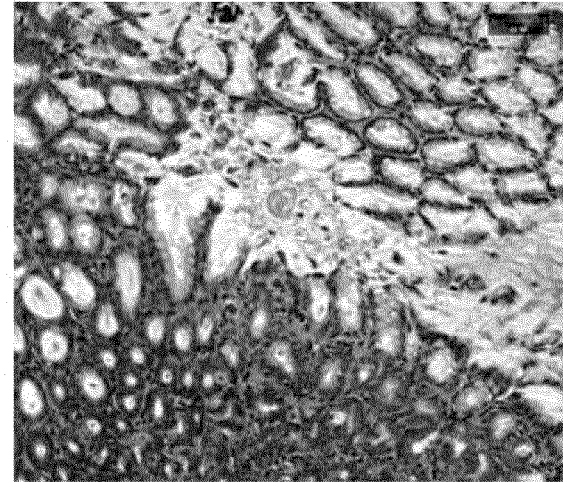


FIGURA 10D



FIGURA 10E

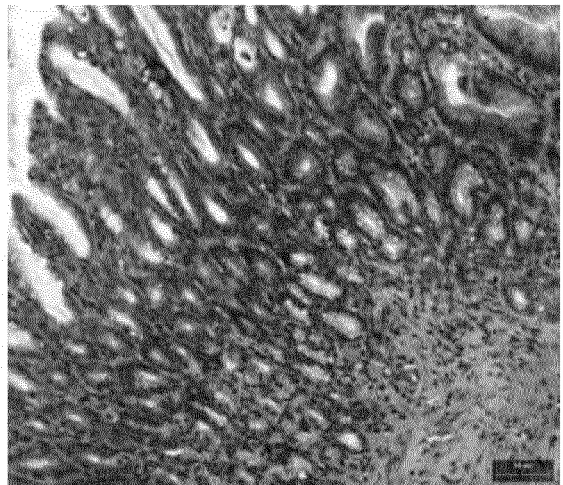


FIGURA 10F

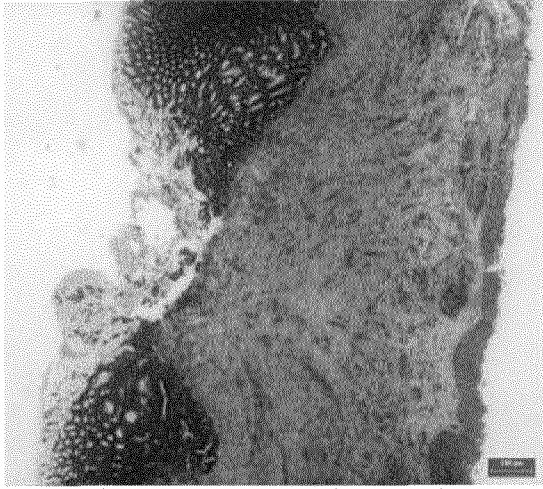


FIGURA 11A

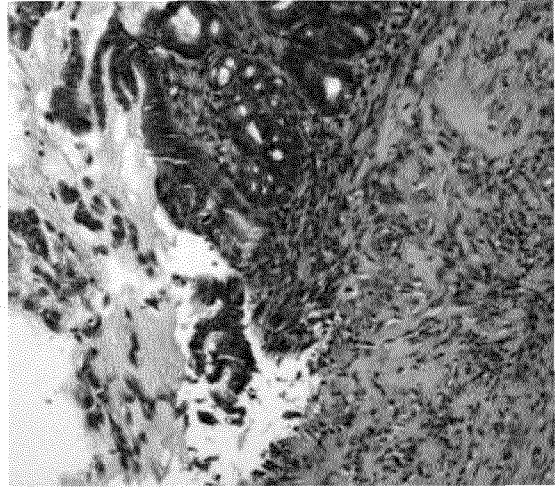


FIGURA 11B

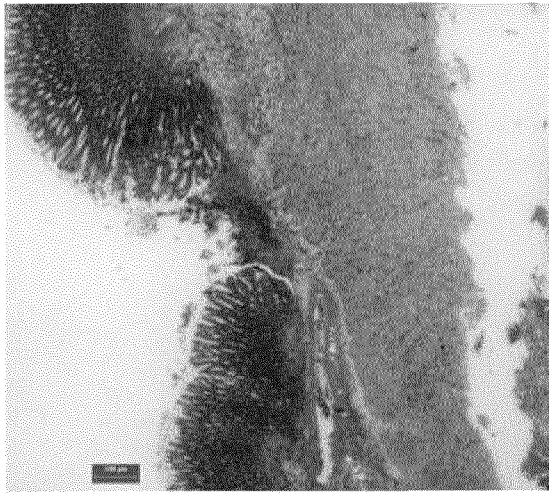


FIGURA 11C

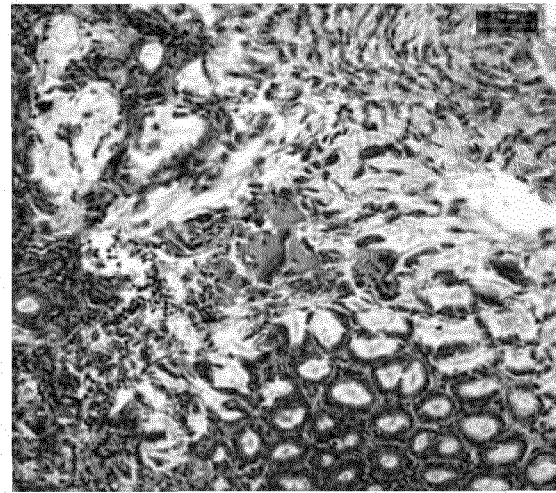


FIGURA 11D

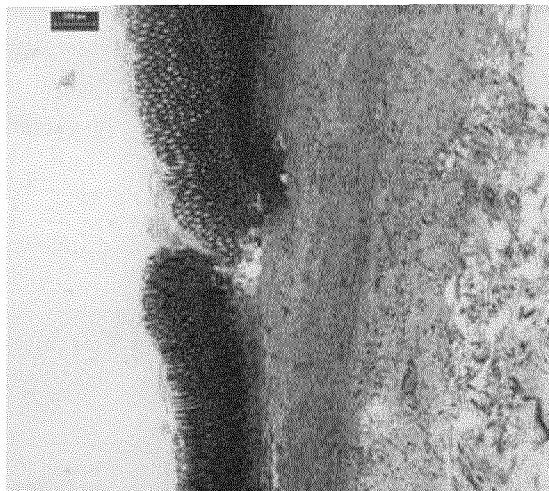


FIGURA 11E

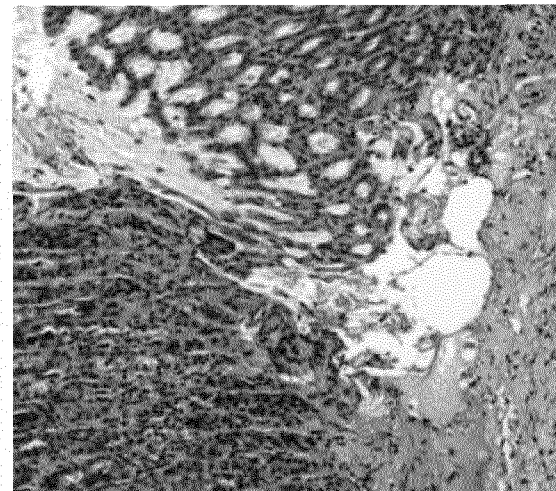


FIGURA 11F

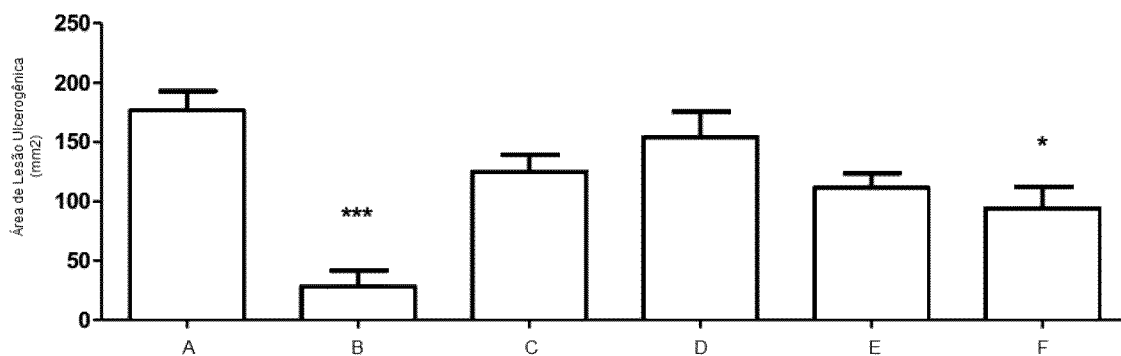


FIGURA 12

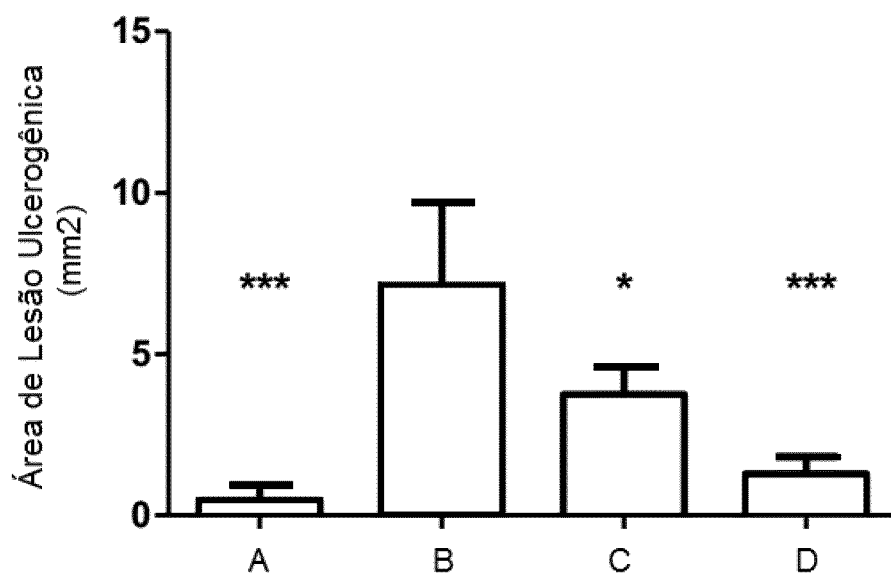


FIGURA 13

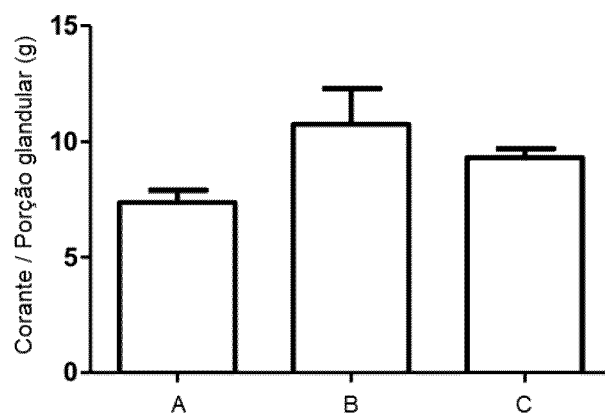


FIGURA 14

Resumo

**USO DE COMPOSTOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DA ARRABIDAEA
BRACHYPODA COMO ANTIULCEROGÊNICO**

Esta invenção descreve o uso de compostos obtidos a
5 partir do extrato de raízes, caules, cascas e folhas de
espécies vegetais do gênero *Arrabidaea*, em especial a
Arrabidaea brachypoda, também conhecida como cipó-una ou
cervejinha do campo, para tratar doenças ulcerogênicas.