



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

BENEDITO YAGO MACHADO PORTELA

**ESTUDO QUÍMICO E EFEITO GASTROPROTETOR DAS INFUSÕES DE
Egletes viscosa (L.) Less.**

Fortaleza

2023

BENEDITO YAGO MACHADO PORTELA

ESTUDO QUÍMICO E EFEITO GASTROPROTETOR DAS INFUSÕES DE *Egletes*
viscosa (L.) Less.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Almeida Santos.

Fortaleza
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P877e Portela, Benedito Yago Machado.
Estudo químico e efeito gastroprotetor das infusões de Egletes viscosa (L.) Less. / Benedito Yago Machado Portela. – 2023.
124 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Flávia Almeida Santos.
1. Úlcera gástrica. 2. Etanol. 3. Indometacina. I. Título.

CDD 615.1

BENEDITO YAGO MACHADO PORTELA

ESTUDO QUÍMICO E EFEITO GASTROPROTETOR DAS INFUSÕES DE *Egletes*
viscosa (L.) Less.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Flávia Almeida Santos
(Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Meneses Oliveira
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. Enilton Aparecido Camargo
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

À **mim** pela coragem, persistência e dedicação que tive neste tempo.

À minha amada **mãe, Vanette Portela**, por ser diariamente meu sustento e minha inspiração de força, garra, determinação e compreensão.

Ao meu **pai, Regino Carlos**, por sempre acreditar em mim e na minha capacidade.

Às minhas **irmãs, Yane Machado e Yara Machado**, pelo apoio, incentivo, cuidado e amor.

Às minhas **sobrinhas, Maria Eliza e Maria Yasmine**, por serem meu maior amor e por me fazerem buscar dias melhores.

Aos meus **avós paternos, Pedro Machado (in memorian) e Zuila Machado**, e **maternos, Chico Neto e Jovelina Portela**.

Ao meu namorado, **Lianderson Matheus**, por ser meu maior incentivador, meu ponto de paz e por todo o suporte fornecido.

À **toda minha família**.

AGRADECIMENTOS

À todos que passaram pela minha vida neste tempo e que contribuíram de alguma forma para o meu crescimento profissional e pessoal. Apesar de difícil, aqui tentarei transformar meus sentimentos em palavras.

À **Deus** pela dádiva da vida e por me abençoar diariamente com Seus planos que, apesar de nem sempre serem compreendidos, são os melhores para mim.

À **Universidade Federal do Ceará** por ofertar oportunidades como essa.

Às **agências de fomento** à pesquisa, **CAPES**, **CNPq** e **FUNCAP**, pelo apoio financeiro e técnico.

À minha **orientadora**, **Profa. Dra. Flávia Almeida Santos**, pelos ensinamentos e apoio científico. Obrigado pela oportunidade e por me aceitar em seu laboratório.

À **Profa. Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira** e ao **Prof. Dr. Enilton Aparecido Camargo** participantes da **banca examinadora de defesa**, e às **Profas. Dras. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal e Lilian Cortez Sombra Vandesmet** e à **Dra. Gerlânia de Oliveira Leite** participantes da **banca examinadora de qualificação**, pelo tempo e pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Prof. Dr. **Roberto César**, **coordenador do** Programa de Pós-Graduação em Farmacologia (**PPGF**), e as **secretárias**, **Milena Jales** e **Laura Alves**, por sempre me atenderem com prontidão e paciência.

Aos meus **pais**, **Regino Carlos de Oliveira** e **Vanette Portela**, que desde sempre acreditaram e me deram suporte para estudar, mesmo não tendo essa experiência na vida deles. É difícil sair do interior e chegar até aqui, mas desde sempre me inspirei na luta dos meus pais, vi eles acordarem cedo para garantir o sustento da nossa família e o nosso estudo. Minha eterna gratidão e amor a vocês.

Às minhas **irmãs**, **Yane Machado** e **Yara Machado**, por na minha ausência se fazerem presentes nas vidas dos meus pais, por todo amor e apoio incondicional que recebo. Obrigado também por me darem os maiores presentes que eu poderia receber, minhas **sobrinhas**, **Maria Eliza** e **Maria Yasmine**. Eu amo vocês.

À toda minha **família** por sempre acreditarem no meu potencial, por me incentivarem sempre a ir atrás dos meus sonhos e por garantir que eu consiga fazer tudo isso com suporte financeiro e emocional. Em especial aos meus **avós maternos**, **Jovelina Portela** e **Chico Neto**. À minha **avó paterna** e a minha **tia/madrinha**, **Zuila Machado** e **Lucinha Machado**. Às minhas **tias maternas**, por serem inspirações, **Vanusa Portela**,

Vaneide Portela, Aparecida Portela, Verlandia Portela e Helena Portela. À minha tia-avó, **Marlene Machado.** Às minhas primas/irmãs, **Andréia Portela, Raysla Portela e Vitória Machado,** e aos meus primos, **Ellen Almeida, Elves Portela, Tainá Portela e Sarah Machado,** por toda irmandade e cumplicidade de sempre.

Ao meu **namorado, Lianderson Matheus,** por diariamente ser minha fonte de força, paz e amor. Obrigado por toda dedicação e companheirismo neste tempo, sem seu apoio tudo seria bem mais difícil.

Aos meus **amigos** por sempre me transmitirem palavras de incentivo e apoio e por se fazerem presentes, em alguns casos à distância, mas sempre presentes. Obrigado **Alailson Martins, Arthur Afonso, Fransklin Pinheiro, Gabriela Soares, Gabrielle Torquato, Júlia Souto, Júnior Mendes, Lilian Vandesmet, Luana Vieira, Luiza Ananda, Raquel Sales, Rayane Cavalcante, Rayssa Cavalcante, Samilla Gzella, Sandy Apolônio, Saulo Menezes, Sidney Henrique, Vinícius Lira e Vinícius Soares.**

Aos meus **companheiros e amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LPN)** levarei todos comigo. Obrigado em especial ao **Renan Pereira, Paulo Iury Nunes e Gabrielle de Paula** pela parceria nos experimentos e por dividirem suas vidas comigo. Obrigado também as meninas que convivi menos tempo, **Virgínia Lima e Tuely Bandeira.**

Aos **alunos de Iniciação Científica, Maria Teresa Alencar, Vinícius Estevão, Giovanna Ferreira e Victória Régia Pinto,** por me auxiliarem nos experimentos e por estarem sempre abertos ao aprendizado. Desejo todo sucesso na vida acadêmica de vocês.

Aos **amigos** que o PPGF me deu, **Thiago Miranda e Maria Felipe,** que estiveram comigo dividindo disciplinas, seminários, angústias e vitórias.

**“Tu te tornas eternamente responsável
por aquilo que cativas”.**

O Pequeno Príncipe.

ESTUDO QUÍMICO E EFEITO GASTROPROTETOR DAS INFUSÕES DE *Egletes viscosa* (L.) Less.

RESUMO

Egletes viscosa (L.) Less. (Asteraceae) é uma erva aromática anual comumente encontrada no nordeste do Brasil, popularmente conhecida como “macela” ou “macela-da-terra”, e tradicionalmente preparada em infusões para o tratamento de distúrbios gastrointestinais. Essa espécie possui dois quimiotipos (A e B), diferenciados a partir da composição do óleo essencial dos capítulos florais. Embora existam estudos prévios sobre o efeito gastroprotetor dos constituintes isolados de *E. viscosa*, suas infusões ainda não foram investigadas. Dessa maneira o presente estudo avaliou o efeito gastroprotetor e antidiarreico das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA) ou quimiotipo B (EVQB) em camundongos, além de descrever os constituintes químicos não voláteis. As infusões foram preparadas de acordo com o modo de preparação tradicional e foram analisadas por meio de uma abordagem metabolômica baseada em Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado a Espectrometria de Massas de Alta Resolução para determinação de suas impressões digitais metabólicas e quantificação de compostos bioativos. 24 compostos foram identificados, entre os quais 7 são derivados de ácidos fenólicos, 3 flavonoides e 14 diterpenos. A quantificação de compostos bioativos demonstrou que EVQA possui maior quantidade de ternatina, tanabalina e centipédico do que o EVQB. A administração oral e única de EVQA e EVQB, na dose de 2000 mg/kg, não promoveu toxicidade aguda, durante 14 dias de observação, em camundongos. O pré-tratamento com EVQA (50, 100 e 200 mg/kg, v.o) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a área de lesões gástricas induzidas por etanol em 74, 70 e 70%, respectivamente, quando comparados ao grupo veículo. Enquanto EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, v.o) reduziu em 60, 59 e 62% a área de lesão gástrica. A avaliação do mecanismo de ação gastroprotetor de EVQA (100 mg/kg, v.o) e EVQB (100 mg/kg, v.o) em modelo de lesões gástricas induzida por etanol, em camundongos, envolveu ação antioxidante e anti-inflamatória, com aumento da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, aumento de glutathione reduzida e dos níveis de nitrito e manutenção do muco gástrico, além da redução dos níveis de malondialdeído e da atividade de mieloperoxidase. O pré-tratamento com inibidor das ciclo-oxigenases (indometacina) e da sintase de óxido nítrico (L-NAME) e com antagonista dos canais de potássio (glibenclamida) e dos receptores de potencial transitório vaniloide tipo 1 (capsazepina), inibiu estatisticamente ($p < 0,05$) o efeito gastroprotetor de EVQA e EVQB no modelo de lesão gástrica induzida por etanol. Além disso, EVQA (100 mg/kg, v.o) e EVQB (100 mg/kg, v.o) foram capazes reduzir o volume da secreção e acidez total e aumentar o pH do conteúdo gástrico em modelo de ligadura de piloro em camundongos. O pré-tratamento com EVQA (50, 100 e 200 mg/kg, v.o) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a área de lesões gástricas induzidas por indometacina em 82, 78 e 87%, respectivamente, quando comparados aos respectivos grupos veículo. Enquanto EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, v.o) reduziu em 71, 75 e 94% a área de lesão gástrica. No modelo de diarreia induzida por óleo de Castor, o pré-tratamento com EVQA ou EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, v.o) não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) em comparação com o grupo veículo em nenhum dos parâmetros analisados. Portanto, ambas as infusões de *E. viscosa* demonstraram potencial gastroportetor mediado por ações antioxidantes e antissecretoras, incluindo a ativação de receptores TRPV1, estimulação de prostaglandinas endógenas e óxido nítrico, abertura de canais K_{ATP} e manutenção de muco gástrico. Além disso, os dois quimiotipos apresentaram composições químicas semelhantes, incluindo a presença dos constituintes biologicamente ativos ternatina, tanabalina e ácido centipédico.

Palavras-chave: Úlcera gástrica; Etanol; Indometacina.

CHEMICAL STUDY AND GASTROPROTECTIVE EFFECT OF *Egletes viscosa* (L.) Less. INFUSIONS.

ABSTRACT

Egletes viscosa (L.) Less. (Asteraceae) is an annual aromatic herb commonly found in northeastern Brazil, popularly known as “macela” or “macela-da-terra”, and traditionally prepared in infusions for the treatment of gastrointestinal disorders. This species has two chemotypes (A and B), differentiated based on the essential oil composition of the flower bud. Although there are previous studies on the gastroprotective effect of constituents isolated from *E. viscosa*, their infusions have not yet been investigated. Thus, the present study evaluated the gastroprotective and antidiarrheal effect of infusions of floral capitula of *E. viscosa* chemotype A (EVCA) or chemotype B (EVCB) in mice, in addition to describing the non-volatile chemical constituents. The infusions were prepared according to the traditional method of preparation and were analyzed using a metabolomics approach based on Ultra Performance Liquid Chromatography coupled with High Resolution Mass Spectrometry to determine their metabolic fingerprints and quantification of bioactive compounds. 24 compounds were identified, among which 7 are derived from phenolic acids, 3 are flavonoids and 14 are diterpenes. The quantification of bioactive compounds showed that EVCA has a higher amount of ternatin, tanabalin and centipedic than EVCB. Single oral administration of EVCA and EVCB, at a dose of 2000 mg/kg, did not cause acute toxicity during 14 days of observation in mice. Pre-treatment with EVCA (50, 100 and 200 mg/kg, p.o) significantly ($p<0.05$) reduced the area of ethanol-induced gastric lesions by 74, 70 and 70%, respectively, when compared to the vehicle group. While EVCB (50, 100 and 200 mg/kg, p.o.) reduced the gastric lesion area by 60, 59 and 62%. The evaluation of the gastroprotective mechanism of action of EVCA (100 mg/kg, p.o) and EVCB (100 mg/kg, p.o) in a model of gastric lesions induced by ethanol, in mice, involved antioxidant and anti-inflammatory action, with an increase in activity of catalase and superoxide dismutase enzymes, increase in reduced glutathione and nitrite levels and maintenance of gastric mucus, in addition to a reduction in malondialdehyde levels and myeloperoxidase activity. Pre-treatment with a cyclooxygenase (indomethacin) and nitric oxide synthase (L-NAME) inhibitor and with a potassium channel antagonist (glibenclamide) and transient receptor potential vanilloid type 1 (capsazepine), statistically inhibited ($p<0.05$) the gastroprotective effect of EVCA and EVCB in the model of ethanol-induced gastric injury. Furthermore, EVCA (100 mg/kg, p.o) and EVCB (100 mg/kg, p.o) were able to reduce secretion volume and total acidity and increase the pH of gastric contents in a pyloric ligation model in mice. Pre-treatment with EVCA (50, 100 and 200 mg/kg, p.o) significantly ($p<0.05$) reduced the area of gastric lesions induced by indomethacin by 82, 78 and 87%, respectively, when compared to the respective groups vehicle. While EVCB (50, 100 and 200 mg/kg, p.o) reduced the area of gastric lesion by 71, 75 and 94%. In the castor oil-induced diarrhea model, pretreatment with EVCA or EVCB (50, 100, and 200 mg/kg, p.o.) showed no statistical difference ($p<0.05$) compared to the vehicle group in any of the analyzed parameters. Therefore, both infusions of *E. viscosa* demonstrated gastroprotective potential mediated by antioxidant and antisecretory actions, including activation of TRPV1 receptors, stimulation of endogenous prostaglandins and nitric oxide, opening of KATP channels and maintenance of gastric mucus. Furthermore, the two chemotypes showed similar chemical compositions, including the presence of the biologically active constituents ternatin, tanabalin and centipedic acid.

Keywords: Gastric ulcer; Ethanol; Indomethacin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Divisão anatômica do estômago humano (A) e de roedores (B).	20
Figura 2- Estimulação da célula parietal para secreção do ácido clorídrico.	24
Figura 3- Ação do sistema antioxidante sobre as espécies reativas de oxigênio.....	29
Figura 4- Crescimento de <i>Egletes viscosa</i> após baixa das águas.	42
Figura 5 - Capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i>	42
Figura 6- Estrutura química dos compostos: ternatina (1); tanabalina (2) e ácido centipédico (3).	43
Figura 7 - Folhas de <i>Egletes viscosa</i> : (A) quimiotipo "A", rico em acetato de transpinocarveíla; (B) quimiotipo "B" rico em acetato de cis-isopinocarveíla.	44
Figura 8 - Cromatogramas CLUE-EMAR das infusões dos capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i>	62
Figura 9 - Ganho de peso dos animais submetidos a avaliação de toxicidade aguda das infusões de <i>Egletes viscosa</i>	65
Figura 10 - Consumo de ração e água dos animais submetidos a avaliação de toxicidade aguda das infusões de <i>Egletes viscosa</i>	66
Figura 11 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	67
Figura 12- Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre as alterações histológicas do tecido gástrico induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	68
Figura 13 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre muco gástrico em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.	70
Figura 14 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre a atividade enzimática de mieloperoxidase (MPO) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. ..	74
Figura 15 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.....	75
Figura 16 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.....	76
Figura 17 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclâmida.....	77
Figura 18 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com capsazepina.	78

Figura 19 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre volume gástrico em camundongos.....	79
Figura 20 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre acidez total da secreção gástrica em camundongos.	79
Figura 21 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre pH gástrico em camundongos.	80
Figura 22 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	81
Figura 23 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre o tempo de início da diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.....	83
Figura 24 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre conteúdo intestinal na diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.....	83
Figura 25- Resumo gráfico.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização química baseada na análise CLUE-EMAR para as infusões dos capítulos florais de <i>Egletes viscosa</i>	63
Tabela 2 - Efeitos das infusões de <i>Egletes viscosa</i> nas alterações histopatológicas induzidas por etanol em camundongos.....	69
Tabela 3 - O efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre os níveis de peroxidação lipídica (MDA), glutathiona (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase e nitrito no estômago glandular de camundongos tratados com etanol absoluto.	73
Tabela 4 - Efeito das infusões de <i>Egletes viscosa</i> sobre diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.	82

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACH	Acetilcolina
ADP	Adenosina difosfato
AINEs	Anti-inflamatórios não-esteroidais
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CCKBR	Receptores da colecistoquinina B
CEUA	Comissão de Ética no uso de Animais
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CLUE	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência
COX	Ciclo-oxigenases
DAG	Diacilglicerol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTNB	5,5-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico)
ECL	Células enterocromafins
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EMAR	Espectrometria de Massas de Alta Resolução
EP3	Prostaglandina E do tipo 3
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EVQA	<i>E. viscosa</i> quimiotipo A
EVQB	<i>E. viscosa</i> quimiotipo B
GLP-1	Peptídeo-1 semelhante ao glucagon
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione redutase
GSH	Glutathione reduzida
GSSH	Glutathione oxidada

H&E	Hematoxilina & Eosina
H ⁺ /K ⁺ -ATPase	Bomba de prótons
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
IBPs	Inibidores da Bomba de Prótons
IP3	1, 4, 5- inositol trisfosfato
L-NAME	N ^ω -nitro-L-arginina metil éster
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
NAC	N-acetilcisteína
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NO	Óxido nítrico
O ₂ • ⁻	Superóxido
OME	Omeprazol
PGE2	Prostaglandina E 2
PGI2	Prostaglandina I 2
PGs	Prostaglandinas
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
PKC	Proteína quinase C
ROOH	Peróxido lipídico
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNE	Sistema Nervoso Entérico
SOD	Superóxido dismutase
SST	Somatostatina
SSTR2	receptor de somatostatina do tipo 2
TGI	Trato gastrointestinal
TRPV1	Receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1
UP	Úlcera Péptica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 GENERALIDADES DO TRATO GASTRINTESTINAL	19
1.1.1 Estômago	20
1.1.1.1 Fisiologia da secreção gástrica	22
1.1.1.2 Mecanismos protetores da mucosa gástrica	26
1.1.1.3 Sistema antioxidante e proteção gástrica	28
1.1.2 Intestino	30
1.2 DISTÚRBIOS GASTRINTESTINAIS: ÚLCERA GÁSTRICA E DIARRÉIA	32
1.2.1 Úlcera Gástrica	32
1.2.2 Diarreia	36
1.3 PLANTAS MEDICINAIS COM AÇÃO GASTROPROTETORA E ANTIDIARREICA	39
1.4 <i>Egletes viscosa</i> (L.) Less.	41
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA	47
3 OBJETIVOS	49
3.1 OBJETIVO GERAL	49
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
4 METODOLOGIA	50
4.1 MATERIAL VEGETAL	50
4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS AQUOSOS DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>Egletes viscosa</i> POR INFUSÃO	50
4.3 ANÁLISE CLUE-EMAR NÃO DIRECIONADA E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	50
4.4 ANIMAIS	51
4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	52
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DAS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	52
4.6.1 Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto	52
4.6.1.1 Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto	53
4.6.1.2 Determinação do conteúdo de muco gástrico	53

4.6.1.3 Avaliação dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação	54
4.6.1.3.1 Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)	54
4.6.1.3.2 Determinação dos níveis de glutathione (GSH)	55
4.6.1.3.3 Ensaio enzimático da catalase	55
4.6.1.3.4 Ensaio enzimático da superóxido dismutase (SOD)	56
4.6.1.3.5 Avaliação dos níveis de nitrito	56
4.6.1.3.6 Ensaio da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)	57
4.6.1.4 Avaliação do papel das Prostaglandinas, do Óxido Nítrico (NO), dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e do Receptor de Potencial Transitório Vaniloide tipo 1 (TRPV-1) no efeito gastroprotetor das infusões de <i>Egletes viscosa</i>	57
4.6.2 Determinação de volume gástrico, acidez e pH em modelo de ligadura de piloro	58
4.6.3 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos	58
4.7 AVALIAÇÃO DA DIARREIA INDUZIDA POR ÓLEO DE CASTOR EM ANIMAIS TRATADOS COM AS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	60
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
5 RESULTADOS	61
5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS INFUSÕES DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>Egletes viscosa</i>	61
5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	65
5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DAS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	66
5.3.1 Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto	66
5.3.1.1 Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto	67
5.3.1.2 Determinação do conteúdo de muco gástrico	69
5.3.1.3 Avaliação dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação	70
5.3.1.3.1 Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)	70
5.3.1.3.2 Determinação dos níveis de glutathione reduzida (GSH)	71
5.3.1.3.3 Ensaio enzimático da catalase (CAT)	71
5.3.1.3.4 Ensaio enzimático da superóxido dismutase (SOD)	71
5.3.1.3.5 Avaliação dos níveis de nitrito	72
5.3.1.3.6 Ensaio da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)	74

5.3.1.4 Avaliação do papel das Prostaglandinas, do Óxido Nítrico (NO), dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (KATP) e do Receptor de Potencial Transitório Vaniloide tipo 1 (TRPV-1) no efeito gastroprotetor das infusões de <i>Egletes viscosa</i>	74
5.3.2 Determinação de volume, acidez e pH gástrico em modelo de ligadura de piloro	78
5.3.3 Lesões gástricas induzidas por indometacina	80
5.4 AVALIAÇÃO DA DIARREIA INDUZIDA POR ÓLEO DE CASTOR EM ANIMAIS TRATADOS COM AS INFUSÕES DE <i>Egletes viscosa</i>	81
6 DISCUSSÃO	85
7 CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS	96
ANEXO I - FOLHA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	121
ANEXO II - FOLHA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	124
ANEXO III – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO	123

1 INTRODUÇÃO

Os distúrbios gastrointestinais consistem em condições clínicas amplas, que vão desde a dispepsia até doenças inflamatórias intestinais e cânceres. Essas desordens possuem causas multifatoriais e incluem doenças como a colite ulcerativa, doença de Crohn, tumores malignos gastrointestinais, síndrome do intestino irritável, gastrite, diarreia aguda e úlcera gástrica (DUMIC *et al.*, 2019; RANJBAR *et al.*, 2022).

Inclusa nessas desordens, a úlcera gástrica é uma doença invasiva que possui prevalência e incidência diminuídas nos últimos anos, mas que apresenta taxas de morbidade e mortalidade associadas a complicações, tais como hemorragia e perfuração do tecido gástrico. Dois a dez% dos pacientes diagnosticados com úlcera apresentam perfuração do tecido gástrico, na qual aproximadamente 70% desses pacientes vão a óbito. Essa doença acomete mais pessoas na faixa etária de 40 a 60 anos sem distinção de sexo, entretanto as complicações ocorrem em pacientes mais jovens do sexo masculino e mulheres com idade mais avançada (REES; POLLACK; RIESE, 2019; TSAI; BROOKS, 2019).

No Brasil, essas complicações caracterizam-se como um grave problema de saúde pública, na qual 7% dos pacientes apresentam perfuração do tecido gástrico e 15% hemorragia (TSAI; BROOKS, 2019). Além disso, apesar da comprovada eficácia do tratamento convencional, por exemplo, com os Inibidores da Bomba de Prótons (IBPs), ele está associado a efeitos colaterais relacionados ao uso crônico, como a diarreia, náusea, hipocloridria, entre outros (KOYYADA, 2021).

A diarreia, um outro distúrbio gastrointestinal, é uma importante causa de mortalidade em crianças menores de 5 anos. Apesar da taxa de mortalidade por diarreia nessa faixa etária tenha diminuído em mais de 30% nos últimos 15 anos, a mesma continua sendo a segunda principal causa de morte. Para mais, nos países em desenvolvimento as taxas de morbimortalidade continuam altas (GOUVEIA; LINS; SILVA, 2020). O tratamento farmacológico para a diarreia inclui os agentes antimotilidade, como a loperamida que atua como um potente agonista opióide no intestino e reduz a motilidade intestinal, causando lentidão no transporte intestinal e aumento da reabsorção de água e eletrólitos. Entretanto, o tratamento com esse fármaco pode gerar efeitos colaterais como inchaço, dor abdominal, náuseas, vômitos e constipação (GUNNARSDOTTIR *et al.*, 2018).

Dessa forma, a pesquisa por produtos naturais advindos de plantas medicinais ganha destaque, uma vez que as mesmas são opções potenciais para restaurar a saúde trato gastrointestinal e reduzir os sintomas dos distúrbios gastrointestinais (MOBEEN; MOAZZAM, 2022). Nesse sentido, é possível citar *Egletes viscosa* (L.) Less. (Asteraceae) (macela ou macela-da-terra), que é uma pequena erva anual, amarga, aromática, nativa dos trópicos americanos, incluindo o Brasil, onde é encontrada principalmente na região nordeste. Os capítulos florais de *E. viscosa* são utilizados na medicina popular para tratar desordens digestivas e intestinais, como cólicas, úlcera gástrica, azia, dispepsia e diarreia (GUEDES *et al.*, 2002, 2008; LORENZI; MATOS, 2002; MAGALHÃES *et al.*, 2019; RAO *et al.*, 1997).

Egletes viscosa possui dois quimiotipos (A e B) que se diferenciam principalmente pelo constituinte majoritário do óleo essencial. O quimiotipo A apresenta em seu óleo essencial o acetato transpinocarveil como constituinte majoritário, já o acetato cis-isopinocarveil é o composto majoritário do quimiotipo B (CARVALHO *et al.*, 2020). Além disso, é possível diferenciar os quimiotipos pela morfologia das folhas, mas não pelos capítulos florais. Uma análise fitoquímica da infusão dos capítulos florais de *E. viscosa* revelou a presença de 12-acetoxi-7-hidroxi-3,13(14)-clerodandien-18,19:15,16-diolido, ternatina, ácido centipédico e 12-acetoxi-hawtriwaico lactona no quimiotipo A, enquanto o quimiotipo B era composto por 12-acetoxi-7-hidroxi-3,13(14)-clerodandien-18,19:15,16-diolide, 12-epi-bacotricuneatina, ternatina e escopoletina (VIEIRA *et al.*, 2006).

Embora haja um abundante uso popular das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* para tratar distúrbios gastrointestinais, os mecanismos gastroprotetores das infusões de ambos os quimiotipos ainda não foram avaliados. Além disso, sua composição química não volátil não foi distinguida e investigada em profundidade. Portanto, nosso estudo visa contribuir para a validação do uso popular de infusões de *E. viscosa* para tratar distúrbios gastrointestinais, discriminando os dois quimiotipos com base em sua composição não volátil e comparando sua atividade gastroprotetora.

1.1 GENERALIDADES DO TRATO GASTRINTESTINAL

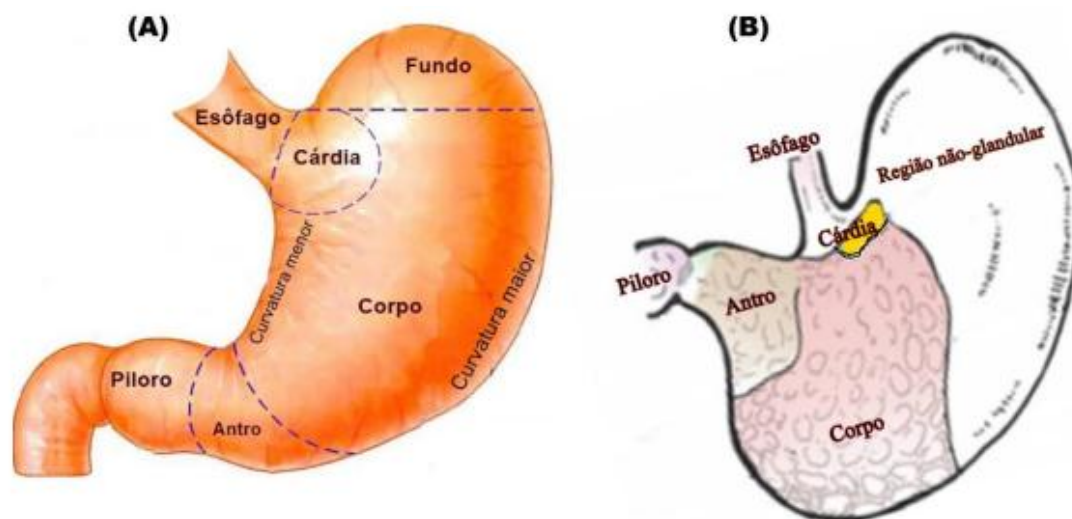
O Trato Gastrointestinal (TGI) consiste em um tubo muscular que se estende da boca ao ânus e é constituído por um conjunto de órgãos cujas as principais funções são transportar, digerir e absorver substâncias e nutrientes a partir dos alimentos ingeridos.

Os principais órgãos do TGI são boca, esôfago, estômago e intestino, que conta também com órgãos acessórios como as glândulas salivares, pâncreas, fígado e vesícula biliar (CAMPBELL, 2014; DUMIC *et al.*, 2019; MEERVELD; JOHNSON; GRUNDY, 2017).

1.1.1 Estômago

O estômago é uma estrutura muscular do canal alimentar proximal que possui diversas funções como armazenamento e digestão parcial dos alimentos, regulação hormonal da homeostase metabólica, controle do apetite e da saciedade, entre outras. Situado entre o esôfago e o duodeno, o estômago humano adulto tem capacidade de armazenar entre 0,25 a 1,7 litros e é considerado a estrutura de maior dilatação do trato gastrointestinal (TGI). Em humanos, esse órgão apresenta um epitélio glandular colunar dividido em cárdia, corpo, fundo, antro, piloro ou região pilórica, já em camundongos esse órgão apresenta na região anterior do estômago uma região não glandular caracterizada pelo epitélio escamoso estratificado queratinizado semelhante ao do esôfago (Figura 1) (HUNT *et al.*, 2015; KIM; SHIVDASANI, 2016; MCCracken; WELLS, 2017; ROMAN; SHIVDASANI, 2011).

Figura 1- Divisão anatômica do estômago humano (A) e de roedores (B).



Fonte: (SHEH; FOX, 2013), adaptado.

As regiões do fundo e corpo do estômago são responsáveis por exercer a função de armazenamento devido a capacidade expansão do seu volume para manter o material que ainda não sofreu digestão. A região antral, por sua vez, desempenha o papel de

misturar o bolo alimentar e esvaziar o órgão. Para isso, o estômago secreta o suco gástrico e logo em seguida acontece as contrações gástricas, garantindo assim os processos de diluição, moagem e esmagamento do bolo alimentar. O peristaltismo será responsável por direcionar o conteúdo antral rumo a região pilórica, para em seguida acontecer o esvaziamento gástrico (KONG; SINGH, 2008; MATSUKURA; SHIROTA; ASANO, 1985).

A mucosa gástrica é formada por uma diversidade de células que possuem funções distintas, são elas: as células parietais secretoras de ácido clorídrico e fator intrínseco; as células caliciformes produtoras de muco; as células principais produtoras de pepsinogênio; as células enterocromafins (ECL) que liberam histamina e serotonina; as células G que secretam gastrina para a corrente sanguínea; e, por fim, as células D que liberam o hormônio somatostatina (SST) (SENSOY, 2021; WALDUM; HAUSO; FOSSMARK, 2014).

Sendo composta por quatro camadas principais (mucosa, submucosa, muscular e serosa), a parede gástrica possui cerca 3-4 mm de espessura (KIERSZENBAUM; TRES, 2015). As camadas mucosa e submucosa são compostas por um epitélio colunar simples que apresenta células superficiais que tem o citoplasma apical composto por vesículas de mucinas. Essas mucinas formam a camada de muco, sendo os genes MUC5AC e MUC6 de mucina os mais expressos no estômago. O muco tem como função manter o microambiente neutro com pH na superfície da mucosa variando de 6-7, além de proteger a mucosa da ação do ácido clorídrico e da pepsina (JIN *et al.*, 2017).

A camada muscular do tecido gástrico é composta por músculo liso circular e longitudinal, sendo a mesma responsável pelas contrações segmentares e movimentos peristálticos do TGI. Já última camada, mais conhecida como serosa, é constituída por um tecido conectivo fibroso formado por um epitélio escamoso simples, essa camada é encarregada de formar o peritônio visceral e o tecido conectivo subjacente (KIM; SHIVDASANI, 2016).

1.1.1.1 Fisiologia da secreção gástrica

A principal função secretora do estômago é a secreção do ácido gástrico, a mesma deve ser regulada com todo esmero e produzida conforme for necessário para utilizar-se benéficamente desse mecanismo, a fim de minimizar os possíveis danos. Dentre as funções do ácido gástrico é possível destacar: manter um ambiente relativamente estéril

do estômago e do intestino delgado; auxiliar na digestão de proteínas; e facilitar a absorção de ferro, cálcio e vitamina B12 (BETESH *et al.*, 2015; SCHUBERT, 2017; WALDUM; KLEVELAND; FOSSMARK, 2015).

O ácido gástrico é secretado pela bomba de prótons (H^+/K^+ -ATPase) através das células parietais. A bomba de prótons é responsável por realizar a troca dos íons hidrogênio (H^+) por íons potássio (K^+), na qual os H^+ são carregados contra o gradiente de concentração para o lúmen gástrico. Paralelamente à secreção de H^+ e à reciclagem de K^+ , o cloreto (Cl^-) influi pela membrana basolateral e é extrudado pela membrana apical das células parietais, o que garante a formação de HCl no lúmen gástrico. Nos compartimentos túbulo-vesiculares citoplasmáticos da célula parietal é onde se encontra a bomba de prótons no seu estado de repouso. Ao receber o estímulo secretor, as túbulo-vesículas movem-se pela célula parietal até a região apical das células e se fundem a membrana plasmática. Por dia, são produzidas cerca de 25% da quantidade total da bomba de prótons, uma vez que a sua meia-vida é por volta de 50 horas (SCHUBERT, 2016; YAO; SMOLKA, 2019).

A bomba de prótons é formada por duas subunidades: α e β . A subunidade α contém um sítio catalítico e realiza a troca de H^+ por K^+ com gasto energético obtido da quebra de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP). A subunidade β é de grande importância para a bomba de prótons, pois é necessária no deslocamento das túbulo-vesículas para a região apical da membrana da célula parietal e protege a mesma de degradação (ENGEVIK; KAJI; GOLDENRING, 2020).

A produção da secreção ácida acontece quando receptores acoplados as células parietais são ativados. Esses receptores podem ser estimulados por diferentes vias, como a via hormonal através da gastrina secretada pelas células G; a via parácrina por meio da histamina secretada por ECL oxínticas; a via neural por intermédio da acetilcolina (ACH), secretada pelos neurônios oxínticos (corpo e fundo do estômago) e antrais intramurais pós-ganglionares, e SST; e estimulação química pelas proteínas, glutamato, etanol e físicos pela distensão (SCHUBERT, 2010; YAO; SMOLKA, 2019).

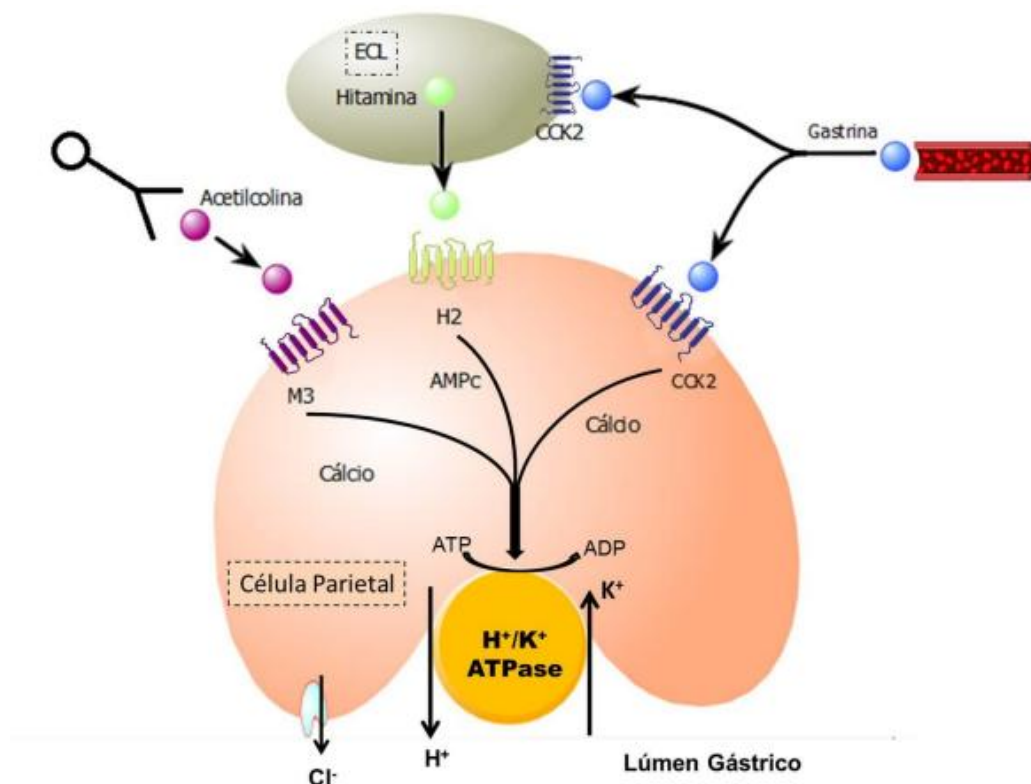
O neurotransmissor ACH estimula as células parietais através da ligação aos seus receptores muscarínicos, especificamente o do tipo 3 (M3), por ser amplamente distribuído no tecido gástrico. Quando ativados, esses receptores estimulam a fosfolipase C a clivar por hidrólise o fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) em diacilglicerol (DAG) e 1, 4, 5- inositol trisfosfato (IP3), estimulando, por conseguinte, a liberação de cálcio no citoplasma. O cálcio e o DAG atuam em conjunto para ativar a proteína quinase C (PKC)

dependente de cálcio. A PKC leva à fosforilação e ativação da bomba de prótons, e, por fim, estimula a secreção de ácido clorídrico (Figura 2). A fonte de ACH é o nervo vago (nervo craniano X) (MEGHA; FAROOQ; LOPEZ, 2020).

Entre um dos fatores responsáveis pela secreção de HCl, a gastrina é um hormônio péptico secretado pelas células G do antro. O mesmo é liberado a partir da estimulação vagal e do peptídeo liberador de gastrina em resposta à ingestão de peptídeos, aminoácidos, distensão gástrica e pH estomacal aumentado. A gastrina se liga aos receptores da colecistoquinina B (CCKBR) na membrana basal das células parietais para induzir a expressão e aumento da atividade da bomba de prótons ($H^+ / K^+ ATPase$) que irá aumentar secreção de íons hidrogênio para o estômago (Figura 2) (PROSAPIO; SANKAR; JIALAL, 2020; SCHUBERT, 2016; XIAOLI *et al.*, 2017).

A gastrina também é capaz de aumentar indiretamente a produção de HCl por estimulação das células semelhantes a ECL para liberar histamina, que se liga aos receptores de histamina do tipo 2 (H_2) nas células parietais. Quando ativados, os receptores H_2 estimulam a adenilato ciclase a converter adenosina trifosfato (ATP) em adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Em seguida a proteína quinase A é ativada pelo AMPC, que estimula a via dependente de AMPC, aumentando os níveis de cálcio dentro da célula, causando a ativação da bomba de prótons da célula parietal e consequente estimulação da secreção ácida gástrica (Figura 2) (HSU; SAFADI; LUI, 2020; MEGHA; FAROOQ; LOPEZ, 2020; PATEL; MOHIUDDIN, 2020).

Figura 2- Estimulação da célula parietal para secreção do ácido clorídrico.



Fonte: VIANA, 2017.

CCK2 (receptor de colecistocinina tipo 2); ECL (célula enterocromafin); H2 (receptor de histamina tipo 2); M3 (receptor muscarínico tipo 3); AMPc (monofosfato cíclico de adenosina); ATP (trifosfato de adenosina); ADP (difosfato de adenosina); H⁺ /K⁺ ATPase (bomba de prótons).

O pepsinogênio, por sua vez, é secretado, principalmente, pelas células pépticas e mucosas das glândulas gástricas e só exerce atividade digestiva na sua forma ativa, a pepsina. Para isso, é necessário que o pepsinogênio entre em contato com o HCl e seja ativado. As células cervicais das mucosas secretam pepsinogênio em pequenas quantidades e grandes quantidades de muco, que auxiliará na lubrificação do bolo alimentar e na proteção da parede gástrica da ação digestiva das enzimas gástricas (HUNT *et al.*, 2015).

A secreção gástrica pode ser controlada a partir de mecanismos inibitórios, a fim de manter a funcionalidade do estômago em condições normais. O principal inibidor da secreção de ácido é a SST, liberada pelas células D oxínticas e antrais. O peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1) também inibe a secreção de ácido por estimular a secreção de SST. Além da SST e GLP-1, outros agentes como as prostaglandinas, a adrenomedulina, a amilina e o peptídeo natriurético atrial também são capazes de inibir a secreção de ácido (ENGEVIK; KAJI; GOLDENRING, 2020; SCHUBERT, 2016).

A SST é um hormônio produzido em muitos locais do corpo humano, incluindo o TGI, a qual as células D produzem cerca de 65% da SST encontrada em todo o corpo. As células D são estimuladas a produzir SST quando o lúmen do estômago atinge uma determinada acidez. Após sua liberação, a SST suprime a liberação de gastrina e, consequentemente, reduz a produção de ácido gástrico (EGEROD *et al.*, 2015; O'TOOLE; SHARMA, 2020; RORSMAN; HUISING, 2018).

A ativação do receptor de somatostatina do tipo 2 (SSTR2) é a principal responsável pelo efeito inibitório na secreção gástrica ocasionado pela SST. OS SSTR2 são receptores acoplados a proteína G do tipo inibitória (Gi). Quando ativada a proteína Gi inibe a produção de AMPc, que consequentemente irá inibir a secreção gástrica. Os SSTR2, no TGI, são encontrados principalmente nas células parietais e ECL, na qual irão atuar na inibição da secreção de histamina e indiretamente inibindo a secreção ácida (EGEROD *et al.*, 2015; ENGEVIK; KAJI; GOLDENRING, 2020).

Alguns receptores aumentam a secreção de SST, dentre eles destacam-se: os receptores sensíveis ao cálcio, receptores adrenérgicos, receptores muscarínicos M3, receptores de GLP-1, receptores de polipeptídeo inibitório gástrico, CCKBR, receptores de melanocortina MC1, receptores de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), receptores de adrenomedulina e receptores de peptídeo intestinal vasoativo. Os receptores acoplados à inibição da secreção de SST incluem os receptores muscarínicos do tipo M4 que, quando ativados pela acetilcolina, inibem a liberação de SST, resultando no aumento da secreção ácida (ADRIAENSSENS *et al.*, 2015; TAKEUCHI *et al.*, 2016).

As prostaglandinas (PGs) são produtos derivados da reação catalítica do ácido araquidônico por meio das enzimas ciclo-oxigenases (COX), principalmente pelas suas isoformas COX-1 e COX-2. As PGs possuem extensa distribuição no corpo humano, podendo estar presente em diversos órgãos e sistemas como o TGI, por exemplo. No TGI, as mesmas estão envolvidas na regulação de diversas funções, incluindo a regulação da secreção gástrica quando ativam os receptores de prostaglandina E do tipo 3 (EP3). Esses receptores EP3 estão presentes nas células parietais e são acoplados proteína Gi que inibe a enzima adenilato ciclase e, consequentemente, irá inibir a secreção de HCl, pois essa inibição promove redução dos níveis de AMPc. Assim, os níveis baixos de AMPc na célula não serão suficientes para ativar a bomba de prótons (SULEYMAN *et al.*, 2010).

1.1.1.2 Mecanismos protetores da mucosa gástrica

A mucosa gástrica constantemente é exposta a agentes nocivos, entretanto, em condições normais, a mesma utiliza-se de mecanismos protetores para garantir a sua integridade. Estes mecanismos são divididos em 3 níveis, sendo eles: pré-epitelial, que inclui a barreira muco-bicarbonato-fosfolipídio, sendo a primeira linha de defesa; epitelial, na qual as células superficiais da mucosa ligadas por junções oclusivas e produtoras de muco, as proteínas do choque térmico e a produção de prostaglandinas estão envolvidas; e sub-epitelial que está relacionada a renovação das células progenitoras e ao contínuo fluxo sanguíneo através da vasculatura da mucosa, fornecendo assim, maior resistência da mucosa gástrica devido à exposição frequente a fatores como oxigênio e nutrientes (TARNAWSKI; AHLUWALIA; JONES, 2013).

A barreira muco-bicarbonato-fosfolipídio é composta principalmente por muco em forma de gel, bicarbonato e fosfolipídios surfactantes que se encontram fortemente aderidos à superfície do epitélio gástrico. A eficiência dessa barreira depende entre outros fatores da estrutura do gel do muco que fornece a proteção estrutural por intermédio de uma camada estável com tampões embutidos para realizar a neutralização do ácido na superfície. Para mais, essa barreira ainda impede a difusão da pepsina para o epitélio subjacente à superfície da mucosa (YANDRAPU; SAROSIEK, 2015).

A secreção do muco é estimulada por hormônios, como gastrina e secretina, prostaglandina E2 e agentes colinérgicos, sendo gerado por grânulos de mucinas secretados na região apical da célula epitelial de superfície. O muco é composto por 95% de água e 5% de mucinas, principalmente as mucinas provenientes dos genes MUC5AC e MUC6, que se polimerizam para garantir sua consistência viscosa. Além do mais, o muco ainda contém lipídios na forma de lipídios neutros, fosfolipídios e glicolipídios, que tornam o muco mais viscoso e hidrofóbico impedindo a difusão retrógrada do íon H^+ (BRAGA *et al.*, 2016; De FONESKA; KAUNITZ, 2010; SQUIRE *et al.*, 2013).

Durante a secreção de ácido gástrico pelas células parietais ocorre também o fenômeno da “maré alcalina”, na qual as células parietais simultaneamente trocam Cl^- por bicarbonato (HCO_3^-) para o lúmen dos vasos sanguíneos capilares adjacentes. O HCO_3^- é transportado para a superfície, onde contribui para a primeira linha de defesa (TARNAWSKI; AHLUWALIA; JONES, 2013).

As prostaglandinas (PGs), por sua vez, são conhecidas por serem também agentes gastroprotetores endógenos envolvidos nos processos de proteção e cicatrização da

mucosa gástrica. As PGs do tipo E e I desempenham ações biológicas por intermédio dos receptores de prostaglandina E do tipo 1 ao 4. A PGE2 é a principal responsável pela secreção de muco e bicarbonato pelas células superficiais quando se liga aos receptores do tipo EP3. Já ao estimular os receptores de prostaglandina E do tipo 1, a PGE2 irá estimular a proliferação celular, além de inibir a ativação de mastócitos e favorecer o aumento do fluxo sanguíneo da mucosa, promovendo, assim, a citoproteção gástrica. Da mesma forma acontece quando a prostaglandina I do tipo 2 (PGI2) ou prostaciclina ativam receptores EP3 (RIBEIRO *et al.*, 2016; TAKEUCHI, 2014).

O fluxo sanguíneo da mucosa é um importante fator pelo fornecimento de oxigênio, nutrientes e agentes protetores como o óxido nítrico (NO) e a PGI2. O efeito citoprotetor do NO se dá pela sua atividade vasodilatadora e consequente aumento do fluxo sanguíneo local, acelerando, dessa forma, a remoção dos metabólitos tóxicos e lesivos da mucosa, como a eliminação dos íons H⁺ por retrodifusão. O aumento do fluxo sanguíneo causado pelo NO, ocorre através da ativação da enzima guanilato ciclase e o consequente acúmulo de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) garantindo a vasodilatação no tecido gástrico. Além disso, o NO ainda inibe a migração de leucócitos para a mucosa intestinal, através da modulação da expressão de molécula de adesão intercelular-1 e P-selectina (BIGHETTI; ANTONIO; CARVALHO, 2012; ROCHA *et al.*, 2016; YANDRAPU; SAROSIEK, 2015).

Outro fator que desempenha um papel importante para a regulação do fluxo sanguíneo local no estômago são as fibras aferentes sensíveis à capsaicina por meio da ativação do receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1). A ativação desse receptor resulta em aumento do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica que é mediado pela liberação do CGRP e aumento da produção de óxido nítrico (NO) com consequente proteção da mucosa (WHITTLE *et al.*, 1992).

A renovação celular é outro mecanismo protetor da mucosa gástrica a qual é mediado por fatores de crescimento como Fator de crescimento transformador alfa e Fator de crescimento semelhante a insulina 1. Esses fatores contribuem para a manutenção da integridade da mucosa, estimulando a contínua renovação do epitélio por um sistema bem coordenado de proliferação controlada de células progenitoras que permite a substituição da superfície epitelial danificada (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

1.1.1.3 Sistema antioxidante e proteção gástrica

Nos últimos anos, em especial, um vasto número de estudos tem reconhecido o papel dos antioxidantes frente as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) em atenuar os danos celulares. Além disso, é sabido que as EROs estão envolvidas na fisiopatologia de inúmeras doenças, como os distúrbios gástricos que podem decorrer de lesões provocadas pelo consumo de álcool, tabagismo, micróbios, alérgenos, drogas, entre outros (ALI *et al.*, 2018; RANI, 2017; SIES, 2018; ZULAIKHAH, 2017).

A formação das EROs se dá pela redução parcial do oxigênio molecular em superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peróxidos lipídicos (ROOH) e radicais peroxila. O ROOH é considerado um mediador importante em diversos processos inflamatórios presentes na fisiopatologia de algumas doenças, como na úlcera gástrica, no câncer e nas doenças neurodegenerativas (GASCHLER; STOCKWELL, 2017).

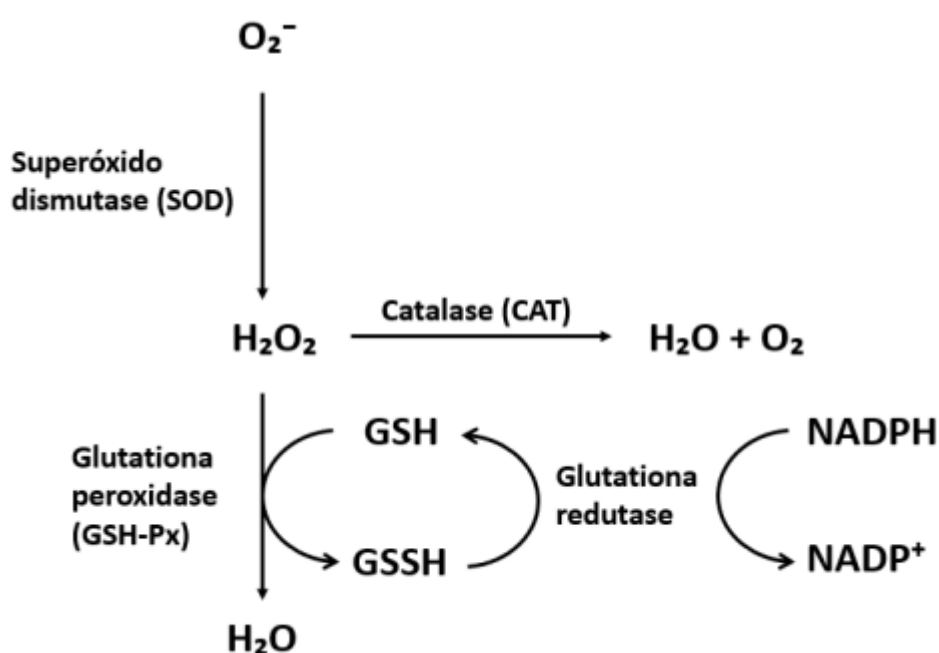
A produção de radicais livres que agem sobre os lipídios de membranas celulares gera o processo conhecido como peroxidação lipídica. Esse processo gera produtos resultantes dessa interação, como a formação de malondialdeído (MDA), um dos mais produzidos. Em altas concentrações, os produtos da peroxidação lipídica induzem alterações na membrana celular que causam desordens no influxo e efluxo de íons e danos ao DNA, produzindo efeitos genotóxicos e consequente morte celular (ECKL, BRESGEN, 2017; GASCHLER; STOCKWELL, 2017; NIKI, 2012).

Para manter a homeostase celular, o corpo humano conta com uma complexa rede de mecanismos antioxidantes que envolve sistemas endógenos e exógenos. Os sistemas endógenos são constituídos por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Na qual as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione redutase (GR) compõe os sistemas antioxidantes enzimáticos, já a glutathione reduzida (GSH) é uma das principais compentes do sistema não enzimático (BHATTACHARYYA *et al.*, 2014).

A SOD é uma enzima óxido-redutase responsável por catalisar a dismutação do radical superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio, um radical menos nocivo, que posteriormente será degradado pelas enzimas CAT e GPx em H_2O (Figura 3). Existem três famílias distintas de SODs, dependendo do íon metálico que ocupa o seu sítio catalítico, podendo ser: citoplasmática (Cu-Zn-SOD), mitocondrial (MnSOD) e extracelular (ECSOD) (FRIDOVICH, 1995; ISLAM *et al.*, 2021; WEYDERT; CULLEN, 2010).

A GPx é uma enzima dependente do mineral selênio e de cofatores para desempenhar suas funções. Esses cofatores incluem a glutathiona reduzida (GSH), a glutathiona redutase (GR) e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). Desse modo, quando a GPx catalisa a degradação do peróxido de hidrogênio em água ao mesmo tempo converte a GSH em glutathiona oxidada (GSSH). A GSSH pode ser reconvertida em GSH pela ação da GR em um processo que depende dos elétrons doados pelo NADPH (Figura 3) (FLOHÉ; TOPPO; ORIAN, 2022; LUANGWATTANANUN *et al.*, 2017).

Figura 3- Ação do sistema antioxidante sobre as espécies reativas de oxigênio.



Fonte: SASAHARA, 2021.

Atividade das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase, catalase, glutathiona peroxidase e glutathiona redutase. Glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSH), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada (NADP⁺).

A identificação e o desenvolvimento de novos antioxidantes da natureza podem ser benéficos para limitar os efeitos deletérios do estresse oxidativo em diferentes condições patológicas, incluindo lesões gástricas como úlcera péptica (FARZAEI *et al.*, 2013; RAMANA *et al.*, 2014).

1.1.2 Intestino

O intestino é dividido anatomicamente em dois grandes segmentos sequenciais denominados intestinos delgado e grosso. O intestino delgado é subdividido em duodeno, jejuno e íleo, já o segundo é composto por ceco, cólons ascendente, transverso e sigmoide, reto e ânus (MEERVELD; JOHNSON; GRUNDY, 2017).

O tecido epitelial intestinal é composto por cerca de 85% de células absorptivas, cuja superfície apical é composta por projeções citoplasmáticas, denominada borda em escova, que expandem a superfície de contato e otimizam o processo de absorção (ZIMMER *et al.*, 2016; KISHIDA *et al.*, 2017). Diariamente, cerca de dez litros de fluidos constituído de íons e solutos percorrem o lúmen intestinal, dos quais aproximadamente 85% são absorvidos no intestino delgado (CAMILLERI; SELLIN; BARRETT, 2017).

As funções intestinais são baseadas em quatro pilares, que são: a motilidade, responsável por controlar a mistura, o tempo de permanência e a passagem do bolo alimentar ou quimo pelo TGI; as secreções pancreática, biliar, hidroeletrolítica e mucosa, que auxiliam os processos de digestão alimentar, bem como a absorção de nutrientes; a digestão, que age na quebra de macromoléculas em moléculas absorvíveis; e a absorção, que, finalmente, capta nutrientes, eletrólitos e água do lúmen intestinal para a corrente sanguínea ou linfa (DEANE *et al.*, 2019; KIELA; GHISHAN, 2016).

A motilidade do TGI consiste na atividade contrátil entérica, nas funções biomecânicas da parede intestinal e no fluxo intraluminal responsável pela propulsão do conteúdo intestinal. Para mais, a motilidade tem papel fundamental no processo absorptivo e digestivo, uma vez que modula o tempo de permanência e a mistura do conteúdo luminal em cada segmento intestinal (DIMIDI *et al.*, 2017; MIRJALILI, 2019).

Os intestinos delgado e grosso são compostos por duas camadas de tecido muscular liso dispostas paralelamente. As fibras musculares mais internas circundam os intestinos e reduzem o seu lúmen quando contraídas; sobre essa, estão as fibras longitudinais, das quais as contrações resultam na redução do comprimento intestinal (MIRJALILI, 2019). O trânsito intestinal é decorrente dessas contrações intestinais, tônicas e fásicas, e refere-se ao tempo de introdução do conteúdo intraluminal para percorrer o trato gastrointestinal. O tempo normal de trânsito intestinal inteiro é em torno de 30 a 40 horas, mas existe uma ampla variação entre os indivíduos (KELLOW *et al.*, 2006; KOTLOFF *et al.*, 2013).

As fibras musculares intestinais agem em conjunto através de ações coordenadas de contrações e relaxamentos controladas pelo sistema nervoso entérico (SNE) por meio do plexo nervoso mioentérico, isso é o que difere o TGI de todos os outros órgãos periféricos, pois o mesmo possui um vasto sistema nervoso intrínseco (DEANE *et al.*, 2019; FURNESS *et al.*, 2018). O SNE é classificado como uma terceira divisão do sistema nervoso autonômico (SNA), sendo este responsável por controlar o TGI de forma independente do sistema nervoso central (SNC), apesar de estabelecer uma comunicação bilateral com o SNC através das vias simpática e parassimpática. A composição do SNE são gânglios de inervações intrínsecas que recebem informações tanto do SNC, como do próprio TGI através de mecano e quimiorreceptores (RAO; GERSHON, 2016, 2018).

O plexo mioentérico é formado por três tipos de neurônios: motores, que podem ser excitatórios ou inibitórios, agindo, respectivamente, através da liberação de acetilcolina ou óxido nítrico; aferentes primários intrínsecos respondem a estímulos químicos do lúmen através da Substância P, um neuropeptídeo excitatório das fibras musculares; e interneurônios que utilizam a acetilcolina e a serotonina para transmitir os estímulos para todo o TGI (BARRETT, 2015; RAO; GERSHON, 2018).

O SNE tem diversos papéis, como: determinar os padrões de movimento do TGI; controlar a secreção de ácido gástrico; regular o movimento do fluido através do epitélio do revestimento; mudar o fluxo sanguíneo local; modificar o manuseio de nutrientes; e interagir com os sistemas imune e endócrino do intestino (FURNESS, 2012, 2018).

A atividade motora do TGI é um processo complexo que envolve vários tipos de células, como os neurônios entéricos que podem detectar o conteúdo do TGI, que irão integrar informações e conceber um padrão motor adequado. Além disso, há também um grupo especializado de células instrumentais para a função gastrointestinal que inclui as células intersticiais intramusculares de Cajal. Essas células são interpostas entre os terminais nervosos e as células musculares lisas, acoplando-se às células musculares lisas para produzir a atividade marca-passo do TGI, sendo as principais responsáveis pela propagação de ondas lentas encontradas em todo o trato GI (FURNESS, 2012; TOBIAS; SADIQ, 2019).

A motilidade intestinal é regulada por vários fatores, esses fatores incluem a passagem do bolo alimentar por todo o TGI, o que favorece os processos de propulsão e segmentação do tecido por meio de vias neurais aferente e eferente que é fornecido pela interação do intestino com o SNC e SNE. Dessa forma, essa interação proporciona a liberação de mediadores colinérgicos e adrenérgicos, além de outros neurotransmissores

como os mediadores não-adrenérgicos e não-colinérgicos, os sistemas nitrérgico (NO), dopaminérgico e opióide (BECK; FRIEBE; VOUSSEN, 2018; BROWNING; TRAVAGLI, 2014; DANTAS, 2004; MANABE *et al.*, 2010; NAM, *et al.*, 2016).

1.2 DISTÚRBIOS GASTRINTESTINAIS: ÚLCERA GÁSTRICA E DIARRÉIA

Nos últimos tempos, distúrbios gastrointestinais como úlceras, refluxo, gastrite, diarreia, enfermidades inflamatórias intestinais e constipação apresentam-se com maior frequência na população, tornando-se assim um considerável foco de pesquisa experimental e clínica na investigação por novas terapias (BLACK *et al.*, 2020).

Alguns sintomas são atribuídos aos distúrbios gastrointestinais, como dor e desconforto abdominal, diarreia, constipação, náusea, vômito e meteorismo. Esses sintomas frequentemente estão associados a patologias do próprio TGI, que incluem neoplasia gastrointestinal, úlcera péptica, doença celíaca, doença inflamatória intestinal, doenças hepatobiliares, refluxo gastroesofágico, colecistite, pancreatite, distúrbios de motilidade, entre outras (SHIVAJI; FORD, 2014).

1.2.1 Úlcera Gástrica

A úlcera péptica é uma doença que possui uma prevalência de 5 a 10% e uma incidência de 0,1 a 0,3% ao ano. Cerca de 1% dos pacientes com úlcera podem progredir para câncer, sendo considerada uma doença extremamente prejudicial à saúde humana e classificada como uma patologia pré-cancerosa, de preocupação global (LAU *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2017). Apesar da prevalência e incidência estarem diminuídas nos últimos anos, ainda são encontradas complicações em 10–20% dos pacientes, que incluem perfuração do tecido gástrico e sangramento (BERTLEFF; LANGE, 2010; CHEN; CHENG; YEH, 2021; LANAS; CHAN, 2017).

A úlcera péptica (UP) é uma doença invasiva que consiste em lesões no trato gastrointestinal que podem ser encontradas no estômago ou no duodeno, quando essa lesão encontra-se no estômago é denominada de úlcera gástrica. As lesões são causadas principalmente pela infecção por *Helicobacter pylori* e o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), entretanto outras condições como a carência do suprimento de sangue para um órgão, doença de Crohn, doença pulmonar crônica, estilo de vida, como o estresse diário, consumo de bebidas alcoólicas, bebidas com alto teor de cafeína e tabaco

também influenciam na patogenia da úlcera (AHMAD *et al.*, 2019; AIHARA *et al.*, 2016).

Associado ao aumento de fatores que danificam a mucosa gástrica, há também a diminuição dos mecanismos de proteção, esse desequilíbrio favorece o desenvolvimento da UP. Os principais cofatores envolvidos nesse desenvolvimento incluem a irritação química direta pela supressão da síntese de prostaglandinas, necessárias para a proteção da mucosa, decorrentes do uso crônico de AINEs e corticosteroides; uso de cigarros, prejudicando o fluxo sanguíneo e a cicatrização; hiperacidez gástrica e refluxo gástrico-duodenal que pode ser causada pelo estresse ou por hipercalcemia (TURNER, 2010).

O álcool, por sua vez, é considerado um fator de risco independente para a iniciação e complicações associadas à ulcera gástrica. A ingestão aguda e crônica de álcool pode levar o indivíduo a ter lesões estruturais e funcionais no TGI, pois o contato direto do etanol com a mucosa induz alterações funcionais e metabólicas, como a diminuição da produção de muco, proliferação celular e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, causando uma resposta inflamatória exacerbada (LÍVERO *et al.*, 2016; QIN; DEITCH, 2015).

O etanol como agente nocivo a mucosa gástrica quando entra em contato com esse tecido causa quimiotaxia e infiltração neutrofílica, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-1 β e TNF- α , a qual vão intensificar o processo inflamatório. Para mais, o etanol reduz os níveis de NO, diminuindo, por conseguinte, o fluxo sanguíneo local. A associação desses fatores favorece a formação de lesões hemorrágicas e a diminuição de muco gástrico. É possível evidenciar também a participação dos radicais livres no desenvolvimento dessas lesões, o que resulta em estresse oxidativo, na qual se observa a alteração dos principais marcadores como NO, MDA, GSH e SOD (ELSEWEIDY, 2017; JUNG *et al.*, 2011).

A úlcera gástrica é uma complicação bem conhecida do uso de AINEs. A toxicidade gastrointestinal originária dos AINEs pode ser tão alta quanto 4-8% ao ano e as complicações são ainda maiores para aqueles possuem fatores de risco adicionais, como história prévia de úlcera. Os AINEs atuam inibindo ou reduzindo a biossíntese de prostaglandinas por inibir as cicloxygenases (COX). A COX-1 é uma enzima constitutivamente expressa em muitos tecidos, inclusive no tecido gástrico, portanto, a sua inibição no trato gastrointestinal leva a uma redução da secreção de prostaglandinas e de seus efeitos citoprotetores na mucosa, aumentando a suscetibilidade à lesão. A indometacina é considerada o AINE mais comum conhecido por induzir úlcera gástrica

experimental e tem sido documentado como tendo um maior potencial para causar lesão gástrica do que outros AINEs comumente usados (BRUNE; PATRIGNANI, 2015; EL-ASHMAWY *et al.*, 2016; GRIFFIN; SCHEIMAN, 2001; SULEYMAN *et al.*, 2010; WOOLF; ROSE, 2020).

A indometacina pode induzir lesão gastrointestinal por diversos mecanismos, como o aumento da secreção ácida, inibição da síntese de prostaglandina E2 (PGE2), produção de radicais livres, redução dos níveis de óxido nítrico gástrico e invasão de neutrófilos ativados bem como a indução de apoptose nas células gástricas. Além disso, alguns estudos demonstraram que os AINEs podem gerar lesão gástrica devido à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs podem estar associadas à ativação do processo inflamatório em tecido gastrointestinal danificado (BASTAKI; WALLACE, 1999; BINDU *et al.*, 2013; KATARY; SALAHUDDIN, 2017; SULEYMAN *et al.*, 2010; WALLACE, 2008).

A atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) é uma forma de verificar a infiltração de neutrófilos na mucosa gástrica que é um dos mecanismos da patogênese da úlcera gástrica. A MPO catalisa a formação de potentes oxidantes como ácido hipocloroso a partir do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que causam sérios danos à mucosa gástrica. Assim, a formação de úlceras gástricas pode estar associada com o aumento dos níveis dessa enzima (DERIN *et al.*, 2006).

A terapia medicamentosa para UP tem como objetivo principal a diminuição da secreção do ácido gástrico, para isso utiliza-se de fármacos como os inibidores da bomba de prótons (IBP) e antagonistas dos receptores de histamina 2, e a neutralização do ácido excretado com o uso de antiácidos. É válido lembrar que, normalmente, o uso desses fármacos é associado a administração de antibiótico para combater a infecção por *H. pylori* (MALFERTHEINER *et al.*, 2017; STRAND; KIM; PEURA, 2017; ZAGARI *et al.*, 2020).

Os antiácidos como o hidróxido de magnésio, hidróxido de alumínio e bicarbonato de sódio possuem ação farmacológica de neutralizar o ácido clorídrico, elevando o pH gástrico. Os antiácidos causam alívio sintomático da úlcera gástrica, pois a cicatrização da lesão é muito difícil de alcançar, exceto com doses altas e frequentes de antiácidos. O bicarbonato de sódio tem eficiência na ação de neutralizar os ácidos, entretanto produz alguns efeitos colaterais, por ser muito hidrossolúvel sua absorção é quase que imediata no estômago, gerando cargas de álcali e sódio, representando risco aos pacientes com quadro de insuficiência cardíaca e renal. Os efeitos adversos mais comuns dos antiácidos

são náuseas, vômitos, constipação intestinal, distensão abdominal e flatulência (FREITAS *et al.*, 2013; PANDEY *et al.*, 2019; TRINDADE *et al.*, 2017).

O pantoprazol, esomeprazol e omeprazol, por sua vez, são exemplos de fármacos inibidores da bomba de prótons (IBP), os mesmos são amplamente utilizados para o tratamento de úlcera péptica. A principal ação dos IBPs é inibir a secreção de ácido gástrico pela inibição da atividade bomba de prótons independente da natureza do estímulo. Os IBPs são pró-fármacos que necessitam do ácido gástrico para serem ativados. Após a absorção, esses fármacos se encaminham para as células parietais do estômago e ficam acumulados nos canalículos secretores de ácidos. A forma ativa dos IBPs realiza uma ligação covalente com a H^+/K^+ -ATPase da célula parietal produtora de ácido, inativando, dessa forma, a estrutura da bomba que transporta os prótons H^+ para o lúmen gástrico. Clinicamente, essas drogas são eficazes para prevenir e tratar úlcera gástrica. Os principais problemas dos IBP na atualidade são relacionados ao seu uso excessivo e os erros na indicação terapêutica. Esse fato acarreta um custo econômico considerável para a saúde e o risco de efeitos colaterais em longo prazo. O uso prolongado de IBPs pode levar ao aumento do pH gástrico, hipocloridria e, em alguns casos, à acloridria (AGUILERA-CASTRO; MARTÍN-DE-ARGILA-DEPRADOS; ALBILLOS-MARTÍNEZ, 2016; JAIN *et al.*, 2007; KOYYADA, 2021).

Os antagonistas dos receptores de histamina (H_2), representados pela ranitidina, famotidina e cimetidina, são utilizados para o tratamento da úlcera gástrica por bloquear a ação da histamina nos receptores H_2 das células parietais. O efeito desses fármacos, entretanto, é relativamente curto e são diminuídos com a ingestão de alimentos. Outra problemática envolvida na farmacoterapia utilizando os antagonistas dos receptores de histamina (H_2) é o desenvolvimento de tolerância aos efeitos sobre a secreção de ácido. Essa tolerância é frequentemente desenvolvida após alguns dias de dosagem contínua, sendo observado principalmente em alguns pacientes que fizeram uso de ranitidina e famotidina por 14 dias. A sensibilidade diminuída a esses fármacos pode resultar em hipergastrinemia secundária, que estimula a liberação de histamina das células enterocromafins (KOMAZAWA *et al.*, 2003; NDIDI, 2020; SHIM; KIM, 2017; TAKAHASHI; KATAYAMA, 2010).

Apesar dos atuais avanços terapêuticos para a UP, a complicação por perfuração continua sendo um sério problema na clínica. Segundo o estudo de Ciftci e Erözgen (2018), realizado na Clínica de Cirurgia Geral, do Safa Hospital em Istambul na Turquia, no pós-operatório dos pacientes que foram submetidos à cirurgia por causa da perfuração

gástrica surgiram complicações em 24,1% dos pacientes. Além disso, a taxa de mortalidade foi de 17,4%, na qual a causa mais frequente das mortes foi sepse.

Além disso, no Brasil, as doenças do aparelho digestivo estão associadas a altos custos pelos serviços de saúde referentes a diagnóstico, tratamento e internações hospitalares. Para mais, o boletim emitido pelo DATASUS, referente ao período de março de 2016 a outubro de 2021, contabilizou 6.087 internações por úlceras gástricas e/ou duodenais, gastrites e duodenites, o que corresponde a R\$ 3.071.484,16 em serviços hospitalares custeados pelo Estado (BRASIL, 2022).

Embora os esquemas convencionais sejam eficazes, eles estão associados a efeitos adversos principalmente devido ao uso crônico. Estudos têm demonstrado que produtos naturais apresentam benefício terapêutico para úlcera gástrica e têm incentivado estudos para identificação de plantas medicinais com potencial gastroprotetor.

1.2.2 Diarreia

A diarreia pode ser definida como um distúrbio do TGI caracterizado pelo aumento da frequência de fezes soltas ou aquosas por três ou mais vezes durante um período de 1 dia resultante de um movimento rápido do material fecal pelo intestino. Esse distúrbio do TGI se caracteriza por causar alterações secretórias, absortivas e de motilidade. As alterações na função na mucosa e no trânsito gastrointestinal causam redução da eficiência de absorção, isso sendo suficiente para o aumento de formação de fezes mais fluidas, com ou sem a presença de sangue e muco, levando a perda de água e eletrólitos (SCHILLER, 2012; THIAGARAJAH *et al.*, 2018).

Essa afecção pode ser classificada com base no tempo de duração como aguda, com durabilidade menor que 14 dias (BRANDT; ANTUNES; DA SILVA, 2015); persistente, durando 14 dias ou mais (DUPONT, 2016); ou crônicas, quando ultrapassam 4 semanas (SCHILLER; PARDI; SELLIN, 2017).

Em relação a etiologia, a diarreia pode ser causada por múltiplos fatores, como alterações nas taxas dos processos absortivos e secretórios, devido a respostas a danos na mucosa causados por microrganismos enteropatogênicos, por exemplo, que são responsáveis por infecções gastrintestinais, como *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholera*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, vírus do HIV, Rotavírus e Adenovírus (RODRÍGUEZ-GARCÍA; RODRÍGUEZ-SILVA, 2022; SAHOO *et al.*, 2016; YAKUBU *et al.*, 2015). Para mais,

há outros fatores causais como ingestão de álcool, síndrome do intestino irritável, sais biliares, hormônios, tumores secretórios, intoxicação alimentar e função nervosa entérica (BARKUN *et al.*, 2013; SAHOO *et al.*, 2016).

A gravidade desta doença é acentuada por diversos fatores, como manipulação de água contaminada, desnutrição, falta de higiene na lavagem das mãos, condições ambientais precárias, que incluem a falta de saneamento básico e de acesso a cuidados de saúde primária (ADENIYI *et al.*, 2017; BARBUT; MEYNARD, 2002; HEMPEL *et al.*, 2017; JAMISON *et al.*, 2006; SZAJEWSKA; MRUKOWICZ, 2003).

Observa-se nos últimos 30 anos uma depleção progressiva na incidência de casos e no número de óbitos ocasionados por doenças diarreicas em todo o mundo. Embora tenha diminuído, as mortes causadas por doenças diarreicas ainda ocupam o 8º lugar no ranking das principais causas de morte do mundo, descendo apenas duas posições em três décadas (RITCHIE; ROSER, 2018). De acordo com o levantamento mundial realizado pelo estudo de Dadonaite, Ritchie e Roser (2019), aproximadamente 1,6 milhão de pessoas morreram em 2017 em decorrência de doenças diarreicas, sendo um problema de saúde pública.

Uma das maiores preocupações na área da saúde em relação a diarreia são as consequências cognitivas causada pela perda hidroeletrolítica, principalmente nos grupos mais acometidos e mais vulneráveis, pois o tratamento incorreto pode levar o indivíduo a óbito (WHO, 2017). Dessa maneira, o primeiro passo no tratamento inicial visa reestabelecer líquidos e eletrólitos, bem como reduzir os episódios diarreicos (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019; PROSS, 2017; WHO, 2017).

Além disso, é sabido que a terapêutica da diarreia é inespecífica e está centrada no tratamento de sinais e sintomas clínicos, focada na redução do desconforto, desidratação e incômodo causado por evacuações frequentes (ARAÚJO *et al.*, 2015; CHOI *et al.*, 2014).

Didaticamente o tratamento pode ser dividido em uma terapia farmacológica e não farmacológica. A terapia não farmacológica é compreendida pelo tratamento com sais de reidratação oral, na qual o principal objetivo é evitar que indivíduos com diarreia aguda fiquem desidratados e tenham depleção de eletrólitos. Essa terapia melhora a absorção de fluidos e eletrólitos estimulando a absorção de sódio mediada por glicose e aminoácidos. No entanto, essa terapia não reduz a quantidade ou a frequência de episódios diarreicos e os indivíduos geralmente desejam alívio sintomático adicional, necessitando assim de

uma terapia farmacológica (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019; SAHOO *et al.*, 2016).

A terapia farmacológica é compreendida por uma série de medicamentos antidiarreicos que podem ser amplamente definidos como agentes que minimizam os sintomas de diarreia, uma vez que atuam no trânsito e no transporte intestinal ou na viscosidade das fezes, melhorando assim a consistência ou reduzindo o peso das fezes, como também reduzindo a frequência de defecação no trânsito intestinal, o que resulta em melhora sintomática em uma variedade de condições (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019).

As principais classes de medicamentos utilizadas na clínica incluem: os agentes higroscópicos e formadores do bolo fecal (coloides ou polímeros hidrofílicos pouco fermentáveis, a exemplo da caboximetilcelulose e a policarbofila); sequestradores dos ácidos biliares (colestiramina); compostos a base de bismuto (salicilato de bismuto); agonistas dos receptores α -2 adrenérgicos e antagonistas muscarínicos, a exemplo da clonidina e atropina, respectivamente; e os agentes antimotilidade e antissecretórios que são os pilares no tratamento da diarreia (loperamida, difenoxilato) (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2006; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; SANTILLANES; ROSE, 2018; SISAY; ENGIDAWORK; SHIBESHI, 2017).

Mais especificamente, os agentes antimotilidade atuam diminuindo a taxa de propulsão intestinal, permitindo um maior tempo de contato entre o quimo e a mucosa, melhorando a absorção de fluidos e eletrólitos (THIAGARAJAH; VERKMAN, 2012). O loperamida é o agente mais conhecido dessa classe, sendo este um agonista de receptores opioides (RIDDLE; DUPONT; CONNOR, 2016; THIAGARAJAH; MARTIN, 2019). Os receptores opioides no TGI são expressos nos plexos nervosos, e sua ativação inibe canais de Ca^{+} e ativa canais de K^{+} , que resulta na diminuição da liberação dos neurotransmissores excitatórios acetilcolina e Substância P. Dessa maneira, há uma redução não só na motilidade, mas também na secreção de água e eletrólitos, o que resulta na redução dos episódios diarreicos (GALLIGAN; STERNINI, 2016; THIAGARAJAH, 2019).

O loperamida é muitas vezes prescrito e utilizado de forma exacerbada, o que é preocupante, pois há efeitos colaterais no TGI como constipação grave, íleo paralítico e mega cólon (GUNNARSDOTTIR *et al.*, 2018). Apesar de sua baixa ação no sistema nervoso central, esse fármaco também tem sido utilizado para atenuar sintomas de

abstinência à opioides, o que pode causar problemas cardíacos e morte (AKEL; BEKHEIT, 2018; WU; JUURLINK, 2017).

Assim sendo, a busca por novas alternativas terapêuticas que sejam mais seguras e com menos efeitos faz dos produtos naturais, a exemplo das plantas medicinais, uma estratégia terapêutica, devido sua riqueza de constituintes e variedade de substâncias biologicamente ativas (MAHMOOD *et al.*, 2019).

1.3 PLANTAS MEDICINAIS COM AÇÃO GASTROPROTETORA E ANTIDIARREICA

As plantas medicinais são uma importante alternativa terapêutica para a melhora de diversas afecções em populações por todo o mundo. Devido a carência no atendimento público em saúde ou até mesmo o acesso restrito a medicamentos, as plantas são bastante empregadas como recurso terapêutico para tratar doenças gastrointestinais (GOIS *et al.*, 2016).

Diversas plantas com propriedades terapêuticas agem no sistema digestivo e, devido a prática da medicina popular, sua atividade é muito conhecida no tratamento desconforto gástrico, na estimulação do apetite e na melhora da digestão. O TGI é suscetível a inúmeras doenças e alguns dos medicamentos existentes frequentemente estão associadas com inúmeros efeitos adversos. Assim, drogas alternativas são necessárias para tratar complicações gastrointestinais (BAHMANI *et al.*, 2014; LEITE *et al.*, 2018).

É comprovado que a maioria das pessoas que vivem em países em desenvolvimento confiam na medicina tradicional para tratar diferentes doenças, incluindo os distúrbios gastrintestinais. Nesse sentido, vem surgindo um vasto número de estudos que incluem abordagens relacionadas com a prevenção de lesões na mucosa gástrica induzidas por etanol, como por exemplo, o trabalho de Bianco *et al.* (2022) que avaliou a ação gastroprotetora do extrato etanólico de *Leonurus sibiricus* L. (Lamiaceae) em camundongos com mecanismo relacionado ao efeito antioxidante, ativação dos canais de K_{ATP} dependentes e produção de muco. Ademais, Amirshahrokhi e Khalili (2016) afirmam que o foco da maioria dos estudos tem sido em compostos com atividade antioxidante e anti-inflamatório os quais podem atuar como gastroprotetores.

O estudo de Viana e colaboradores (2016) verificou o potencial gastroprotetor do (-)-myrtenol, um monoterpene derivado do óleo essencial de *Myrtus communis* L.

(Myrtaceae), utilizando um modelo animal de dano gástrico induzido por etanol. O (-) - Myrtenol foi utilizado em doses orais de 25, 50 e 100 mg/kg e os resultados obtidos demonstraram que o composto foi capaz de diminuir significativamente a gravidade das lesões gástricas e que seu efeito gastroprotetor pode estar envolvido com a ativação do receptor GABAA e com a atividade antioxidante.

O extrato de aquoso de *Cuphea ignea* foi estudado para verificar a atividade antiulcerogênica em modelo de úlcera induzida por etanol em ratos. O extrato de *C. ignea* foi administrado por 7 dias antes da indução nas doses de 250 e 500 mg/kg. Assim, foi observado que o extrato diminuiu significativamente a úlcera gástrica, enquanto aumentou significativamente a porcentagem preventiva. O pré-tratamento com extrato de *C. ignea* melhorou significativamente o nível sérico de TNF- α , a atividade de mieloperoxidase gástrica, o teor de óxido nítrico e aumentou os níveis gástricos de antioxidantes (MOUSA *et al.*, 2019).

O pré-tratamento com o extrato das flores de *Inula britannica* L. em doses de 100 e 300 mg/kg inibiu significativamente as lesões gástricas em ratos induzidas por HCl/etanol. Os resultados obtidos demonstraram o aumento da atividade de superóxido dismutase e catalase, aumento dos níveis de glutathione, PGE2 e muco nos tecidos gástricos. Portanto, acredita-se que o extrato das flores de *Inula britannica* L. exerce esses efeitos por meio de níveis aumentados de antioxidantes e secreção de muco gástrico (KIM *et al.*, 2020).

Guimarães e colaboradores (2017) realizou uma pesquisa em Cubatão, São Paulo, Brasil, na qual foi feita uma triagem fitoquímica em preparações vegetais conhecidas popularmente por “garrafadas”, utilizadas empiricamente no tratamento das úlceras gástricas. Foram analisadas cinco preparações distintas compostas principalmente por *Solanum paniculatum* L., *Maytenus ilicifolia*, *Echinodorus grandiflorus*, *Anadenanthera colubrina*, *Amburana cearensis*, *Leonurus sibiricus* L. e *Psychotria ipecacuanha*. As análises fitoquímicas identificaram a presença de flavonoides, alcalóides, taninos e saponinas, os quais podem ser os responsáveis pela atividade gastroprotetora associada popularmente a essas preparações.

É cabível citar ainda o Elixir de Aroeira, formulado a partir das cascas de *Myracrodruon urundeuva*, um fitoterápico indicado para tratamento de úlceras e gastrites, disponibilizados à população do estado do Ceará pelas Unidades de Farmácias Vivas, as quais têm como base o Projeto Farmácias-Vivas da Universidade Federal Ceará (GALVÃO *et al.* 2018; BANDEIRA, 2002). A aroeira é rica em taninos, possuindo

também chalconas denominadas urundeuvinas A e B. As chalconas citadas acima possuem propriedades anti-inflamatórias por ação antibradicinínica, o que resulta numa ação cicatrizante e anti-inflamatória muito útil para o tratamento de úlceras (TELES, 2022; UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 2022; VIANA *et al.*, 1995).

Para mais, há um grande número de plantas medicinais em todo o mundo que possuem atividade terapêutica comprovada para esses distúrbios como a diarreia, que incluem: *Amaranthus caudatus*, *Coffea arabica*, *Balanites rotundifolia*, *Boscia coriacea*, *Cissampelos pareira*, *Cissampelos synpodialis*, *Plumbago zeylanica*, *Solanum hastifolium*, *Berberis crataegina*, *Cornus mas*, *Ecballium elaterium*, *Mentha longifolia*, *Rhamnus catártica*, *Teucrium polium*, *Justicia schimperiana*, *Maytenus erythroxylon* Reissek, *Psidium guajava* e *Anacardium occidentale* L. (ABERA, 2014; ALTUNDAG; OZTURK, 2011; ARAÚJO *et al.*, 2015; FORMIGA *et al.*, 2017; JALILZADEH-AMIN; MAHAM, 2015; SALES *et al.*, 2014; SISAY; ENGIDAWORK; SHIBESHI, 2017; TEKLEHAYMANOT; GIDAY, 2010).

O efeito antidiarreico dessas plantas, em muitos casos, possui menos efeitos colaterais do que as drogas convencionais. Essa propriedade está relacionada a uma diversidade de metabólitos secundários, como: taninos, alcaloides, flavonoides e terpenoides (KOMAL; RANA, 2013; RUSSO *et al.*, 2018).

1.4 *Egletes viscosa* (L.) Less.

A *Egletes viscosa* (L.) Less., pertencente à família Asteraceae, conhecida popularmente como “macela” ou “macela-da-terra”, é uma pequena erva silvestre, amarga, aromática, anual e nativa da América tropical. Comumente encontrada no Nordeste brasileiro, a macela cresce abundantemente à margem de açudes, lagoas, cursos de água do sertão e do litoral, no início da estação seca, após a baixa das águas (Figura 4) (LORENZI; MATOS, 2008).

O gênero *Egletes* é constituído por 10 espécies: *E. dominingensis*, *E. floribunda*, *E. florida*, *E. humifusa*, *E. liebmannii*, *E. obovata*, *E. prostrata*, *E. repens*, *E. tenvifolia* e *E. viscosa*. Dessas espécies, apenas *E. viscosa* apresenta relatos de estudos científicos farmacológicos (CARVALHO, 2021).

Figura 4- Crescimento de *Egletes viscosa* após baixa das águas.



Fonte: Acervo pessoal do Profº Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC (2012).

A espécie *E. viscosa* é uma planta herbácea de caule cespitoso, toda pilosa e glandulosa. A folha é profunda pinatífida de 2-5 cm de comprimento, subpeciolada, dilatada, os capítulos apresentam-se solitários, laterais, curtos e pedunculados ou no ápice dos ramos quase carimbosos, involúcro, largo e campanulado, as brácteas são pilosas, lanceoladas e agudas, corola alva-ligulada e o aquênio é quadrangular de ápice denteado (Figura 5) (LIMA *et al.*, 2013).

Figura 5 - Capítulos florais de *Egletes viscosa*.

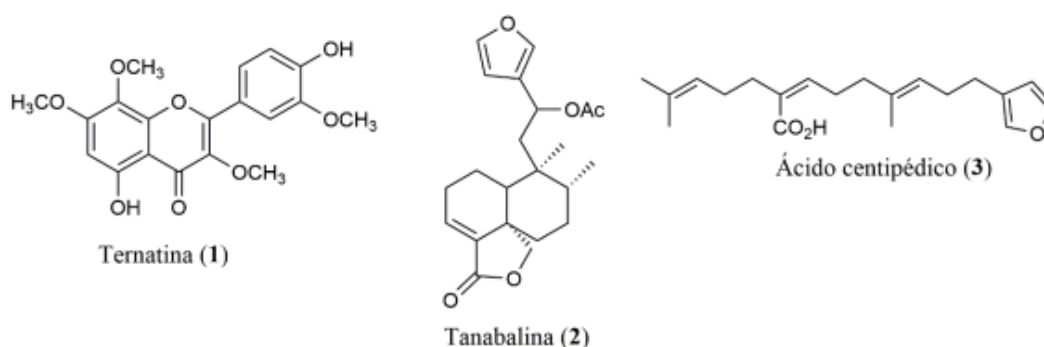


Fonte: Acervo pessoal do Profº Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC (2012).

Na medicina popular, a *E. viscosa* é utilizada na forma de infusão dos capítulos florais para o tratamento de distúrbios digestivos e intestinais, cólicas, gases, azia e enxaqueca, bem como nos casos de irregularidades menstruais, podendo ser administradas 1 a 2 xícaras, por dia, nos casos de dispepsia, azia e indigestão preparado na proporção de 3 a 4 g/xícara (LORENZI; MATOS, 2008; MATOS, 2007; SILVA-FILHO *et al.*, 2007).

Lima e colaboradores (1996) realizaram uma análise fitoquímica com o extrato hexânico e etanólico das inflorescências de *E. viscosa* obtidas em evanários do Mercado Central de Fortaleza-CE, identificaram o flavanóide ternatina como constituinte majoritário no extrato etanólico e altos teores de tanabalina e ácido centipédico no extrato hexânico (Figura 6).

Figura 6- Estrutura química dos compostos: ternatina (1); tanabalina (2) e ácido centipédico (3).



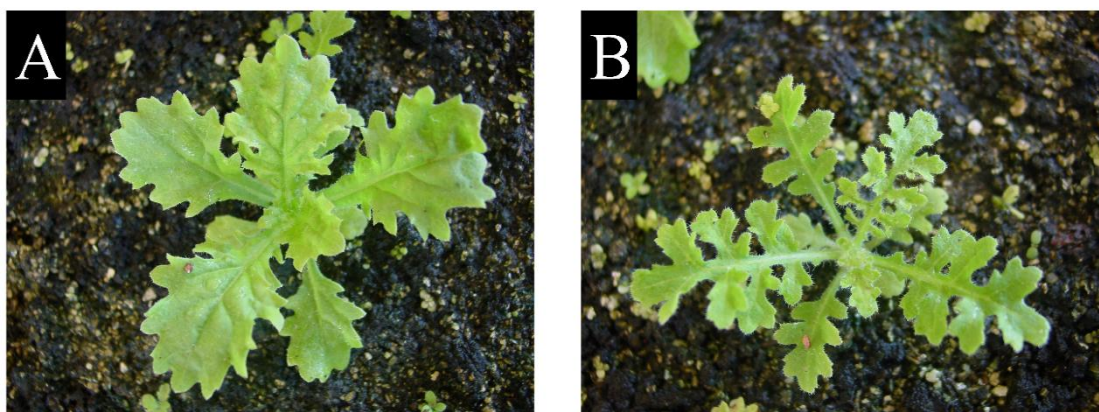
Fonte: CARVALHO, 2021, com adaptações.

Em um estudo realizado por Carvalho e colaboradores (2019) com diferentes amostras de tintura e infusões dos capítulos florais de *E. viscosa*, os resultados demonstraram que a composição química variou significativamente dependendo da origem, e da estação dos capítulos florais. Os conteúdos de ternatina, tanabalina e ácido centipédico variaram de 0,89 a 8,03 mg/L, 0,84 a 16,8 mg/L e 3,21 a 18,7 mg/L, respectivamente. A tintura continha mais desses três componentes bioativos do que a infusão. Além disso, nesse estudo, dezessete constituintes foram identificados provisoriamente, incluindo derivados do ácido cafeico, flavonóides e diterpenos. Dentre eles, sete foram relatados pela primeira vez nesta espécie.

Cunha e colaboradores (2003) identificaram, a partir da análise dos constituintes voláteis das inflorescências de várias populações de macela, coletadas em diferentes regiões do estado do Ceará, dois quimiotipos diferentes (A e B) para *E. viscosa*. O óleo

essencial do quimiotipo A apresentou como constituinte majoritário o monoterpreno acetato de *trans*-pinocarveíla, já o quimiotipo B apresentou como composto principal o acetato de *cis*-isopinocarveíla. Não é possível identificar visualmente o quimiotipo dos capítulos florais, mas é relativamente fácil diferenciar as folhas pela morfologia (Figura 7).

Figura 7 - Folhas de *Egletes viscosa*: (A) quimiotipo "A", rico em acetato de transpinocarveíla; (B) quimiotipo "B" rico em acetato de cis-isopinocarveíla.



Fonte: Acervo pessoal do Profº Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC (2012).

A análise fitoquímica dos extratos aquosos dos capítulos florais dos quimiotipos A e B, cultivados na horta do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará, mostrou que o diterpeno 12-acetoxi-7-hidroxi-3,13 (14) -clerodandieno-18,19:15,16-diolídeo, ternatina, ácido centipédico e a lactona do ácido 12-acetoxi-hawtriwaico foram identificados no quimiotipo A, enquanto que no quimiotipo B foram encontrados o 12-acetoxi-7-hidroxi-3,13-clerodandieno-18,19:15,16-diolídeo, 12-epi-bacchotricuneatina, ternatina e escopoletina (VIEIRA *et al.*, 2006).

Carvalho e colaboradores (2020) realizaram um estudo fitoquímico com os capítulos florais dos quimiotipos de A e B de *E. viscosa* na qual verificaram que os compostos bioativos tanabalina e ácido centipédico são mais prevalentes no quimiotipo A, mas os conteúdos de ternatina não são estatisticamente diferentes para ambos os quimiotipos.

Na literatura, já existem algumas propriedades medicinais comprovadas, como o efeito antibacteriano e sinérgico com antimicrobianos da classe dos amiglocosídeos dos extratos hexânico e metanólico dos capítulos florais de *E. viscosa* (AQUINO *et al.*, 2015). A propriedade antinociceptiva de *Egletes viscosa* foi observada no extrato aquoso obtido

da maceração dos capítulos florais nos testes de contorções induzidas pelo ácido acético e nocicepção induzida por formalina. Nos testes de toxicidade aguda e subcrônica, não foi observada mortalidade em roedores (ARAÚJO *et al.*, 2008).

O Laboratório de Produtos Naturais (Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFC) possui um histórico de investigação dos potenciais farmacológicos de *Egletes viscosa* e de seus constituintes químicos isolados. Esses estudos tiveram início na década de 90, como a determinação das atividades antinociceptiva, anticonvulsivante e antibacteriana do óleo essencial dos capítulos florais de *E. viscosa* (SOUZA *et al.*, 1998) e das atividades farmacológicas da ternatina, um flavonoide isolado de *E. viscosa*, incluindo ação hepatoprotetora (RAO *et al.*, 1994; SOUZA; RAO; SILVEIRA, 1998), anti-anafilática (SOUZA; RAO; SILVEIRA, 1992), anti-inflamatória (SOUZA; RAO; SILVEIRA, 1992; RAO *et al.*, 2003) e antitrombótica (SOUZA *et al.*, 1994). Posteriormente, o ácido centipédico, diterpeno isolado de *E. viscosa*, foi investigado quanto aos potenciais anti-inflamatório (CALOU *et al.*, 2008;) e antinociceptivo (GUEDES *et al.*, 2002). Enquanto o diterpeno tanabalina (lactona do ácido hawtriwaico), também isolado de *E. viscosa*, foi associado aos potenciais anti-inflamatório (CALOU *et al.*, 2008) e antinociceptivo (GUEDES *et al.*, 2002; MELO *et al.*, 2006). As ações desses compostos químicos, estudados no LPN, sobre o trato gastrointestinal estão descritas abaixo.

Rao *et al.* (1997) evidenciaram o potencial gastroprotetor e antidiarreico da ternatina. Os resultados demonstram que o pré-tratamento de animais com o flavonóide (25 e 50 mg/kg) produz uma inibição significativa das lesões gástricas induzidas por etanol, mas não por aquelas induzidas por estresse de contenção ou indometacina. Além disso, o estudo sugere que o mecanismo da gastroproteção é independente de prostaglandinas. Já a atividade antidiarreica foi demonstrada pelo modelo de indução por óleo de Castor, na qual a ternatina (25 e 50 mg/kg, i.p.) foi capaz de reduzir o aumento do transito intestinal e o acúmulo de fluidos intraluminal.

Os diterpenos, tanabalina (25 e 50 mg/kg, v.o.) e ácido centipédico (25 e 50 mg/kg, v.o.), foram capazes de reduzir a gravidade das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. Entretanto, apenas o ácido centipédico (25 e 50 mg/kg) apresentou inibição significativa nas lesões gástricas induzidas por indometacina (Guedes *et al.*, 2002). O mesmo grupo de pesquisadores posteriormente mostrou que o ácido centipédico (25, 50, 100 mg/kg) reduziu as lesões da mucosa induzidas por etanol por um mecanismo

gastroprotetor multifatorial, que possivelmente envolve um efeito antioxidante, de estimulação de prostaglandinas endógenas e liberação de óxido nítrico, ativação de neurônios gástricos aferentes sensíveis à capsaicina e canais K^+_{ATP} , acompanhados por um aumento da microcirculação gástrica (GUEDES *et al.*, 2008).

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Os distúrbios gastrintestinais, como as úlceras gástricas, gastrite, diarreia, constipação, entre outros, tem mostrado alta prevalência nos últimos anos, sendo, portanto, foco de pesquisas relacionadas a seus tratamentos (BLACK *et al.*, 2020).

A úlcera gástrica é uma doença de preocupação global e pode ser definida como uma lesão na camada muscular do estômago, formando uma cavidade marcada por inflamação aguda e crônica, irritação e perda celular, podendo progredir até o câncer gástrico. O desequilíbrio entre os fatores agressivos e defensivos e resistência da célula da mucosa estão inclusos como causas de ulceração (AHMAD *et al.*, 2019). Nesse contexto, o uso excessivo de AINEs e/ou etilismo constituem alguns dos fatores predominantes no desenvolvimento desta patologia (KAVITT *et al.*, 2019). Assim, faz-se necessária a busca por novas opções terapêuticas que minimizem esses efeitos adversos, uma vez que o arsenal terapêutico para o tratamento convencional com o uso de antiácidos, de inibidores da bomba de prótons ou bloqueadores dos receptores de histamina tipo 2, apresentam efeitos adversos, como vertigem, sonolência, tontura, disfunções gastrintestinais, entre outros (KUNA *et al.*, 2019).

A diarreia pode ser causada por múltiplos fatores e embora a sua incidência e mortalidade tenha diminuído nos últimos anos, 1,6 milhões de pessoas morreram em 2017 em decorrência de doenças diarreicas no mundo (DADONAITE; RITCHIE; ROSER, 2019). No Brasil, anualmente, são registrados mais de 4 milhões de casos e mais de 4 mil óbitos por doenças diarreicas agudas (BRASIL, 2022). Para mais, a terapia farmacológica possui efeitos colaterais no TGI devido a prescrição e utilização exacerbada, como constipação grave e íleo paralítico (GUNNARSDOTTIR *et al.*, 2018; SAHOO *et al.*, 2016).

Dessa maneira, identificação de novos agentes, a partir de fontes naturais, que sejam úteis para o tratamento da úlcera gástrica e da diarreia, pode se mostrar como uma fonte de potenciais opções terapêuticas. Desse modo, as infusões dos capítulos florais de *Egletes viscosa* ganham destaque por serem usadas há muitos anos na medicina popular para o tratamento de diversas desordens gastrintestinais (MATOS, 2007). A análise das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* dos quimiotipos A e B, demonstrou a presença dos compostos majoritários ternatina, ácido centipédico e tanabalina, que apresentam atividade gastroprotetora comprovadas na literatura (GUEDES *et al.*, 2002, 2008; RAO

et al., 1997). Além disso, a ternatina possui atividade antidiarreica já descrita anteriormente (RAO *et al.*, 1997).

Apesar de já existirem estudos com os compostos isolados dos capítulos florais de *Egletes viscosa*, ainda não há relatos que comprovem a eficácia das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* quimiotipo A e B na literatura.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Buscar validar o efeito gastroprotetor e antidiarreico em camundongos e caracterizar a composição química das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA) ou quimiotipo B (EVQB).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter as infusões de EVQA e EVQB.
- Determinar a composição química não volátil de EVQA e EVQB.
- Avaliar a toxicidade aguda oral de EVQA ou EVQB.
- Verificar o efeito gastroprotetor de EVQA ou EVQB sobre lesões gástricas agudas induzidas por etanol ou indometacina.
- Demonstrar o efeito de EVQA ou EVQB nas alterações histopatológicas na mucosa gástrica após a lesão promovida por etanol.
- Caracterizar, em modelo de lesão gástrica induzida por etanol, os mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor de EVQA ou EVQB, através da ação sobre muco, marcadores do estresse oxidativo e inflamatório, prostaglandinas, canais de potássio sensíveis ao ATP, neurônios aferentes sensíveis à capsaicina e óxido nítrico.
- Avaliar o efeito de EVQA ou EVQB sobre o volume, pH e acidez total da secreção gástrica em modelo de ligação pilórica em camundongos.
- Avaliar o efeito de EVQA ou EVQB no modelo de indução de diarreia por óleo de Castor.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAL VEGETAL

A coleta do material vegetal de *Egletes viscosa*, quimiotipos A (EVQA) e B (EVQB), foi realizada pelo Dr. Kirley Canuto, da Embrapa Agroindústria Tropical. Os capítulos florais de *E. viscosa* foram comprados na Casa do alho em Fortaleza-Ceará no mês de março de 2017 (EVQA) e coletados no Canteiro da Embrapa em Cascavel-Ceará no mês de março de 2018 sempre as 08:00 horas (EVQB), sendo uma exsicata botânica identificada pela Prof^a Maria Iracema Bezerra Loiola depositada no Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará, sob o código identificador: #38254. Esse estudo foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional (SisGen) sob o N° A7B4712.

4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS AQUOSOS DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *Egletes viscosa* POR INFUSÃO

Os preparos das infusões foram feitos de acordo com o modo de preparação tradicional (MATOS, 2007) pelo Dr. Kirley Canuto, da Embrapa Agroindústria Tropical. Um balão de fundo redondo de 1 L foi mantido sob aquecimento em manta aquecedora com 150 mL de água destilada até 100°C. Após o aquecimento, o balão foi retirado da manta e foram transferidos dois gramas de capítulos florais por 10 minutos, resfriada, filtrada através de uma membrana de filtro com tamanho de poro de 0,22 µm (PTFE, Millex, Milipore) e liofilizada. Depois da liofilização, foi obtido 65 mg de extrato aquoso do quimiotipo A (rendimento: 3,25%) e 80 mg do quimiotipo B (rendimento 4,0%).

4.3 ANÁLISE CLUE-EMAR NÃO DIRECIONADA E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

As infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* foram analisadas usando uma abordagem metabolômica baseada em dois métodos Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado a Espectrometria de Massas de Alta Resolução (CLUE-EMAR) desenvolvidos por Carvalho *et al.* (2019), a fim de identificar seus constituintes e

quantificar os compostos bioativos. Esta metodologia foi realizada em parceria com o Dr. Kirley Canuto da Embrapa Agroindústria Tropical.

As impressões digitais metabólicas foram obtidas em um sistema Acquity Xevo CLUE-EMAR (Waters Co, EUA) equipado com uma fonte de ionização por eletrospray e uma coluna Acquity BEH (150 mm × 2,1 mm I.D., 1,7µm) a 40 °C. A fase móvel consistia em 0,1% de ácido fórmico em água (A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (B), eluição a 2-95% B (0-15 min), 100% B (15,1-17 min), e equilíbrio com 2% B (17,1–19,1 min) a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min e um volume de injeção de 5 µL. O instrumento foi controlado pelo software MassLynx 4.1 (Waters Co) e a aquisição foi configurada para MSE na faixa de 110–1180 Da em ambos os modos de ionização. Três réplicas biológicas foram injetadas em triplicata. Os compostos foram identificados provisoriamente através de fórmulas moleculares fornecidas pelo software MassLynx 4.1 a partir de suas massas precisas (erro < 5 ppm), padrões isotópicos (i-fit) e padrão de fragmentação MS, bem como levantamento quimiotaxonômico. Além disso, os compostos foram identificados por comparação com padrões de referência quando disponíveis.

Os compostos ternatina, tanabalina e ácido centipédico foram quantificados de acordo com o método descrito anteriormente por Carvalho *et al.* (2019), usando um cromatógrafo Acquity CLUE (Waters) instalado em um único analisador de massa do tipo quadrupolo e detector de matriz de fotodiodos (CLUE-QDa). Todas as amostras foram filtradas através de um filtro de seringa de tamanho de poro de 0,22 µm (PTFE, Millex, Millipore) antes de serem injetadas.

4.4 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos *Mus musculus*, da linhagem Swiss, 25-30 g, machos, fornecidos pelo Biotério Central, da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com temperatura controlada 24 ± 1 °C e ciclo de 12 h claro/12 h escuro, tendo livre acesso à água e ração. Antes da realização de cada experimento, os animais passaram por um período de 2 horas no local de experimentação para aclimatização ao novo ambiente. Foi utilizado um jejum de ração de 12 horas, com acesso a água *ad libitum*, antes do início dos experimentos.

Os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésico (cetamina 300 mg/kg e xilazina 30 mg/kg, i.p.).

Os ensaios experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFC) sob os protocolos de números 1860060721 e 6423230822.

4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

A avaliação da toxicidade aguda foi realizada seguindo a diretriz 425 da OECD, com pequena modificação (OECD GUIDELINE, 2001). Para isso, os camundongos machos foram divididos em 3 grupos, cada grupo com 3 animais, o grupo veículo recebeu por via oral água destilada (10 mL/kg), e os grupos testes receberam por via oral, 2000 mg/kg, de infusão dos capítulos florais de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA) ou quimiotipo B (EVQB). Por ser o primeiro estudo com a toxicidade aguda das infusões de *E. viscosa*, a dose de 2000 mg/kg foi a escolhida para esse experimento, uma vez que é a maior dose que pode ser utilizada. Imediatamente após a administração das infusões os animais foram observados 1, 2, 4, 6 e 8 horas e a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia, para verificar a ocorrência e número de mortes. Os animais foram observados quanto a quaisquer alterações na pele, pelo, olhos, muco, sistema circulatório, sistema nervoso autônomo e central, incluindo sinais como tremor, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sonolência, fasciculação, midríase, miose, alteração na defecação padrão, hipotonia e mortalidade. Além disso, o peso dos animais e o consumo de ração e água foram mensurados, em dias alternados, durante 14 dias.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DAS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

4.6.1 Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

Os camundongos, em jejum de 12h, foram divididos em grupos (n=8 animais/grupo) e tratados, por via oral, com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EVQA ou EVQB nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg ou N-acetilcisteína (NAC) 200 mg/kg. Depois de 1 hora dos tratamentos, as lesões gástricas foram induzidas pela administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal), de acordo com a metodologia descrita por Morimoto *et al.* (1991) com adaptações. Passados 30 minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados, em seguida seus estômagos foram retirados e abertos ao longo da curvatura maior para mensuração da área ulcerada, utilizando técnica

de planimetria (mm²) computadorizada através do *software ImageJ* 1.43. Os resultados foram expressos como área de lesão gástrica (mm²). Um grupo normal de animais sem nenhum tratamento foi incluído no estudo.

4.6.1.1 Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

Após as avaliações realizadas no protocolo anterior a área glandular dos estômagos foi retirada, fixada em formalina tamponada (10%, pH entre 6,8 - 7,4) e emblocada em parafina. Os blocos de parafina foram cortados, com espessura de 5 µm, foram fixados em lâminas histológicas, em seguida corados com hematoxilina e eosina (H&E) para avaliação microscópica. As lâminas foram examinadas com auxílio de um microscópio óptico com câmera acoplada para obtenção das fotomicrografias com aumento de 10 e 20x. As alterações histológicas avaliadas foram erosão, hemorragia, edema e infiltrado de células inflamatórias, com sua intensidade expressa como escore, onde: (0) indica alterações ausentes, (1) leves, (2) moderadas e (3) graves (AL-SAYED; EL-NAGA, 2015). Todas as análises foram realizadas por patologista habilitado, Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves, sem conhecimento prévio dos grupos.

4.6.1.2 Determinação do conteúdo de muco gástrico

A determinação do conteúdo de muco, que forma a barreira protetora da mucosa gástrica, foi realizada seguindo a metodologia descrita por Corne e Morrissey (1974), na qual foram utilizados os estômagos de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol (n=8 animais/grupo), tratados com veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) e N-acetilcisteína (200 mg/kg, v.o.). Um grupo de animais não recebeu etanol e nem os tratamentos. Para isso, a região glandular do estômago foi pesada, segmentada e transferida imediatamente para solução de azul de Alcian 1% (solução de sacarose 0,16 M com 0,05 M de acetato de sódio, pH 5) onde ficou por 2h. Em seguida o excesso de azul de Alcian (1%) dos segmentos foi removido deixando-os em uma solução de sacarose (0,2 M) por 15 minutos, e por mais 45 minutos em uma nova solução de sacarose (0,2 M). Após as lavagens os segmentos foram colocados em solução de cloreto de magnésio (0,5 M) e 4 mL dessa solução foram misturados em igual volume de éter dietílico. Essa mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi retirado e a absorbância mensurada em

espectrofotômetro no comprimento de onda de 580 nm. A quantificação do azul de Alcian foi calculada através da equação da reta de regressão linear da curva de calibração com diferentes concentrações de azul de Alcian (6,25-100 µg/mL). Os resultados foram expressos como micrograma de azul de Alcian por grama de tecido gástrico (µg de azul de Alcian/g de tecido).

4.6.1.3 Avaliação dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação

Os camundongos utilizados nos protocolos dos marcadores do estresse oxidativo e inflamação foram previamente submetidos ao experimento de lesões gástricas induzidas por etanol (n=8 animais/grupo), tratados com veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) e N-acetilcisteína (200 mg/kg, v.o.). Um grupo de animais não recebeu etanol e nem os tratamentos.

4.6.1.3.1 Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)

A região glandular dos estômagos de camundongos previamente submetidos ao protocolo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto, foi utilizada para determinar a peroxidação lipídica por mensuração do malondialdeído (MDA) usando o método descrito por Agar *et al.* (1999) com algumas modificações. A região glandular foi pesada e homogeneizada em tampão fosfato de sódio gelado (0,1 M, pH 7,0), com homogeneizador de tecido na proporção de 10%. Em seguida o homogenato foi centrifugado a 10000 rpm, durante 5 minutos, a 4 °C. Alíquotas de 100 µL do sobrenadante foram misturadas com ácido acético 20% e ácido 2-tiobarbitúrico 0,5% (diluído em ácido acético 20%, pH 2,4 - 2,6). A mistura foi transferida para o banho-maria com temperatura de 95°C, onde ficou durante 1 hora, e sequencialmente para o banho de gelo onde ficou durante 30 minutos. Em seguida recebeu dodecil sulfato de sódio (8,1%) e foi imediatamente centrifugada a 12000 rpm, durante 15 min, a 25 °C. A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda em 532 nm. A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano como padrão. Os resultados foram expressos em milimolar de MDA por micrograma de proteína (mM/µg de proteína). A dosagem de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.6.1.3.2 Determinação dos níveis de glutathione (GSH)

O ensaio para a determinação da concentração de glutathione reduzida foi realizado segundo protocolo descrito por Sedlak e Lindsay (1968). Os tecidos foram pesados e homogeneizados em solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA 0,02 M, pH 8,9) na proporção de 10% p/v, utilizando um homogeneizador de tecido. Posteriormente, 40 µL de cada homogenato foram misturados a 50 µL de água destilada e 10 µL de ácido tricloroacético (50%). A mistura resultante foi centrifugada a 5.000 rpm, durante 15 minutos, à 4 °C. Ao sobrenadante na placa (60 µL), foram adicionados 102 µL de solução tampão Tris (0,4 M), EDTA (0,02 M, pH 8,9) contendo 0,01 M de reagente de Ellman's (5,5-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico) - DTNB). A leitura da absorbância foi realizada imediatamente após a adição do DTNB, utilizando um leitor de microplaca (Asys - UVM 340) à 412 nm. Os resultados de absorbância foram interpolados a uma curva padrão de glutathione reduzida e expressos como molar de GSH por miligrama de proteína (M/mg de proteína). A dosagem de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.6.1.3.3 Ensaio enzimático da catalase (CAT)

A região glandular dos estômagos dos camundongos que foram previamente submetidos ao protocolo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto, como já descrito anteriormente, foram utilizadas para verificar a participação da enzima catalase na proteção da mucosa gástrica pelas infusões de *E. viscosa* (BEERS; SIZER, 1952). Os tecidos foram pesados e homogeneizados em solução tampão fosfato de potássio gelado (0,05 M, pH 7,4), na proporção de 10% p/v, utilizando um homogeneizador de tecido. O homogenato obtido foi centrifugado a 3.000 rpm, durante 15 min, em 4 °C. Uma solução de peróxido de hidrogênio (0,059 M) foi preparada com o tampão, e utilizada como solução substrato para o ensaio. Em uma cubeta de quartzo 10 µL do sobrenadante da amostra foi misturado a 2 mL da solução tampão/peróxido de hidrogênio (0,059 M). A absorbância foi lida em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 240 nm, durante 6 min, e a variação da absorbância do primeiro e do sexto minuto foi considerada. Os resultados foram expressos em micromolar de catalase por minuto por microgramas de

proteína ($\mu\text{M}/\text{min}/\mu\text{g}$ de proteína). A dosagem de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.6.1.3.4 Ensaio enzimático da superóxido dismutase (SOD)

A região glandular dos estômagos de camundongos previamente submetidos ao protocolo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto, foi utilizada para determinar a atividade enzimática de SOD. Os tecidos foram pesados e homogeneizados em solução tampão fosfato de potássio gelado (0,05 M, pH 7,4), na proporção de 10% p/v, utilizando um homogeneizador de tecido. O homogenato obtido foi centrifugado por 20 min, 12000 rpm, 4 °C. Em tubos de vidro foram misturados 10 μL do sobrenadante, 1 mL do meio de reação (tampão fosfato de potássio 50 mM, EDTA 100 nM e L-metionina 13 mM pH 7,8), 150 μL do NBT (Azul de nitrotetrazólio, 750 μM) e 300 μL de riboflavina (2 μM). Os tubos contendo a mistura foram expostos à lâmpada fluorescente (15 W) por 15 minutos e em seguida a mensuração da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 560 nm (BEAUCHAMP; FRIDOVICH 1971). Os resultados foram expressos como unidade da enzima, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50% por miligrama de proteína (U/mg de proteína). A dosagem de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.6.1.3.5 Avaliação dos níveis de nitrito

Os níveis de nitrito, que indiretamente correlaciona-se com a quantidade de óxido nítrico, na região glandular dos estômagos, foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Green *et al.* (1982). A região glandular dos estômagos dos animais previamente submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol, foram homogeneizadas em tampão fosfato de potássio gelado (50 mM, pH 7,8) utilizando um homogeneizador de tecidos para obtenção do homogenato a 10%. O homogenato foi centrifugado a 12000 rpm, por 15 minutos, a 4 °C. Cem microlitros do sobrenadante foram misturados a 100 μL do reagente de Griess (0,1% Dihidrocloreto de N-(1-naftill) etilenodiamida e 1% sulfanilamida em ácido fosfórico 5%) e após 10 minutos a absorbância foi mensurada em espectrofotômetro em 540 nm. As absorbâncias obtidas foram interpoladas à curva padrão de nitrito de sódio. Os resultados foram expressos

como micromols de nitrito por miligrama de proteína ($\mu\text{mol/mg}$ de proteína). A dosagem de proteína nas amostras foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.6.1.3.6 Ensaio da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)

A atividade da mieloperoxidase foi avaliada segundo protocolo descrito por Bradley, Christensen e Rothstein (1982). Para isso, a região glandular dos estômagos dos animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica induzida por etanol foi pesada e homogeneizada em solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio (0,5% diluído em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,0), na proporção de 5%. Em seguida o homogenato passou por três ciclos de 5 minutos de congelamentos e descongelamentos seguidos, alternando de congelamento (nitrogênio líquido) ao descongelamento (sonicador). Logo após, o homogenato foi centrifugado em 8.300 g, por 10 minutos, a 4 °C. Cem microlitros do sobrenadante foram adicionados a 1,9 mL da solução de reação (cloridrato de *o*-dionisidina, 0,167 mg/mL, tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,0 e peróxido de hidrogênio 0,0005%). Rapidamente após a mistura, a reação foi lida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 450 nm, durante seis minutos, com variação do primeiro e do sexto minuto sendo consideradas. Os resultados foram expressos como unidade de mieloperoxidase por miligrama de tecido (U/mg de tecido).

4.6.1.4 Avaliação do papel das Prostaglandinas, do Óxido Nítrico (NO), dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e do Receptor de Potencial Transitório Vaniloide tipo 1 (TRPV-1) no efeito gastroprotetor das infusões de *Egletes viscosa*

Para avaliar a participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor de EVQA e EVQB, os camundongos ($n=8/\text{grupo}$) foram pré-tratados com indometacina (10 mg/kg, s.c., diluída em solução de bicarbonato de sódio 5%) 30 minutos antes da administração do veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) ou misoprostol (50 $\mu\text{g/kg}$, v.o.) de acordo com o protocolo descrito por Matsuda e Yoshikawa (1999), com modificações. Após 60 minutos dos tratamentos, todos os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.) para a indução das lesões gástricas. Depois de 30 minutos, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas como descrito no item 4.6.1.

Para avaliar a participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor de EVQA e EVQB os animais (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados com N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, 20 mg/kg, i.p.), um inibidor da atividade enzimática da sintase de óxido nítrico (LEITE *et al.*, 2009). Depois de 30 minutos os animais receberam veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) ou L-arginina (600 mg/kg, i.p.). Após 45 min da administração do veículo, EVQA (100 mg/kg v.o.) e EVQB (100 mg/kg v.o.), e 30 minutos após a administração de L-arginina, todos os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL/animal). Depois de 30 minutos da administração do etanol os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas como descrito no item 4.6.1.

Para averiguar a participação dos canais de potássio dependentes de ATP (K_{ATP}) no efeito gastroprotetor de EVQA e EVQB os animais (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados com glibenclamida (3 mg/kg, i.p.), um bloqueador dos canais de potássio dependentes de ATP (K_{ATP}), 30 minutos antes da administração do veículo, EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) ou diazóxido (3 mg/kg, i.p.), seguindo protocolo descrito por Leite *et al.* (2009). Após 45 minutos da administração do veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg, v.o.) e EVQB (100 mg/kg, v.o.), e 30 min após a administração de diazóxido, todos os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL/animal). Trinta minutos depois os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas como descrito no item 4.6.1.

Para avaliar a participação do TRPV1 no efeito gastroprotetor das infusões de *E. viscosa*, seguiu-se a metodologia descrita por Moraes *et al* (2010), com modificações. Os animais (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados com capsazepina (5 mg/kg, i.p.), um antagonista específico dos receptores TRPV1, 30 minutos antes da administração do veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o.), EVQA (100 mg/kg v.o.), EVQB (100 mg/kg v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/kg, v.o.). Após 60 minutos dos tratamentos, todos os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.) para a indução das lesões. Depois de 30 minutos, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas como descrito no item 4.6.1.

4.6.2 Determinação de volume gástrico, acidez e pH em modelo de ligadura de piloro

Para determinação do volume de secreção, da acidez e do pH gástrico foi realizado o método de ligadura do piloro, de acordo com a metodologia descrita por Shay (1945) e

Miranda *et al.* (2015) com adaptações. Após jejum de ração por 12 horas, os camundongos foram divididos em grupos (n=8 animais/grupo) e anestesiados com uma combinação de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) administradas por via intraperitoneal. Sob o efeito da anestesia, os animais foram submetidos a um processo cirúrgico no qual foi realizada uma incisão longitudinal logo abaixo do processo xifoide. O piloro foi identificado e amarrado com fio de algodão e os animais do grupo veículo (água destilada, 10 mL/kg), EVQA (100 mg/kg), EVQB (100 mg/kg) ou omeprazol (30 mg/kg) receberam o tratamento por via intraduodenal.

Quatro horas após a ligadura pilórica, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos conforme descrito no item 4.4. Imediatamente após a eutanásia os estômagos foram amarrados com fio de algodão na região da cárdia para evitar a perda de líquido e cuidadosamente retirados. O conteúdo estomacal foi coletado em tubo de ensaio e submetido a centrifugação a 1.000 rpm, por 10 minutos, a 25 °C. O sobrenadante foi coletado e teve seu volume aferido. 100 µL do sobrenadante proveniente da secreção gástrica foi adicionado a 900 µL de água destilada fervida e resfriada a temperatura ambiente com 1 gota de fenolftaleína 1% (indicador). A acidez total foi determinada pela titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,01 N) usando fenolftaleína como indicador e expressa como mEq[H⁺]/L/4h. O pH da secreção gástrica foi calculado usando a seguinte equação: $pH = -\log [H^+]$.

4.6.3 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos

Camundongos (n=8/grupo) receberam, por via oral, veículo (solução de bicarbonato de sódio 5%), EVQA ou EVQB nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg. Omeprazol (OME) 30mg/kg, via oral, foi usado como controle. Depois de 1 h, todos os grupos receberam 30mg/kg de indometacina (diluída em solução de bicarbonato de sódio 5%), por via oral. Os animais foram eutanasiados 6h após a administração de indometacina (OLINDA *et al.*, 2008). Os estômagos foram retirados, abertos ao longo da curvatura maior e a área de lesão gástrica (mm²) foi mensurada através do software ImageJ 1.43 (BREVIGLIERI *et al.*, 2017).

4.7 AVALIAÇÃO DA DIARREIA INDUZIDA POR ÓLEO DE CASTOR EM ANIMAIS TRATADOS COM AS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

O método de indução de diarreia por óleo de Castor foi realizado de acordo com Awouters *et al.* (1993) com algumas modificações. Após jejum de ração por 8 horas, os camundongos foram divididos em grupos ($n = 8$) e após 1 h dos tratamentos com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EVQA (50, 100, 200 mg/kg, v.o.), EVQB (50, 100, 200 mg/kg, v.o.) ou loperamida (5 mg/kg, v.o.), a diarreia foi induzida nos grupos experimentais pela administração de óleo de Castor (10 mL/kg, v.o.). Em seguida, os animais foram alojados em gaiolas contendo papel absorvente, e foram observados durante 4 h quanto ao tempo de início da ocorrência de fezes diarreicas e as características, classificando as fezes com as seguintes pontuações: fezes normais (ou ausência de diarreia) = 0, fezes semi-sólidas = 1, fezes pastosas/fezes em quantidade pequena/moderada = 2, fezes aquosas/fezes aquosas em grande quantidade = 3 (DI CARLO *et al.*, 1994).

Após 4 h da administração do óleo de Castor, todos os camundongos foram eutanasiados e os intestinos delgado foram ligados na extremidade pilórica e junção ileocecal para serem removidos. Após a remoção, o intestino delgado foi pesado. Logo após a pesagem, o conteúdo intestinal foi lavado com solução salina e o intestino foi novamente pesado. As diferenças entre os pesos foram calculadas e expressas em miligramas (mg) (SEBAI *et al.*, 2014).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos nos ensaios experimentais foram expressos como média $\pm$ E.P.M ou mediana com mínimo e máximo (variáveis sem distribuição normal). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via ou duas vias, seguida dos testes de Tukey ou Bonferroni. Para as análises das alterações histológicas e índice de diarreia foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de comparação múltipla de Dunns. A diferença entre as médias da distribuição normal (dados paramétricos) foi analisada pelo teste t de Student. Valores de p menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. O programa utilizado na análise estatística foi o GraphPad Prism® 5.03 (USA).

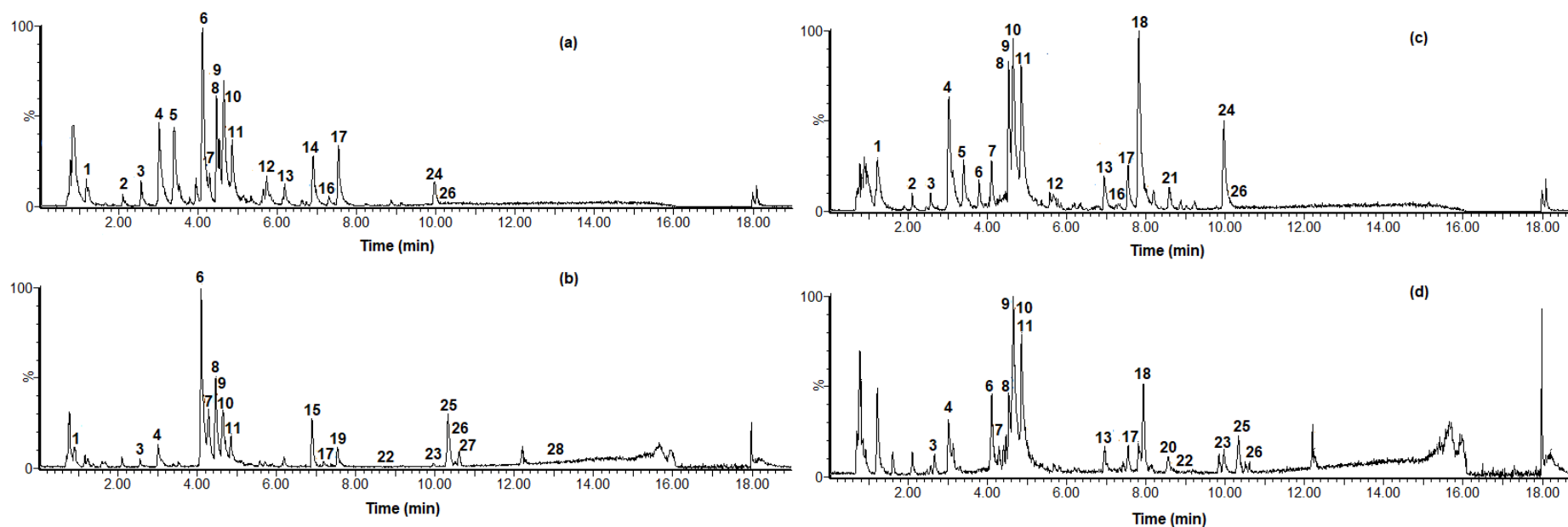
5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS INFUSÕES DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *Egletes viscosa*

As análises CLUE-EMAR de EVQA e EVQB são mostradas na Figura 8. Vinte e oito compostos foram encontrados nessas infusões: sete derivados de ácidos fenólicos [ácido neoclorogênico (3), ácido clorogênico (4), ácido cafeico (5), ácido 1,4-di-O-cafeoilquínico (8) ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico (9), ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico (10) e ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico (11)]; três flavonoides [rutina (6), kaempferol-3-O-ramnosídeo (7) e ternatina (22)], juntamente com quatorze diterpenos [os isômeros lactona isociliolide (14 e 19), kerlinolida (15), isômeros 7-hidroxi-3,13-clerodandien-16,15:18,19-diolida (16 e 17), bacchariol (18), 12-*epi*-bacotricuneatina (20), 12-hidroxi-3,13-clerodandien-18,19:15,16-diolídeo (21), 15,16-epoxi-12-hidroxi-3,13-clerodandien-18,19:15,16-dieno-18,19-hemiacetal (23), isômeros 12-hidroxi-clerodandieno-18,19:15,16diolídeo (24 e 26), 8 α -hidroxilabd13(S)-O- β -D-ribopiranosídeo (25), tanabalina (27) e ácido centipédico (28)]. Além disso, quatro compostos não identificados foram detectados (1, 2, 12, 13) (Tabela 1).

Ambas as infusões exibiram picos intensos para os compostos fenólicos ácido 1,4-di-O-cafeoilquínico (8) ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico (9), ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico (10) e ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico (11). Além disso, foram determinadas as concentrações de ternatina (22), tanabalina (27) e ácido centipédico (28). A EVQA apresentou quantidades de ternatina ($2,21 \pm 7,20$ mg/L), tanabalina ($0,91 \pm 1,77$ mg/L) e ácido centipédico ($3,40 \pm 2,40$ mg/L), enquanto na EVQB os valores foram de $0,91 \pm 1,77$ mg/L, $0,79 \pm 8,70$ mg/L e $3,24 \pm 1,50$ mg/L, respectivamente.

Figura 8 - Cromatogramas CLUE-EMAR das infusões dos capítulos florais de *Egletes viscosa*.



Quimiotipo A (EVQA) em (a) modo de ionização negativa, (b) modo positivo; Quimiotipo B (EVQB) em (c) modo negativo, (d) modo positivo.

Tabela 1 - Caracterização química baseada na análise CLUE-EMAR para as infusões dos capítulos florais de *Egletes viscosa*.

Compostos	t _R (min)	Fórmula molecular	m/z	EVQA	EVQB	Referência
Ácidos fenólicos						
ácido neoclorogênico (3)	2.55	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.0876 [M-H] ⁻	X	X	Sánchez-Salcedo <i>et al.</i> (2016)
ácido clorogênico (4)*	3.01	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353.0858 [M-H] ⁻	X	X	Sánchez-Salcedo <i>et al.</i> (2016)
ácido cafeico (5)*	3.38	C ₉ H ₉ O ₄	179.0464 [M-H] ⁻	X	X	Wang <i>et al.</i> (2017)
ácido 1,4-di-O-cafeoilquínico (8)	4.52	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.1201 [M-H] ⁻	X	X	Clifford, Knight e Kuhnert (2005)
ácido 3,4-di-O-cafeoilquínico (9)	4.63	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.1110 [M-H] ⁻	X	X	Clifford, Knight e Kuhnert (2005)
ácido 3,5-di-O-cafeoilquínico (10)	4.76	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.1243 [M-H] ⁻	X	X	Clifford, Knight e Kuhnert (2005)
ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico (11)	4.84	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.1106 [M-H] ⁻	X	X	Clifford, Knight e Kuhnert (2005)
Flavonóides						
rutina (6)*	4.10	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.1501 [M-H] ⁻	X	X	Sousa <i>et al.</i> (2016)
kaempferol-3-O-ramnosídeo (7)	4.45	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	593.1503 [M-H] ⁻	X	X	Engels <i>et al.</i> (2012)
ternatina (22)	8.60	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	375.1071 [M+H] ⁺	X [#]	X [#]	Lima <i>et al.</i> (1996)
Diterpenos						
lactona isociliolida (14)	6.90	C ₂₀ H ₂₄ O ₅	343.1489 [M-H] ⁻	X	-	Zdero <i>et al.</i> (1990)
kerlinolida (15)	6.90	C ₂₂ H ₂₈ O ₇	405.1906 [M+H] ⁺	X	-	Vieira <i>et al.</i> (2006)
7-hidroxi-3,13-clerodandieno-16,15:18,19-diolida (16)	7.53	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	347.1907 [M-H] ⁻	X	X	Januário <i>et al.</i> (2004)
isômero 7-hidroxi-3,13-clerodandieno-16,15:18,19-diolida (17)	7.55	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	347.1922 [M-H] ⁻	X	X	Januário <i>et al.</i> (2004)

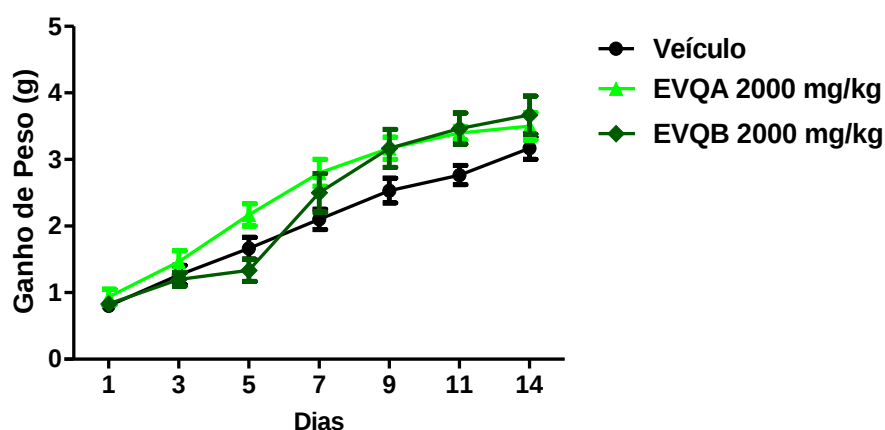
bacchariol (18)	7.81	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	359.1324 [M-H] ⁻	-	X	Akaike <i>et al.</i> (2003)
isômero lactona isociliolida (19)	7.93	C ₂₀ H ₂₄ O ₅	343.1499 [M-H] ⁻	-	X	Zdero <i>et al.</i> (1990)
12- <i>epi</i> -bachotricuneatina (20)	8.15	C ₂₀ H ₂₂ O ₅	343.1534 [M+H] ⁺	-	X	Vieira <i>et al.</i> (2006)
12-hidroxiclerodandieno-18,19:15,16-diolida (21)	8.57	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	347.1888 [M-H] ⁻	-	X	Silveira, Pessoa (2005)
15,16-epóxi-12-hidroxineocleroda-13(16),14-dieno-18,19-hemiaceta (23)	10.01	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	357.2051 [M+H] ⁺	-	X	Silveira, Pessoa (2005)
12-hidroxi-clerodandieno18,19:15,16-diolida (24)	10.05	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	331.1887 [M-H] ⁻	X	X	Silveira, Pessoa (2005)
8 α - -hidroxilabda 13(S)-O- β -D-ribopiranosideo (25)	10.33	C ₂₅ H ₄₃ O ₆	463.3044 [M+Na] ⁺	X	X	Silva-Filho <i>et al.</i> (2007)
isômero 12- hidrox-clerodandien-18,19:15,16-diolida (26)	10.60	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	331.1747 [M-H] ⁻	X	X	Silveira, Pessoa (2005)
tanabalina (27)	10.65	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	373.2020 [M+H] ⁺	X [#]	X [#]	Lima <i>et al.</i> (1996)
ácido centipédico (28)	13.01	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	317.2028 [M+H] ⁺	X [#]	X [#]	Lima <i>et al.</i> (1996)
Não identificado						
não identificado (1)	1.22	C ₇ H ₈ O ₇	203.0230 [M-H] ⁻	X	X	-
não identificado (2)	2.17	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₀	497.1440 [M-H] ⁻	X	X	-
não identificado (12)	5.38	C ₂₇ H ₄₈ O ₁₁	547.3097 [M-H] ⁻	X	X	-
não identificado (13)	5.50	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	361.1651 [M-H] ⁻	X	X	-

tR (min): Tempo de retenção em minutos. *Esses compostos combinaram com padrões de referência analisados nas mesmas condições cromatográficas. Outros compostos foram supostamente identificados com base em suas fórmulas moleculares, padrões de fragmentação de MS e dados da literatura. #íon extraído.

5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

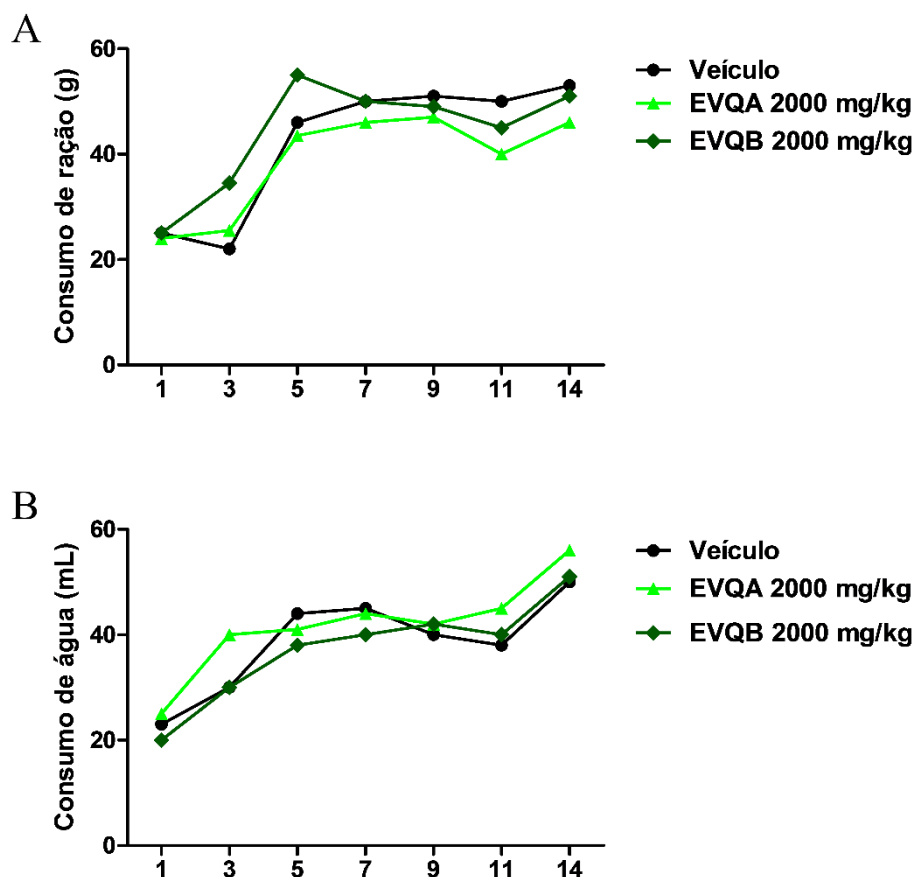
Os resultados apresentados evidenciam que a administração oral única de 2000 mg/kg de EVQA e EVQB não produziu alterações no peso dos camundongos (Figura 9), nem no consumo de ração e água (Figura 10) quando comparadas com o grupo veículo, durante os 14 dias seguintes à sua administração. Nenhuma morte foi observada após os 14 dias e a inspeção, visual, nos órgãos internos não mostrou alterações ou lesões nos grupos tratados quando comparados com os do grupo controle. Esses dados certificam a segurança das doses utilizadas para estudar o efeito farmacológico de EVQA e EVQB.

Figura 9 - Ganho de peso dos animais submetidos a avaliação de toxicidade aguda das infusões de *Egletes viscosa*.



Animais foram tratados por via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 2000 mg/kg) e Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 2000 mg/kg) e observados quanto ao ganho de peso durante 14 dias. Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 3 animais/grupo (ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferoni).

Figura 10 - Consumo de ração e água dos animais submetidos a avaliação de toxicidade aguda das infusões de *Egletes viscosa*.



Animais foram tratados por via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 2000 mg/kg) e Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 2000 mg/kg) e observados quanto ao consumo de ração e água durante 14 dias. O painel A mostra o consumo de ração (g); e o painel B mostra o consumo de água (mL). Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 3 animais/grupo (ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferroni).

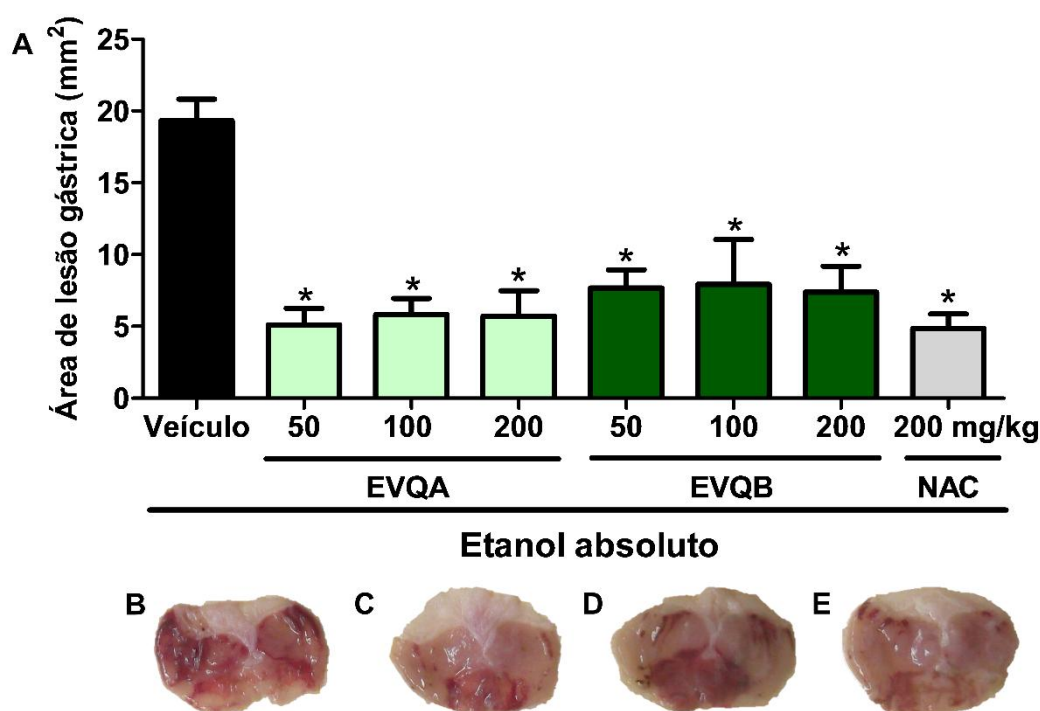
5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DAS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

5.3.1 Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

A administração de etanol nos camundongos do grupo veículo produziu lesões gástricas hemorrágicas com uma área total de $19,32 \pm 1,50 \text{ mm}^2$. Os animais pré-tratados com EVQA (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) apresentaram uma redução significativa da área de lesões gástricas para $5,11 \pm 1,13$; $5,82 \pm 1,11$ e $5,71 \pm 1,78 \text{ mm}^2$, respectivamente, reduzindo a lesão em 74, 70 e 70% comparados ao grupo veículo. Já os animais pré-tratados com EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) reduziram a área de lesão para $7,67 \pm$

1,28; $7,93 \pm 3,12$ e $7,38 \pm 0,99$ mm², respectivamente, reduzindo a lesão em 60, 59 e 62% comparados ao grupo veículo. Além disso, não há diferença significativa na redução da lesão gástrica entre as doses de EVQA e EVQB. De forma semelhante ao pré-tratamento com as infusões, o pré-tratamento com N-acetilcisteína (NAC) (200 mg/kg, v.o.) também apresentou redução da área de lesão gástrica ($4,87 \pm 0,99$ mm²) em 75% quando comparado com os animais do grupo veículo (Figura 11).

Figura 11 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.



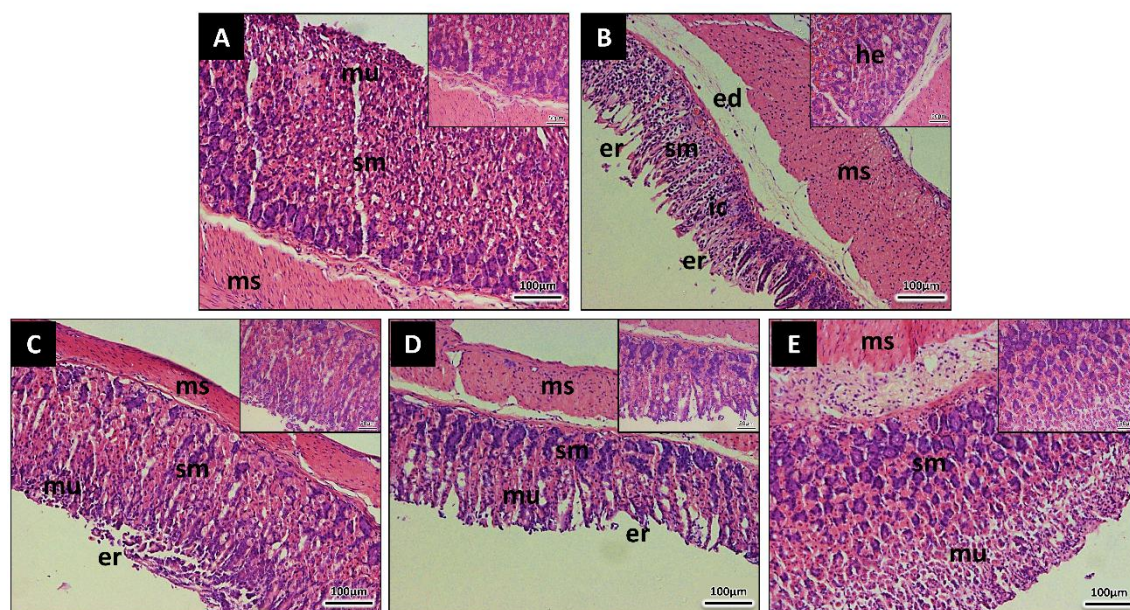
Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 50, 100 e 200 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 50, 100 e 200 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). O painel A mostra a área da lesão gástrica (mm²); Os painéis B (veículo), C (EVQA 100mg/kg), D (EVQB 100 mg/kg) e E (N-acetilcisteína, NAC, 200 mg/kg) são representativos da fotografia macroscópica de estômagos. Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.1.1 Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

As alterações histológicas nos espécimes de estômagos dos diferentes grupos experimentais são apresentadas na Figura 12. Os estômagos dos camundongos que não receberam tratamento e nem etanol, apresentaram mucosa e submucosa com aspectos

normais (Figura 12-A). Enquanto os animais do grupo veículo, que receberam apenas etanol absoluto, apresentaram danos gástricos com erosões, hemorragia na camada da mucosa e edema e infiltrado de células inflamatórias na camada submucosa (Figura 12-B). O grupo que foi pré-tratado com EVQA (100 mg/kg, v.o.) teve a mucosa gástrica protegida da ação do etanol absoluto, apresentando ausência de edema e hemorragia com a ocorrência de erosões leves e de infiltrado de células inflamatórias (Figura 12-C). Já o grupo pré-tratado com EVQB (100 mg/kg, v.o.) apresentou erosão moderada na maioria das amostras examinadas, com a leve ocorrência de edema e infiltrado de células inflamatórias (Figura 12-D). A análise histológica do grupo pré-tratado com NAC (200 mg/kg, v.o.) não apresentou sinais de alterações na maioria das amostras analisadas (Figura 12-E). Os resultados foram apresentados também na forma de escore de alterações: (0) indica alterações ausentes, (1) leves, (2) moderadas e (3) graves (Tabela 2).

Figura 12- Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre as alterações histológicas do tecido gástrico induzidas por etanol absoluto em camundongos.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). Um grupo que não recebeu nem tratamento e nem etanol foi incluído no estudo. Fotomicrografias representativas de camundongo controle normal (A), mostrando aparência histológica normal da mucosa (mu), submucosa (sm) e da região muscular (ms); (B) estômago de camundongo tratado com etanol absoluto, mostrando erosão (er) e hemorragia (he) na camada mucosa, infiltração de células inflamatórias (ic) e edema (ed) na área submucosa; (C) estômago de camundongo tratado com EVQA (100 mg/kg) mostrando erosão (er) leve; (D) estômago de camundongo tratado com

EVQB (100 mg/kg) mostrando erosão (er) moderada na região de mucosa; e (E) estômago de camundongos tratados com N-acetilcisteína (200 mg/kg) mostrando histologia normal das áreas mucosa e submucosa (H&E, 100x e 200x).

Tabela 2 - Efeitos das infusões de *Egletes viscosa* nas alterações histopatológicas induzidas por etanol em camundongos.

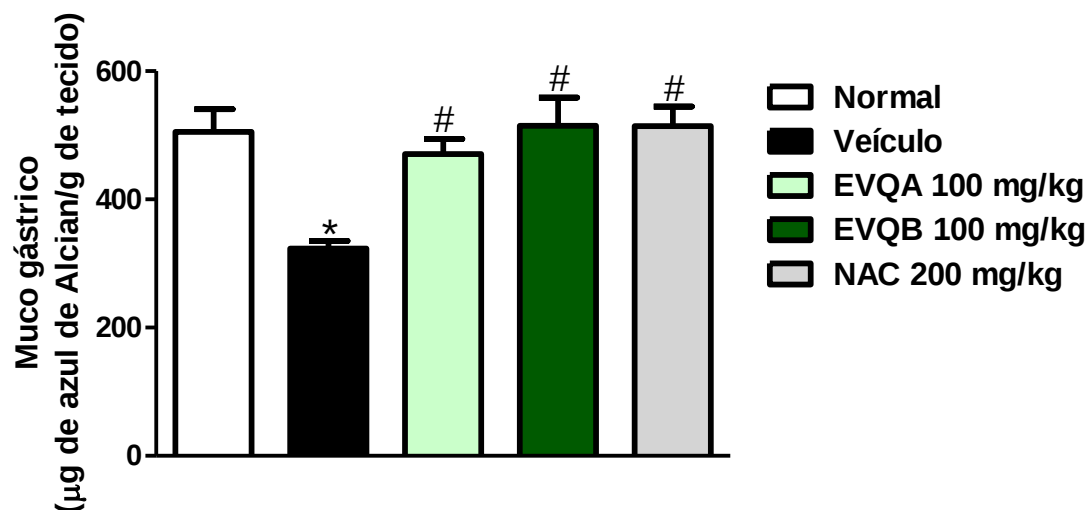
Alteração histopatológica	Normal	Veículo	EVQA 100 mg/kg	EVQB 100 mg/kg	NAC 200 mg/kg
Erosão na área da mucosa	0 (0-0)	3 (2-3)*	1 (0-1) #	2 (0-2) #	0 (0-2) #
Hemorragia na área da mucosa	0 (0-0)	2 (0-2)*	0 (0-1) #	0 (0-0) #	0 (0-0) #
Edema na área da submucosa	0 (0-0)	2 (0-2)*	0 (0-0) #	0 (0-1) #	0 (0-0) #
Infiltração de células inflamatórias na área da submucosa	0 (0-0)	3 (2-3)*	0 (0-1) #	0 (0-1) #	0 (0-1) #

Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). Um grupo que não recebeu nem tratamento e nem etanol foi incluído no estudo. Ausente (0), leve (1), moderado (2) e grave (3). Escores são expressos como mediana (mínima - máxima), para 4 animais/grupo * $p < 0,05$ vs grupo sham e # $p < 0,05$ vs grupo veículo. Para a análise utilizou-se o teste de Kruskal-wallis seguido pelo pós-teste de Dunns.

5.3.1.2 Determinação do conteúdo de muco gástrico

O etanol administrado nos camundongos do grupo veículo produziu uma redução de 36% ($323,3 \pm 11,8$ µg de azul de Alcian/g de tecido) do conteúdo de muco na mucosa gástrica, quando comparados ao grupo normal ($505,3 \pm 35,4$ µg de azul de Alcian/g de tecido). À medida que, os animais tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.) ou EVQB (100 mg/kg, v.o.) apresentaram significativo aumento no conteúdo de muco gástrico de 45% ($470,8 \pm 23,4$ µg de azul de Alcian/g de tecido) e 59% ($514,7 \pm 44,0$ µg de azul de Alcian/g de tecido), respectivamente, quando comparados com o grupo veículo. O pré-tratamento com NAC (200 mg/kg, v.o.) aumentou o conteúdo de muco gástrico em 59% ($514,0 \pm 30,7$ µg de azul de Alcian/g de tecido), quando comparado ao grupo veículo. Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Figura 13).

Figura 13 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre muco gástrico em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.



Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). Um grupo que não recebeu nem tratamento e nem etanol foi incluído no estudo. Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo, * $p < 0,05$ vs. grupo sham, # $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.1.3 Avaliação dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação

5.3.1.3.1 Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)

Os animais do grupo veículo que receberam somente etanol apresentaram níveis de malondialdeído aumentados em 3,8 vezes ($0,46 \pm 0,05$ mM/µg de proteína), quando comparado com o grupo normal ($0,12 \pm 0,01$ mM/µg de proteína). Por outro lado, os animais que receberam o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou N-acetilcisteína (NAC) (200 mg/kg, v.o.) apresentaram uma redução significativa dos níveis de MDA no tecido gástrico para $0,25 \pm 0,03$; $0,13 \pm 0,01$ e $0,15 \pm 0,01$ mM/µg de proteína, respectivamente, em comparação ao grupo veículo ($0,46 \pm 0,05$ mM/µg de proteína). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Tabela 3).

5.3.1.3.2 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH)

Os animais do grupo veículo apresentaram redução dos níveis de GSH em 97% ($3,33 \pm 1,02$ M/mg de proteína) quando comparados com os do grupo normal ($114,20 \pm 6,07$ M/mg de proteína). Por outro lado, os níveis de GSH não foram significativamente depletados em animais pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.) para $27,34 \pm 7,13$ M/mg de proteína, EVQB (100 mg/kg, v.o.) para $37,75 \pm 6,66$ M/mg de proteína ou com NAC (200 mg/kg, v.o.) para $50,44 \pm 6,6$ M/mg de proteína, quando comparados com o grupo veículo ($3,33 \pm 1,02$ M/mg de proteína). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Tabela 3).

5.3.1.3.3 Ensaio enzimático da catalase (CAT)

A administração de etanol nos animais do grupo veículo reduziu a atividade da enzima catalase em 70% ($24,23 \pm 3,50$ μ M/min/ μ g proteína) em comparação com os resultados obtidos em camundongos do grupo normal ($79,88 \pm 10,63$ μ M/min/ μ g proteína). Entretanto, a atividade enzimática da catalase foi significativamente aumentada em animais pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.) para $71,62 \pm 10,89$ μ M/min/ μ g proteína e com EVQB (100 mg/kg, v.o.) para $79,01 \pm 10,51$ μ M/min/ μ g proteína ou NAC (200 mg/kg, v.o.) para $83,57 \pm 8,84$ μ M/min/ μ g proteína, quando comparados com o grupo veículo ($24,23 \pm 3,50$ μ M/min/ μ g proteína). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Tabela 3).

5.3.1.3.4 Ensaio enzimático da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos animais do grupo veículo que receberam apenas etanol ($0,030 \pm 0,002$ U/mg de proteína) foi reduzida em 68% quando comparados com o grupo normal ($0,093 \pm 0,002$ U/mg de proteína). Todavia, o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou NAC (200 mg/kg, v.o.) foi capaz de estimular a atividade enzimática de SOD ($0,064 \pm 0,010$; $0,088 \pm 0,012$ e $0,063 \pm 0,006$ U/mg de proteína, respectivamente), em comparação com os resultados obtidos no grupo veículo ($0,030 \pm 0,002$ U/mg de proteína). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Tabela 3).

5.3.1.3.5 Avaliação dos níveis de nitrito

Os animais do grupo veículo que receberam a administração de etanol reduziu os níveis de nitrito em 79% ($0,23 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína), quando comparado ao grupo normal ($1,09 \pm 0,17$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína). Em contrapartida, o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou NAC (200 mg/kg, v.o.) aumentou os níveis de nitrito para $0,84 \pm 0,09$; $0,87 \pm 0,16$ e $1,03 \pm 0,17$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína, respectivamente, no tecido gástrico dos animais, comparados ao grupo veículo ($0,23 \pm 0,02$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Tabela 3).

Tabela 3 - O efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre os níveis de peroxidação lipídica (MDA), glutatona (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase e nitrito no estômago glandular de camundongos tratados com etanol absoluto.

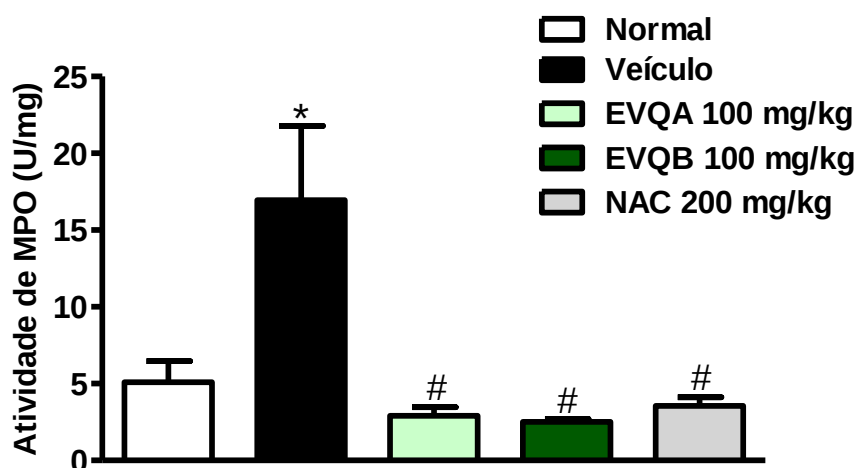
Tratamento	Dose	MDA (mM/ μ g proteína)	GSH (M/mg proteína)	SOD (U/mg proteína)	Catalase (μ M/min/ μ g proteína)	Nitrito (μ mol/mg proteína)
Normal	–	0,12 $\pm$ 0,01	114,20 $\pm$ 6,07	0,093 $\pm$ 0,002	79,88 $\pm$ 10,63	1,09 $\pm$ 0,17
Veículo	–	0,46 $\pm$ 0,05*	3,33 $\pm$ 1,02*	0,030 $\pm$ 0,002*	24,23 $\pm$ 3,50*	0,23 $\pm$ 0,02*
EVQA	100 mg/kg, v.o.	0,25 $\pm$ 0,03 [#]	27,34 $\pm$ 7,13 [#]	0,064 $\pm$ 0,010 [#]	71,62 $\pm$ 10,89 [#]	0,84 $\pm$ 0,09 [#]
EVQB	100 mg/kg, v.o.	0,13 $\pm$ 0,01 [#]	37,75 $\pm$ 6,66 [#]	0,088 $\pm$ 0,012 [#]	79,01 $\pm$ 10,51 [#]	0,87 $\pm$ 0,16 [#]
N-acetilcisteína	200 mg/kg, v.o.	0,15 $\pm$ 0,01 [#]	50,44 $\pm$ 6,60 [#]	0,063 $\pm$ 0,006 [#]	83,57 $\pm$ 8,84 [#]	1,03 $\pm$ 0,17 [#]

Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). Um grupo que não recebeu nem tratamento e nem etanol foi incluído no estudo. MDA (Malondialdeído); GSH (Glutathione reduzida); SOD (Superóxido dismutase). Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. *p<0,05 vs. grupo sham, [#]p<0,05 vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.1.3.6 Ensaio da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)

A atividade enzimática da mieloperoxidase nos animais do grupo veículo foi aumentada em 3,3 vezes ($16,95 \pm 4,83$ U/mg de tecido), quando comparado ao grupo normal ($5,09 \pm 1,38$ U/mg de tecido). Já os animais pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou NAC (200 mg/kg, v.o.) apresentaram redução da atividade de MPO ($2,9 \pm 0,56$; $2,5 \pm 0,2$ e $3,56 \pm 0,55$ U/mg de tecido, respectivamente), em comparação com os animais do grupo veículo ($16,95 \pm 4,83$ U/mg de tecido). Além disso, não há diferença significativa entre os grupos pré-tratados com EVQA, EVQB ou NAC (Figura 14).

Figura 14 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre a atividade enzimática de mieloperoxidase (MPO) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.



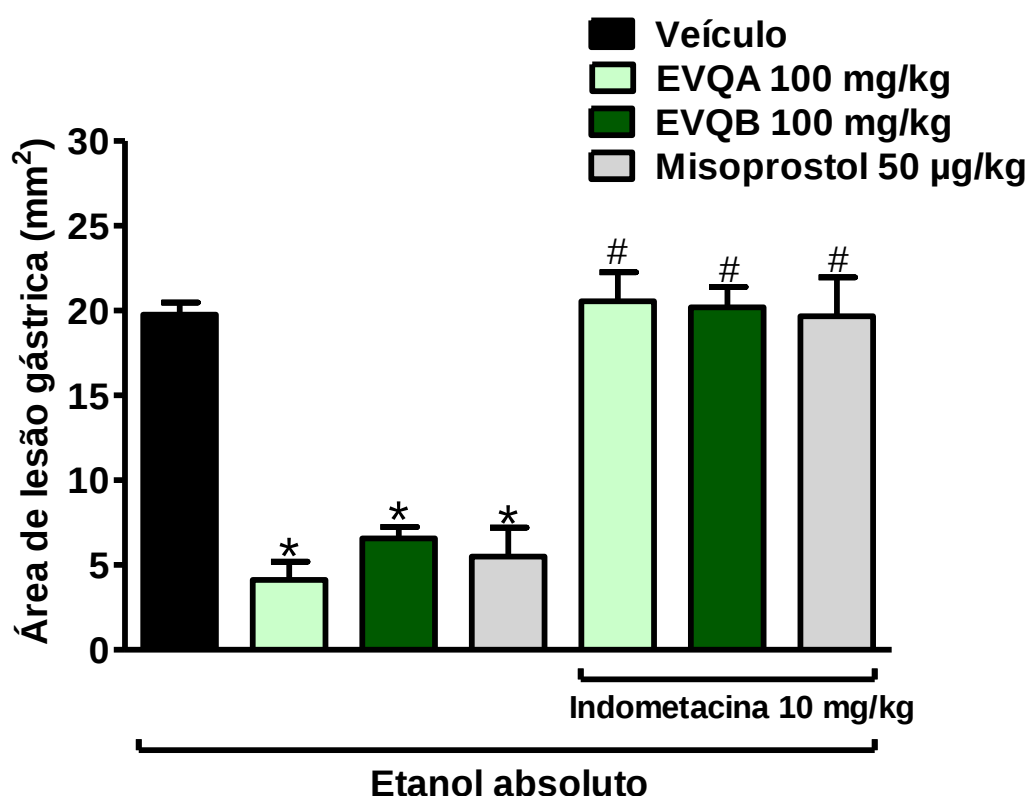
Animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração do etanol (0,2 mL/animal) com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). Um grupo que não recebeu nem tratamento e nem etanol foi incluído no estudo. Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo sham, # $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.1.4 Avaliação do papel das Prostaglandinas, do Óxido Nítrico (NO), dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (KATP) e do Receptor de Potencial Transitório Vaniloide tipo 1 (TRPV-1) no efeito gastroprotetor das infusões de *Egletes viscosa*

Os camundongos do grupo veículo apresentaram área de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto de $19,76 \pm 0,71$ mm², que foi reduzida para $4,12 \pm 1,08$; $6,58 \pm 0,67$ e $5,49 \pm 1,7$ mm² quando os camundongos foram pré-tratados com EVQA

(100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou misoprostol (50 µg/kg, v.o.), respectivamente. Entretanto, esse efeito gastroprotetor promovido por EVQA, EVQB e misoprostol foi significativamente inibido quando os camundongos foram pré-tratados com indometacina (10 mg/kg, s.c.) ($20,56 \pm 1,7$; $20,21 \pm 1,19$ e $19,68 \pm 2,29$ mm², respectivamente) (Figura 15).

Figura 15 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.

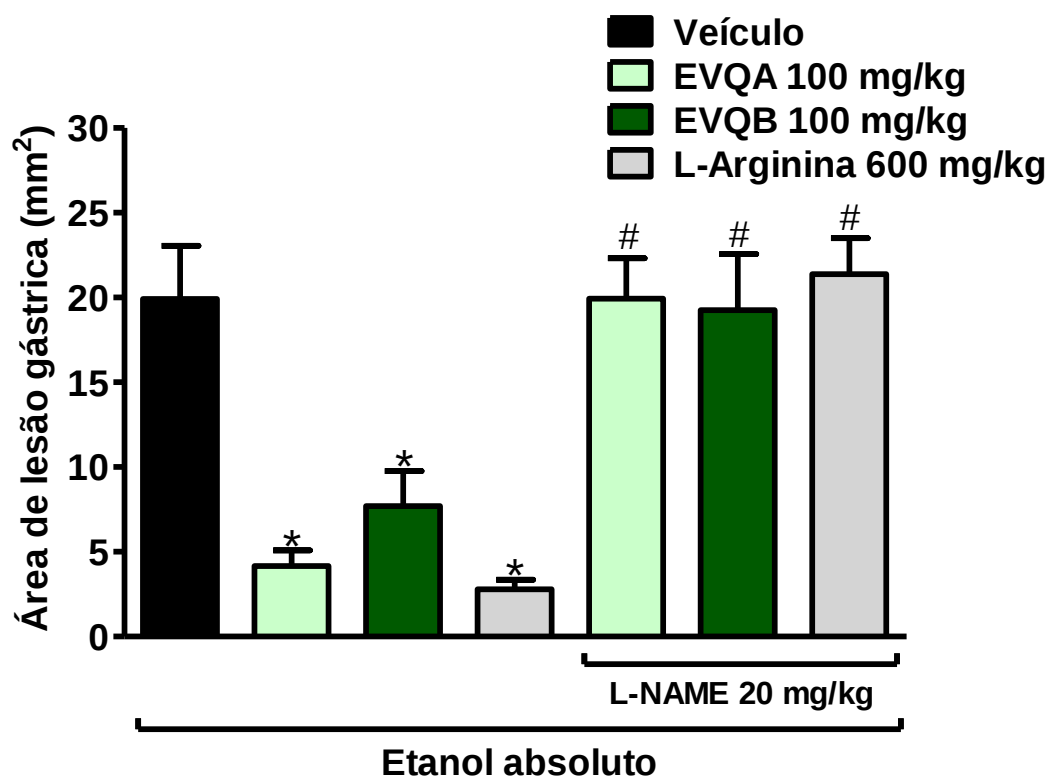


Animais foram pré-tratados, por via subcutânea, 30 min antes da administração da Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e Misoprostol (50 µg/kg) com Indometacina (10 mg/kg). Após 1 hora dos tratamentos, todos os grupos receberam etanol (0,2 mL/animal). Um grupo tratado com veículo (água destilada, 10 mL/kg) foi incluído no estudo. Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo, # $p < 0,05$ vs. respectivo grupo EVQA, EVQB ou misoprostol (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Os camundongos do grupo veículo apresentaram área de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto de $19,92 \pm 3,13$ mm², que foi reduzida para $4,17 \pm 0,91$; $7,7 \pm 2,06$ e $2,79 \pm 0,56$ mm² quando os camundongos foram pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou L-arginina (600 mg/kg, i.p.), respectivamente. No entanto, esse efeito gastroprotetor promovido por EVQA, EVQB e L-arginina foi

significativamente inibido quando os camundongos foram pré-tratados com L-NAME (20 mg/kg, i.p.) ($19,94 \pm 2,37$; $19,25 \pm 3,31$ e $21,38 \pm 2,12$ mm², respectivamente) (Figura 16).

Figura 16 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.

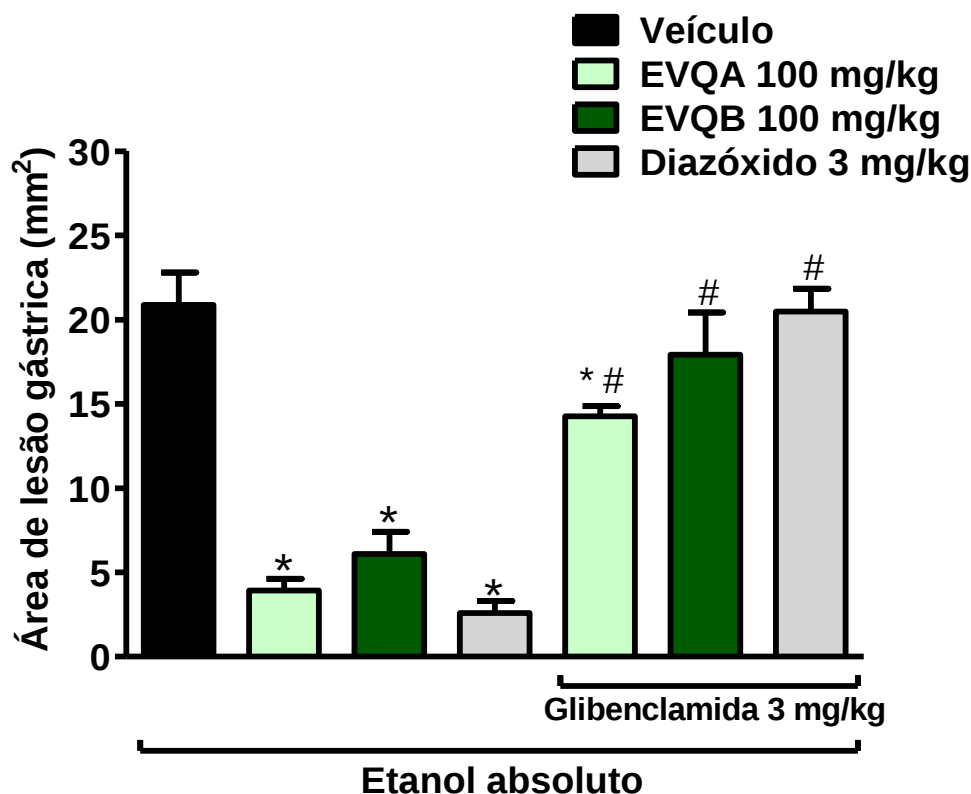


Animais foram pré-tratados, por via intraperitoneal, 30 min antes da administração da Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e L-arginina (600 mg/kg) com L-NAME (20 mg/kg). Após 45 min dos tratamentos, todos os grupos receberam etanol (0,2 mL/animal). Um grupo tratado com veículo (água destilada, 10 mL/kg) foi incluído no estudo. Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo, # $p < 0,05$ vs. respectivo grupo EVQA, EVQB ou L-arginine (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Os camundongos do grupo veículo apresentaram área de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto de $20,88 \pm 1,92$ mm², que foi reduzida para $3,93 \pm 0,68$; $6,08 \pm 1,32$ e $2,6 \pm 0,7$ mm² quando os camundongos foram pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou glibenclamida (3 mg/kg, i.p.), respectivamente. Todavia, esse efeito gastroprotetor promovido por EVQA foi parcialmente inibido quando os camundongos foram pré-tratados com diazóxido (3 mg/kg, i.p.) ($14,26 \pm 0,6$). Já o efeito promovido por EVQB e glibenclamida foi totalmente inibido quando os

camundongos foram pré-tratados com diazóxido (3 mg/kg, i.p.) ($17,92 \pm 2,50$ e $20,49 \pm 1,34$ mm², respectivamente) (Figura 17).

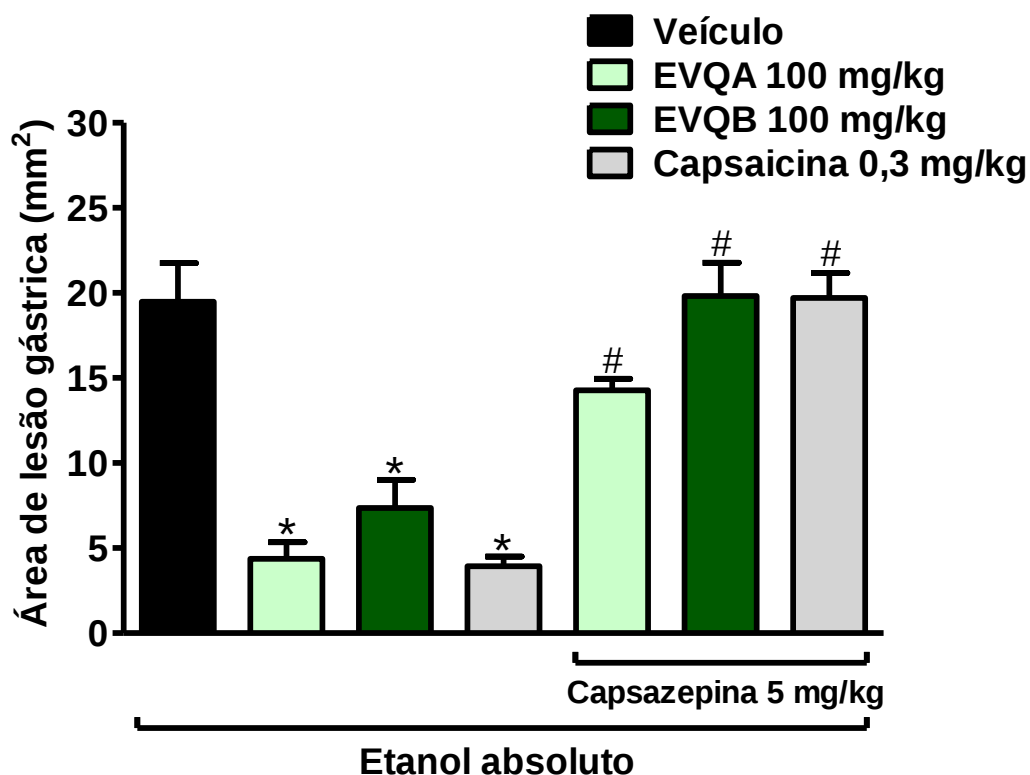
Figura 17 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.



Animais foram pré-tratados, por via intraperitoneal, 30 min antes da administração da Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e Diazóxido (3 mg/kg) com glibenclamida (3 mg/kg). Após 45 min dos tratamentos, todos os grupos receberam etanol (0,2 mL/animal). Um grupo tratado com veículo (água destilada, 10 mL/kg) foi incluído no estudo. Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo, # $p < 0,05$ vs. respectivo grupo EVQA, EVQB ou glibenclamida (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Os camundongos do grupo veículo apresentaram área de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto de $19,49 \pm 2,26$ mm², que foi reduzida para $4,37 \pm 0,98$; $7,35 \pm 1,66$ e $3,93 \pm 0,56$ mm² quando os camundongos foram pré-tratados com EVQA (100 mg/kg, v.o.), EVQB (100 mg/kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/kg, v.o.), respectivamente. Porém, esse efeito gastroprotetor promovido por EVQA, EVQB e capsaicina foi significativamente inibido quando os camundongos foram pré-tratados com capsazepina (5 mg/kg, i.p.) ($14,28 \pm 0,66$; $19,83 \pm 1,95$ e $19,71 \pm 1,47$ mm², respectivamente) (Figura 18).

Figura 18 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com capsazepina.

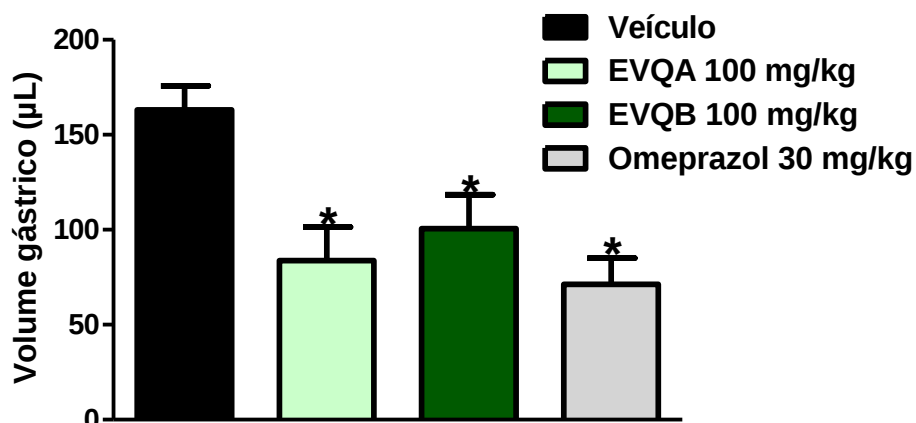


Animais foram pré-tratados, por via intraperitoneal, 30 min antes da administração da Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 100 mg/kg) e Capsaicina (0,3 mg/kg) com Capsazepina (5 mg/kg). Após 1 hora dos tratamentos, todos os grupos receberam etanol (0,2 mL/animal). Um grupo tratado com veículo (água destilada, 10 mL/kg) foi incluído no estudo. Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo, # $p < 0,05$ vs. respectivo grupo EVQA, EVQB ou capsaicina (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.2 Determinação de volume, acidez e pH gástrico em modelo de ligadura de piloro

Após 4 horas da ligação do piloro, os camundongos do grupo veículo apresentaram volume de secreção gástrica de $163,1 \pm 12,64 \mu\text{L}$, que foi reduzido em 48% ($83,75 \pm 17,72 \mu\text{L}$) e 38% ($100,6 \pm 17,74 \mu\text{L}$) após o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.) e EVQB (100 mg/kg, v.o.), respectivamente. Da mesma maneira, o pré-tratamento com omeprazol (30 mg/kg, v.o.) reduziu em 56% ($71,25 \pm 13,78 \mu\text{L}$) o volume da secreção gástrica em comparação com o grupo veículo ($163,1 \pm 12,64 \mu\text{L}$) (Figura 19).

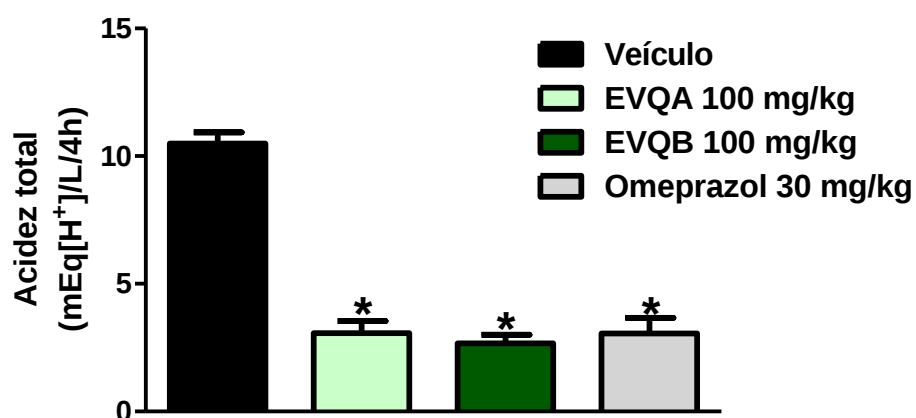
Figura 19 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre volume gástrico em camundongos.



Após a ligadura de piloro, os animais foram tratados, por via intraduodenal, com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB100 mg/kg) e Omeprazol (30 mg/kg). Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Após 4 horas da ligação do piloro, os camundongos do grupo veículo apresentaram acidez total da secreção gástrica de $10,49 \pm 0,43$ mEq[H⁺]/L/4h, que foi reduzida em 71% ($3,07 \pm 0,48$ mEq[H⁺]/L/4h) e 74% ($2,66 \pm 0,34$ mEq[H⁺]/L/4h) após o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.) e EVQB (100 mg/kg, v.o.), respectivamente. Do mesmo modo, o pré-tratamento com omeprazol (30 mg/kg, v.o.) reduziu em 71% ($3,06 \pm 0,62$ mEq[H⁺]/L/4h) a acidez total da secreção gástrica em comparação com o grupo veículo ($10,49 \pm 0,43$ mEq[H⁺]/L/4h) (Figura 20).

Figura 20 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre acidez total da secreção gástrica em camundongos.

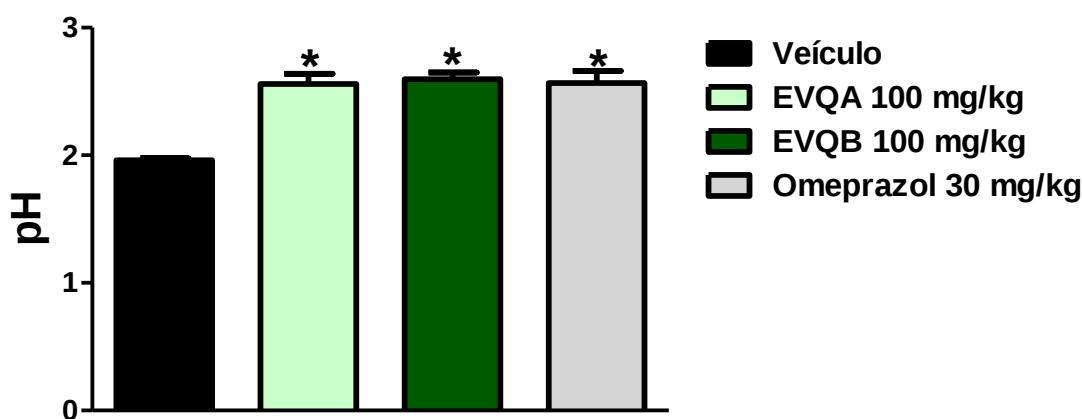


Após a ligadura de piloro, os animais foram tratados, por via intraduodenal, com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E.*

viscosa quimiotipo B (EVQB100 mg/kg) e Omeprazol (30 mg/kg). Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Após 4 horas da ligação do piloro, os camundongos do grupo veículo apresentaram pH da secreção gástrica de $1,96 \pm 0,02$, que foi aumentado em 30% ($2,56 \pm 0,08$) e 32 % ($2,6 \pm 0,05$) após o pré-tratamento com EVQA (100 mg/kg, v.o.) e EVQB (100 mg/kg, v.o.), respectivamente. De maneira semelhante, o pré-tratamento com omeprazol (30 mg/kg, v.o.) aumentou em 31% ($2,57 \pm 0,09$) o pH da secreção gástrica em comparação com o grupo veículo ($1,96 \pm 0,02$) (Figura 21).

Figura 21 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre pH gástrico em camundongos.



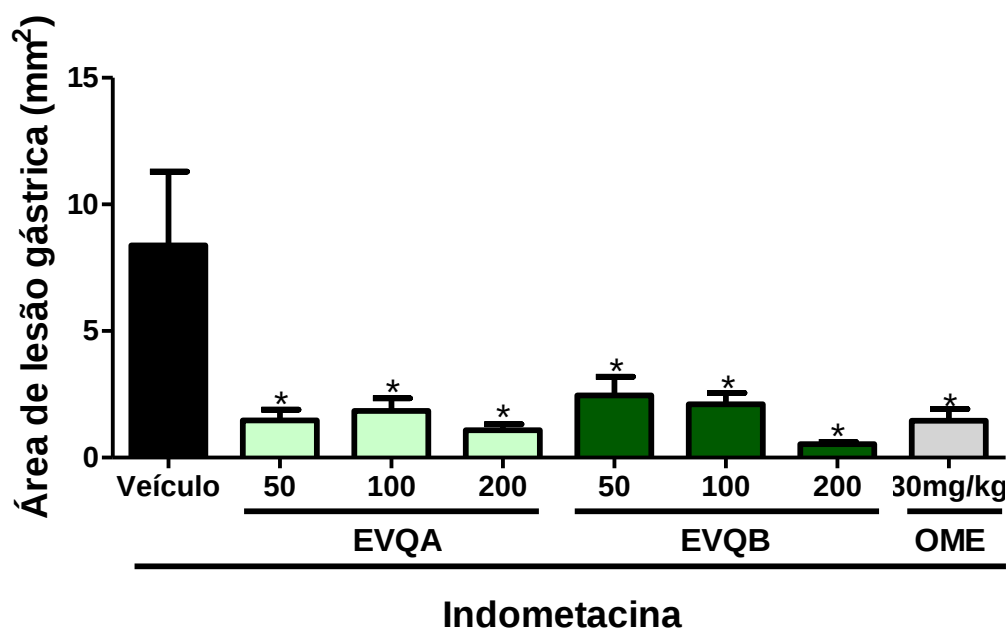
Após a ligadura de piloro, os animais foram tratados, por via intraduodenal, com veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 100 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB100 mg/kg) e Omeprazol (30 mg/kg). Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.3.3 Lesões gástricas induzidas por indometacina

A indometacina (30 mg/kg, v.o.) administrada aos camundongos do grupo veículo produziu uma área de lesão gástrica de $8,38 \pm 2,9 \text{ mm}^2$. Outrossim, os animais tratados com EVQA (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) apresentaram redução da área de lesão para $1,47 \pm 0,42$; $1,84 \pm 0,5$ e $1,08 \pm 0,24 \text{ mm}^2$, respectivamente, o que corresponde em 82, 78 e 87%, de redução, quando comparados com os animais do grupo veículo ($25,5 \pm 7,8 \text{ mm}^2$). Já os animais tratados com EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) apresentaram redução da área de lesão para $2,46 \pm 0,74$; $2,1 \pm 0,44$ e $0,52 \pm 0,09 \text{ mm}^2$, respectivamente, reduzindo

a lesão em 71, 75 e 94% quando comparados com o grupo veículo. De forma análoga, os animais tratados com omeprazol (OME) (30 mg/kg, v.o.) também apresentaram significativa redução da área de lesão em 83% ($1,45 \pm 0,46 \text{ mm}^2$), quando comparados com os animais do grupo veículo (Figura 22).

Figura 22 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.



Os animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração de Indometacina (30 mg/kg) com Veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 50, 100 e 200 mg/kg); Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 50, 100 e 200 mg/kg) e Omeprazol (OME 30 mg/kg). Resultados são expressos como média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

5.4 AVALIAÇÃO DA DIARREIA INDUZIDA POR ÓLEO DE CASTOR EM ANIMAIS TRATADOS COM AS INFUSÕES DE *Egletes viscosa*

Os camundongos do grupo veículo apresentaram escore 3 (2-3) no índice de diarreia induzida por óleo de Castor. Os animais que foram pré-tratados com EVQA nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) não apresentaram redução significativa no índice de diarreia com escores 3 (2-3), 3 (2-3) e 3 (2-3), respectivamente, quando comparados com o grupo veículo (3 (2-3)). Da mesma maneira, os animais pré-tratados com EVQB nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) não apresentaram melhora significativa no índice de diarreia com escores 3 (2-3), 2,5 (2-3) e 2,5 (2-3), respectivamente. Porém, o grupo pré-

tratado com loperamida (5 mg/kg) apresentou redução significativa no índice de diarreia com escore 0 (0-1) quando comparado com o grupo veículo (3 (2-3)) (Tabela 4).

Tabela 4 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.

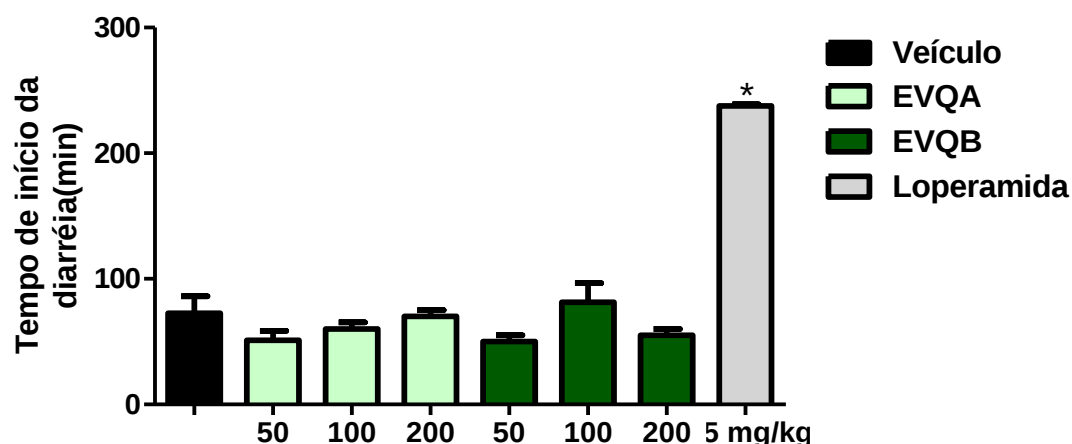
Grupos	Índice de diarreia (0-3)
Veículo	3 (2-3)
EVQA 50 mg/kg	3 (2-3)
EVQA 100 mg/kg	3 (2-3)
EVQA 200 mg/kg	3 (2-3)
EVQB 50 mg/kg	3 (2-3)
EVQB 100 mg/kg	2,5 (2-3)
EVQB 200 mg/kg	2,5 (2-3)
Loperamida 5 mg/kg	0 (0-1)*

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração de óleo de Castor (10 mL/kg) com Veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 50, 100 e 200 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 50, 100 e 200 mg/kg) e Loperamida (5 mg/kg). Resultados são expressos em mediana (mínima - máxima) para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (Kruskal-wallis, seguido do pós-teste de Dunns).

Os camundongos do grupo veículo apresentaram tempo de início da diarreia induzida por óleo de Castor de $72,5 \pm 13,6$ minutos. Os animais que foram pré-tratados com EVQA nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) não apresentaram diferença significativa no tempo de início da diarreia ($51 \pm 7,6$; $60 \pm 5,5$; e 70 ± 5 minutos, respectivamente) quando comparados com o grupo veículo. Da mesma forma, os animais pré-tratados com EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, (v.o.)) também não apresentaram diferença significativa no tempo de início da diarreia (50 ± 5 ; $81,4 \pm 15,3$; e 55 ± 5 minutos, respectivamente). Porém, o grupo pré-tratado com loperamida (5 mg/kg) apresentou aumento significativo no tempo de início da diarreia de $237,5 \pm 1,4$ minutos quando comparados com o grupo veículo ($72,5 \pm 13,6$ minutos) (Figura 23).

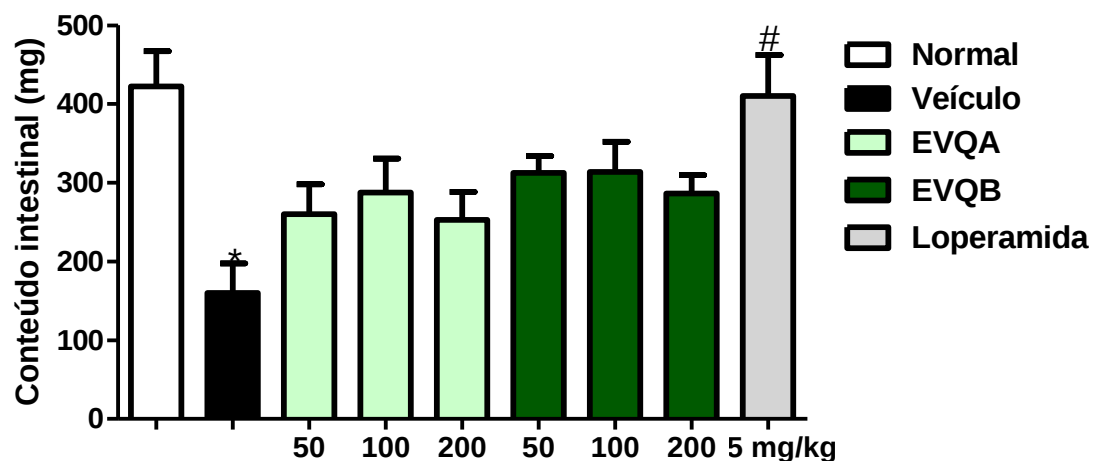
Figura 23 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre o tempo de início da diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.



Os animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração de óleo de Castor (10 mL/kg) com Veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 50, 100 e 200 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 50, 100 e 200 mg/kg) e Loperamida (5 mg/kg). Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

Os camundongos do grupo veículo submetidos a diarreia induzida por óleo de Castor apresentaram redução do conteúdo intestinal de 38% ($160,0 \pm 37,5$ mg) quando comparado com o grupo normal ($422,2 \pm 44,8$ mg). Os animais que foram pré-tratados com EVQA nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) não apresentaram diferença significativa no conteúdo intestinal ($260,2 \pm 38$; $287,4 \pm 43,4$; e $252,7 \pm 35,7$ mg, respectivamente) quando comparados com o grupo veículo ($160,0 \pm 37,5$ mg). Da mesma forma, os animais pré-tratados com EVQB (50, 100 e 200 mg/kg, (v.o.)) também não apresentaram diferença significativa no conteúdo intestinal ($312,4 \pm 21,7$; $313,8 \pm 38,2$; e $286,3 \pm 23,5$ mg, respectivamente). Já o grupo pré-tratado com loperamida (5 mg/kg) apresentou aumento significativo no conteúdo intestinal ($410,4 \pm 52$ mg) quando comparados com o grupo veículo ($160,0 \pm 37,5$ mg) (Figura 24).

Figura 24 - Efeito das infusões de *Egletes viscosa* sobre conteúdo intestinal na diarreia induzida por óleo de castor em camundongos.



Os animais foram pré-tratados, por via oral, 1 hora antes da administração de óleo de Castor (10 mL/kg) com Veículo (água destilada, 10 mL/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo A (EVQA 50, 100 e 200 mg/kg), Infusão de *E. viscosa* quimiotipo B (EVQB 50, 100 e 200 mg/kg) e Loperamida (5 mg/kg). Resultados são expressos em média $\pm$ E.P.M. para 8 animais/grupo. * $p < 0,05$ vs. grupo normal, # $p < 0,05$ vs grupo veículo (ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey).

6 DISCUSSÃO

As infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* são popularmente utilizadas para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, como gastrite, dispepsia, indigestão, cólicas intestinais e diarreia (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2007). Apesar da atividade gastroprotetora dos constituintes químicos isolados de *E. viscosa* já ser descrita na literatura, como a ternatina (GUEDES *et al.*, 2002; RAO *et al.*, 1997), a tanabalina (GUEDES *et al.*, 2002) e o ácido centipédico (GUEDES *et al.*, 2008), não há estudos que demonstrem a atividade gastroprotetora das infusões dos capítulos florais de *E. viscosa* dos quimiotipos A e B.

Os dados obtidos nesse estudo demonstraram o efeito gastroprotetor das infusões de *E. viscosa* dos quimiotipos A (EVQA) e B (EVQB) sobre os efeitos lesivos do etanol e da indometacina no tecido gástrico de camundongos. Além disso, foi identificado os seus constituintes químicos e investigado a toxicidade aguda, e a atividade antidiarreica de ambas as infusões.

A escolha das preparações e das doses utilizadas foram realizadas a partir de um projeto da Embrapa, onde fomos os responsáveis pela avaliação do efeito gastroprotetor de diferentes amostras de *E. viscosa*. As amostras de *E. viscosa* utilizadas foram: Ev024 (infusão de capítulos florais comerciais - Quimiotipo A), Ev034-1 (infusão de capítulos florais cultivados – Quimiotipo B), Ev017-01 (infusão dos capítulos florais de material silvestre (Aiuaba) - Quimiotipo B), Ev017-03 (tintura dos capítulos florais de material silvestre (Aiuaba) - Quimiotipo B), Ev047 (infusão das folhas cultivadas- Quimiotipo A) e Ev048 (infusão das folhas cultivadas - Quimiotipo B). As amostras apresentaram efeito gastroprotetor em doses que variavam de 50-400 mg/kg. Entretanto, as infusões feitas a partir dos capítulos florais (Ev024 e Ev034-1) foram as que exibiram maior efeito gastroprotetor em doses de 50, 100 e 200 mg/kg (Carvalho, 2021). Sendo assim, essas amostras foram escolhidas para a investigação do mecanismo de ação gastroprotetor, e neste estudo foram denominadas de EVQA e EVQB.

A distinção dos quimiotipos de *E. viscosa* é baseada na composição química do óleo essencial dos capítulos florais. O quimiotipo A contém acetato de *trans*-pinocarveil como constituinte majoritário, enquanto o quimiotipo B contém acetato de *cis*-isopinocarveil (LIMA *et al.*, 1996). Em outro estudo, NIR e ¹H NMR foram usados como métodos rápidos para diferenciar esses quimiotipos com base no óleo essencial dos capítulos florais (CARVALHO *et al.*, 2020).

Nesse estudo foi determinado a composição química das infusões por meio de análise CLUE-EMAR para identificar biomarcadores não voláteis intrínsecos a cada quimiotipo. No geral, as infusões dos dois quimiotipos mostraram impressões digitais químicas semelhantes. Vinte e quatro compostos químicos foram identificados: sete derivados de ácidos fenólicos (3-5, 8-11); três flavonóides (6, 7, 22); e 14 diterpenos, entre os quais 11 foram encontrados no quimiotipo A (14-17, 19, 23-28) e nove no quimiotipo B (16-18, 20, 21, 23-26). Os compostos lactona isociliolida, 7-hidroxi-3,13-clerodandieno-16,15:18,19-diolida, bacchariol e 12-hidroxi-3,13-clerodandieno-18,19:15,16-diolida são descritos para a primeira vez em *E. viscosa*, enquanto os compostos kerlinolida, 12-*epi*-bachotricuneatina, 12-hidroxi-3,13-clerodandieno-18,19:15,16-diolida, 15,16-epoxi-12-hidroxineocleroda-13(16),14-dieno-18,19-hemiaceta, 12-hidroxi-clerodandieno-18,19:15,16diolida e 8 α -hidroxilabda12(S)-O- β -D-ribopiranosideo foram isolados e identificados de algumas partes de *E. viscosa* em estudos anteriores (SILVA-FILHO *et al.*, 2007; SILVEIRA; PESSOA, 2005; VIEIRA *et al.*, 2006).

Além disso, de acordo com a análise quantitativa CLUE-QDa, o quimiotipo A possui maiores quantidades de ternatina, tanabalina e ácido centipédico do que o quimiotipo B. Esses resultados estão de acordo com os encontrados anteriormente através da análise de ^1H RMN do extrato metanólico dos capítulos florais (CARVALHO *et al.*, 2020). A análise química das infusões de EVQA e EVQB mostrou o mesmo perfil químico de acordo com a análise quantitativa CLUE-QDa. As principais classes de compostos químicos encontrados, como ácidos fenólicos, flavonóides e diterpenos possuem diversas atividades biológicas já descritas, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras e gastroprotetoras (ISLAM *et al.*, 2016; KIOKIAS; OREOPOULOU, 2021; PAZ *et al.*, 2019; SERAFIM *et al.*, 2020; ULLAH *et al.*, 2020).

No protocolo de toxicidade aguda, as infusões de *E. viscosa* administradas por via oral, na dose única de 2000 mg/kg, não foram capazes de promover morte, nem alteração no peso ou consumo de água e ração dos animais, por um período de até 14 dias depois da administração. Para mais, não foram observados nenhum sinal de toxicidade nos animais. Isso permitiu estabelecer uma faixa de segurança da dose experimental que foi utilizada com base nestes testes de toxicidade oral aguda.

Corroborando com esse achado, Araújo *et al.* (2008) relataram que a administração oral aguda de um extrato aquoso de *E. viscosa* na dose de 5 g/kg em camundongos não causou sinais de toxicidade ou mortalidade e nem alterações no peso corporal e

comportamento animal, bem como a arquitetura histológica dos órgãos internos estavam normais. Além do mais, a administração subcrônica na dose de 100 mg/kg por 30 dias também não mostrou sinais de toxicidade ou mortalidade e não provocou alterações na ingestão hídrica e alimentar em nenhum dos grupos, como também não alterou o ganho de peso.

A atividade gastroprotetora de EVQA e EVQB foi avaliada inicialmente em modelos de lesão gástrica induzida por etanol absoluto e posteriormente por anti-inflamatório não esteroide, indometacina. O etanol é uma das drogas de abuso de maior consumo mundial e com alta propensão à dependência. Além disso, o consumo de álcool é um fator causal para mais de 200 doenças e lesões (OPAS/OMS, 2020). A lesão gástrica induzida pelo etanol é multifatorial, incluindo solubilização do muco gástrico com depleção de mucina, alterações na microcirculação da mucosa gástrica com aumento da permeabilidade vascular, estase circulatória, hemorragia focal e infiltração de neutrófilos com produção de mediadores pró-inflamatórios e radicais livres, em todos os casos resultantes do estresse oxidativo (ARAB *et al.*, 2015; SZABO; GOLDBERG, 1990).

A administração de etanol absoluto produz alterações marcantes na mucosa e submucosa gástrica. O dano macroscópico é evidenciado por ulceração hemorrágica grave, enquanto o dano microscópico inclui perda significativa de células epiteliais, edema, dano hemorrágico, lesões necróticas profundas e presença abundante de células inflamatórias (SZABO; GOLDBERG, 1990). As infusões de *E. viscosa* foram capazes de proteger o tecido gástrico contra o etanol, reduzindo significativamente a erosão e a hemorragia na área da mucosa, e o edema e a infiltração de células inflamatórias, principalmente neutrófilos, na área da submucosa.

Essa atividade gastroprotetora pode ser atribuída ao efeito sinérgico dos compostos químicos presentes nas infusões. De fato, Rao e colaboradores (1997) evidenciaram o potencial gastroprotetor da ternatina, flavonoide isolado de *E. viscosa* Less. Os resultados demonstram que o pré-tratamento nos animais com o flavonóide (25 e 50 mg/kg) produz uma inibição significativa das lesões gástricas induzidas por etanol. Além do mais, Guedes *et al.* (2002) realizaram um estudo com os diterpenos isolados dos capítulos florais de *E. viscosa*, tanto a tanabalina quanto o ácido centipéico foram capazes de reduzir as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.

Em outro estudo, o ácido centipédico reduziu as lesões da mucosa gástrica induzidas por etanol em camundongos (GUEDES *et al.*, 2008). Além de que, esse efeito gastroprotetor também é condizente com o potencial descrito na literatura para ácido

clorogênico, ácido cafeico, ácido cafeoilquínico, rutina e kaempferol-3-*O*-ramnosídeo (KOLGAZI *et al.*, 2021; LA CASA *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2018; SHIMOYAMA *et al.*, 2013).

O pré-tratamento oral com EVQA e EVQB nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg reduziu o dano gástrico induzido por etanol com a mesma eficácia, mas não de maneira dose-dependente. Tendo isso como base, a dose de 100 mg/kg, uma dose intermediária, foi escolhida para realização dos protocolos que avaliaram os possíveis mecanismos de ação envolvidos no efeito gastroprotetor.

O muco aderido à superfície da mucosa gástrica é a primeira linha de defesa gástrica, atuando como suporte para neutralização do ácido, e como barreira física contra a pepsina luminal (GALURA *et al.*, 2019). A eficiência dessa barreira depende entre outros fatores da estrutura do gel do muco, que fornece a proteção estrutural por intermédio de uma camada estável, com tampões embutidos, para realizar a neutralização do ácido na superfície. A secreção de muco é estimulada por alguns fatores como secretina, gastrina, PGE2 e NO (YANDRAPU; SAROSIEK, 2015). As infusões de *E. viscosa* preveniram a depleção de muco induzida pelo etanol, esse resultado é reforçado pelos achados posteriores sobre o mecanismo de ação dependente de prostaglandinas (PGs) e óxido nítrico (NO).

As espécies reativas de oxigênio (EROs), como ânions superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e radicais hidroxila, estão envolvidos no desenvolvimento das lesões gástricas induzidas por etanol (SZELENYI; BRUNE, 1988). Uma das principais fontes de EROs na lesão gástrica induzida por etanol é a infiltração por neutrófilos ativados, que ao produzir $O_2^{\bullet-}$, reagem com os lipídios celulares, formando peróxidos lipídicos, que são parcialmente reestabilizados em malondialdeído (MDA) (ARAB *et al.*, 2015; KWIECIEŃ *et al.*, 2002).

A intensificação da produção de EROs resulta na peroxidação lipídica, causando um aumento nos níveis de MDA acompanhado por uma diminuição nas propriedades antioxidantes das células. As defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas desempenham papéis importantes na proteção da mucosa contra agentes nocivos. Superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) são as principais enzimas antioxidantes, na qual a SOD catalisa a dismutação de $O_2^{\bullet-}$ em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e água, e CAT reduz H_2O_2 em água e O_2 (FAKHRI; FARZAEI, 2022). Quando a expressão e atividade de SOD estão reduzidas, é comum observar agravamento dos danos teciduais e aumento da peroxidação lipídica (QIU *et al.*, 2020).

A glutathione, geralmente presente em sua forma reduzida, GSH, é um dos mais importantes antioxidantes não enzimáticos. Os níveis de GSH são mais elevados na mucosa gástrica, proporcionando proteção adicional à barreira antioxidante na mucosa. A GSH se liga a radicais livres e conferem proteção contra lesões induzidas por substâncias químicas, como o etanol. O dano da mucosa gástrica induzido pelo etanol está associado à redução de GSH e redução da atividade de SOD e CAT no tecido gástrico (BOEING *et al.*, 2021; CRISTIANS *et al.*, 2013; LOGUERCIO *et al.*, 1993; NAITO *et al.*, 1992).

No presente estudo, o tratamento dos camundongos com etanol reduziu significativamente a atividade de SOD e CAT, bem como os níveis de GSH, e aumentou significativamente os níveis de MDA. As infusões de *E. viscosa* aumentaram significativamente a atividade das enzimas SOD e CAT e preveniram a depleção de GSH, reduzindo os níveis de MDA, tendo assim ação antioxidante. Assim, pode-se inferir que as infusões de *E. viscosa* são ricas em compostos antioxidantes.

Do mesmo modo, Guedes *et al.* (2008) estudaram o mecanismo gastroprotetor do diterpeno, em lesões gástricas induzidas por etanol, e observaram que o ácido centipédico foi capaz de inibir a depleção de GSH e diminuir a peroxidação lipídica. Na literatura, é possível também encontrar relatos de atividade antioxidante do ácido clorogênico, ácido cafeico, ácidos cafeoilquínicos e rutina (KOLGAZI *et al.*, 2021; LA CASA *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2010; SHIMOYAMA *et al.*, 2013).

No protocolo de úlcera gástrica induzida por etanol, EVQA e EVQB foram capazes de aumentar os níveis de nitrito, um marcador de NO endógeno, no tecido gástrico. Grande parte do nitrato é obtido na alimentação e em seguida convertido em nitrito por bactérias presentes na mucosa (PANG *et al.*, 2020). Em casos de processos inflamatórios, isquemia e estresse oxidativo, o reservatório de nitrito é fundamental para assegurar o abastecimento de NO para diferentes regiões do corpo (VAN DALEN *et al.*, 2000; WALTZ *et al.*, 2015). O NO pode ser produzido na mucosa gástrica pela reação de redução em ambiente anóxico, por meio de enzimas redutases que convertem nitrato a nitrito (BJÖRNE *et al.*, 2004). Ambientes ácidos, como o estômago, favorecem a redução enzimática de nitrito a NO. A conversão de nitrito-NO é um importante mecanismo de defesa, uma vez que aumenta o fluxo sanguíneo, favorece a produção de muco e inibe a cadeia transportadora de elétrons reduzindo efetivamente a produção de EROs (MA *et al.*, 2018; SANCHES-LOPES *et al.*, 2020).

A enzima mieloperoxidase (MPO) é abundantemente expressa por neutrófilos e desempenha um papel fundamental na produção de EROs. Assim, pode atuar como um indicador de infiltração neutrofílica na mucosa gástrica lesada (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Neste estudo, a atividade da MPO na mucosa foi significativamente aumentada pela administração de etanol, reforçando o achado histológico sobre infiltração neutrofílica na mucosa gástrica deste grupo. Entretanto, o pré-tratamento com EVQA e EVQB reduziu significativamente a atividade de MPO, indicando assim sua capacidade de inibir a infiltração de neutrófilos no tecido gástrico lesionado. A atividade anti-inflamatória, incluindo redução da atividade da mieloperoxidase, já foi relatada para os constituintes químicos presentes nas infusões de *E. viscosa*. Calou *et al.* (2008) observaram que os diterpenos tanabalina e ácido centipédico foram capazes de diminuir a atividade de MPO e o infiltrado neutrofílico em modelo de dermatite crônica em orelhas de camundongos. Não só esses diterpenos, mas também o ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido cafeoilquínico, rutina e kaempferol-3-O-ramnosídeo, provavelmente, participaram dessa atividade de redução do infiltrado de células inflamatórias e da atividade da MPO no tecido gástrico (FIDELES *et al.*, 2020; KOLGAZI *et al.*, 2021; LIMA *et al.*, 2018; SHIMOYAMA *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2021).

As prostaglandinas, por sua vez, são conhecidas por atuarem fisiologicamente na regulação de fatores gastroprotetores como a produção de muco, secreção de bicarbonato, secreção de ácido, aumentando o fluxo sanguíneo da mucosa e acelerando a cicatrização da úlcera (TAKEUCHI; AMAGASE, 2018). O pré-tratamento com indometacina, um inibidor da ciclooxigenase, bloqueou completamente o efeito gastroprotetor de EVQA, EVQB e misoprostol. Dessa maneira, infere-se que as PGs participam do efeito gastroprotetor de ambas as infusões. Esses resultados reforçam os achados sobre a produção de muco gástrico, onde ambas as infusões foram capazes de manter a produção de muco gástrico na presença de etanol.

O efeito citoprotetor do NO se dá pela sua atividade vasodilatadora e consequente aumento do fluxo sanguíneo local, acelerando, dessa forma, a remoção dos metabólitos tóxicos e lesivos da mucosa, como a eliminação dos íons H⁺ por retrodifusão, além de estimular a secreção de muco e bicarbonato e inibir a adesão de leucócitos ao endotélio (ROCHA *et al.*, 2016; TEPPERMAN; SOPER, 1994). No presente trabalho, a gastroproteção induzida por L-arginina, EVQA e EVQB foi completamente revertida por L-NAME, um inibidor não seletivo de óxido nítrico sintase (NOS), sugerindo que o efeito gastroprotetor de ambas as infusões é mediado por NO. Condizente com este resultado,

EVQA e EVQB foram associadas a um aumento significativo dos níveis de nitrito gástrico, demonstrando assim a participação do NO no mecanismo de gastroproteção. Com efeito, o ácido cafeico e o ácido centipédico, dois constituintes presentes nas infusões, inibiram os danos da mucosa gástrica induzidos pelo etanol pela via do NO (GUEDES *et al.*, 2008; KOLGAZI *et al.*, 2021). Além disso, o ácido clorogênico e o ácido neoclorogênico diminuem a sinalização de iNOS na esteatohepatite alcoólica em camundongos (DOMITROVIĆ *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2017).

As prostaglandinas e o NO, pelo menos em parte, medeiam a gastroproteção ativando os canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) (PESKAR; EHRLICH; PESKAR, 2002; WALLACE; MILLER, 2000). A ativação dos canais K_{ATP} presentes no endotélio dos vasos sanguíneos do tecido gástrico, aumenta o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica, concomitantemente aumenta o suprimento de agentes gastroprotetores, como consequência essa vasodilatação protege a mucosa de agentes ulcerogênicos. O efluxo de íons potássio resultante da abertura dos canais K_{ATP} ativados, altera o potencial elétrico da membrana celular, isso reduz a entrada de cálcio através dos canais de cálcio dependentes de voltagem, resultando na vasodilatação (NILIUS; DROOGMANS, 2001). No presente estudo, a glibenclamida, um bloqueador dos canais K_{ATP} , inibiu parcialmente o efeito gastroprotetor de EVQA e totalmente de EVQB e do diazóxido, indicando um papel dos canais K_{ATP} no efeito gastroprotetor das infusões. Corroborando com este resultado, Guedes *et al.* (2008) observaram que o ácido centipédico, um dos constituintes dessas infusões, exibiram efeito gastroprotetor dependente da via dos canais K_{ATP} .

Como já dito, a regulação do fluxo sanguíneo é essencial para a defesa da mucosa gástrica. Outro fator que auxilia na regulação da microcirculação gástrica são as fibras aferentes sensíveis à capsaicina por meio da ativação do receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1), resultando em aumento do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica mediado pela liberação do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e aumento da produção de NO com consequente proteção da mucosa (WHITTLE; LOPEZ-BELMONTE; MONCADA, 1992). O pré-tratamento com o antagonista do receptor TRPV1, capsazepina, bloqueou completamente a gastroproteção de EVQA, de EVQB e da capsaicina, demonstrando assim a participação de fibras aferentes sensíveis à capsaicina na gastroproteção das infusões. Dentre os compostos bioativos encontrados em ambas as infusões, estudos demonstraram que o ácido fenólico, ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido 4,5-di-O-cafeoilquínico, além do diterpeno tanabalina, possuem a capacidade de interagir com os receptores TRPV1 (CHIAVAROLI *et al.*, 2022; BUZZI

et al., 2009; KIM *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2006). Para mais, o ácido centipédico demonstrou atividade gastroprotetora em lesões induzidas por etanol em camundongos pela via das fibras aferentes sensíveis à capsaicina (GUEDES *et al.*, 2008).

O ácido gástrico é secretado pela bomba de prótons (H^+/K^+ -ATPase) através das células parietais. A produção da secreção ácida acontece quando receptores acoplados as células parietais são ativados. Esses receptores podem ser estimulados por diferentes fatores, como fatores neuronais (acetilcolina), parácrinos (histamina), endócrinos (gastrina) e estimulação química pelas proteínas, glutamato, etanol e físicos pela distensão levando à ativação da $H^+ K^+$ -ATPase, que funciona como uma bomba de prótons ao secretar íons H^+ ao conteúdo gástrico (SCHUBERT, 2016; YAO; SMOLKA, 2019). A ligação do piloro estimula a produção de ácido gástrico por um reflexo vago-vagal envolvendo vias colinérgicas e histaminérgicas, resultando no acúmulo de ácido gástrico e pepsina no estômago (SHAY; SUN; GRUENSTEIN, 1954; VALLGREN *et al.*, 1983). As infusões de *E. viscosa* reduziram, após a ligadura do piloro, o volume de secreção gástrica e acidez total, além de aumentar o pH do conteúdo gástrico, efeito equivalente ao produzido pelo omeprazol, um conhecido inibidor da bomba de prótons. A atividade antissecretora das infusões de *E. viscosa* pode ser consistente com seus constituintes biologicamente ativos. Ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido cafeoilquínico, rutina e ácido centipédico são conhecidos por diminuir a secreção gástrica. Seu mecanismo de ação pode envolver uma via regulatória colinérgica ou histaminérgica, inibindo a via regulatória da secreção ácida e a bomba de prótons (BIONDO *et al.*, 2011; DUBEY *et al.*, 2013; GUEDES *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2010; QAZI *et al.*, 2022; RIAZ; KHAN; QAZI, 2020; RUBACH *et al.*, 2008; SHIMOYAMA *et al.*, 2013).

A úlcera gástrica é uma complicação bem conhecida do uso de AINEs, que atuam inibindo ou reduzindo a biossíntese de prostaglandinas por inibir as cicloxigenases (COX) e inibindo seus efeitos gastroprotetores. A indometacina é considerada o AINE mais conhecido por induzir úlcera gástrica experimental e tem sido documentado como tendo um maior potencial para causar lesão gástrica do que outros AINEs comumente usados (EL-ASHMAWY *et al.*, 2016; WOOLF; ROSE, 2020). A indometacina pode induzir lesão gástrica por diversos mecanismos, como o aumento da secreção ácida, inibição da síntese de prostaglandina E2 (PGE2), produção de radicais livres, redução dos níveis de óxido nítrico, redução da secreção de muco e bicarbonato e invasão de neutrófilos ativados, bem como a indução de apoptose nas células gástricas. Além disso, alguns

estudos demonstraram que os AINEs podem gerar lesão gástrica devido à produção de espécies reativas de oxigênio, que estão associadas à ativação do processo inflamatório em tecido gastrointestinal danificado (BASTAKI; WALLACE, 1999; WALLACE, 2008; SULEYMAN *et al.*, 2010; BINDU *et al.*, 2013; KATARY; SALAHUDDIN, 2017).

No presente trabalho, as infusões de *E. viscosa* apresentaram efeito gastroprotetor sobre lesões gástricas induzidas por indometacina, atividade observada também nos diterpeno ácido centipédico, presente nas infusões (GUEDES *et al.*, 2002). Além desse, o ácido clorogênico, outro constituinte das infusões de *E. viscosa*, apresentou efeito gastroprotetor contra úlcera gástrica induzida por indometacina em ratos, corroborando com esse achado (AHMED *et al.*, 2021).

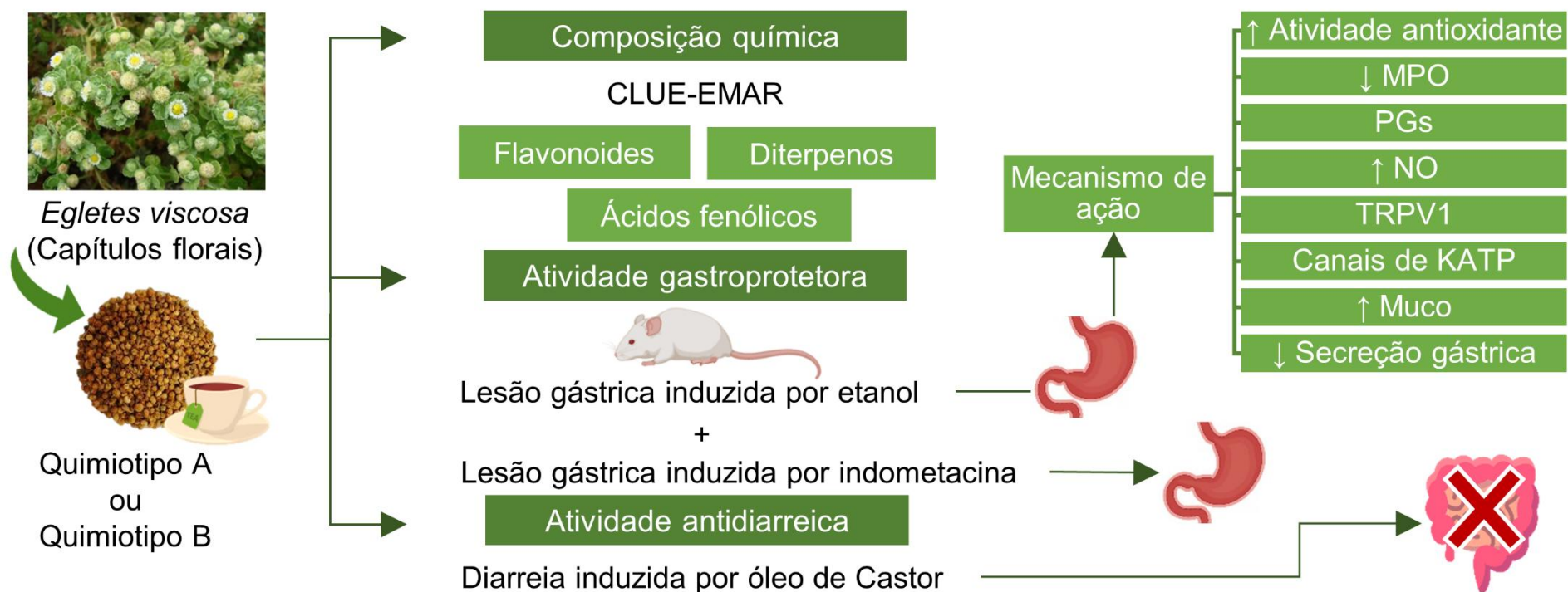
O ensaio com óleo de Castor foi utilizado para determinar o efeito antidiarreico das infusões de *E. viscosa*, amplamente empregado para a triagem de drogas com esta propriedade (MA *et al.*, 2022). Após administração oral de óleo de Castor, o mesmo catalisado por lipases intestinais em ácido ricinoleico. O ácido ricinoleico, por sua vez, causa lesões na barreira da mucosa intestinal e libera mediadores que, em seguida, alteram o transporte de fluidos e eletrólitos da mucosa, resultando em hipersecreção e diarreia. Além disso, o ácido ricinoleico aumenta a motilidade intestinal ao se ligar aos receptores de prostaglandina EP3 e estimular o reflexo nervoso (TUNARU *et al.*, 2012).

Nos experimentos foi observado que a administração de óleo de Castor em camundongos resultou em diarreia abundante. O pré-tratamento com EVQA e EVQB, nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, não foram capazes de inibir o efeito do óleo de Castor, não apresentando diferença significativa no índice de diarreia, no tempo de início e no conteúdo intestinal. Apesar do constituinte ternatina ser descrito como antidiarreico (RAO *et al.*, 1997), é possível que a dose que produz efeito antidiarreico (25 e 50 mg/kg) seja muito alta comparada aos teores desse flavonoide nas infusões nas doses utilizadas nesse estudo ou que tenha ocorrido um antagonismo com os compostos derivados de ácidos fenólicos, como o ácido clorogênico, ácido cafeico e ácido neoclorogênico, pois os mesmos estão associados a um efeito laxativo (PAGANOTTE *et al.*, 2016; NA *et al.*, 2021).

7 CONCLUSÃO

Portanto, os resultados validaram o efeito gastroprotetor das infusões de *Egletes viscosa* quimiotipo A e quimiotipo B em lesões gástricas induzidas por etanol e por indometacina, comprovando assim cientificamente o uso popular das infusões da espécie em distúrbios gástricos. Com esse estudo, foi possível discriminar os quimiotipos usando impressões digitais químicas CLUE-EMAR, onde ambos os quimiotipos apresentaram composições químicas semelhantes, consistindo basicamente de derivados de ácidos fenólicos, flavonoides e diterpenos. O mecanismo gastroprotetor nas lesões induzidas por etanol, de ambas as infusões, é multifatorial, envolvendo um efeito antioxidante, estimulação de prostaglandinas endógenas, liberação de óxido nítrico e ativação de fibras aferentes sensíveis à capsaicina e canais de K^+_{ATP} , acompanhado por um aumento na microcirculação, manutenção do muco e redução da secreção ácida gástrica. Além disso, as infusões não apresentaram indícios de toxicidade aguda, reforçando a segurança para o uso tradicional. Para mais, as infusões não apresentaram atividade antidiarreica em modelo de indução de diarreia por óleo de Castor (Figura 25).

Figura 25- Resumo gráfico.



Fonte: Próprio autor.

REFERÊNCIAS

- ABERA, B. Medicinal plants used in traditional medicine by Oromo people, Ghimbi District, Southwest Ethiopia. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 10, n. 1, p. 1-15, 2014.
- ADENIYI, O. S.; OMALE, J.; OMEJE, S. C.; EDINO, V. O. Antidiarrheal activity of hexane extract of *Citrus limon* peel in an experimental animal model. **Journal of integrative medicine**, v. 15, n. 2, p. 158-164, 2017.
- ADRIAENSSENS, A.; LAM, B. Y. H.; BILLING, L.; SKEFFINGTON, K.; SEWING, S.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. A transcriptome-led exploration of molecular mechanisms regulating somatostatin-producing D-cells in the gastric epithelium. **Endocrinology**, v. 156, n. 11, p. 3924-3936, 2015.
- AGAR, E.; BOSNAK, M.; AMANVERMEZ, R.; DEMIR, S.; AYYILDIZ, M.; CELIK, C. The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat. **Neuroreport**, v. 10, p. 1799-1801, 1999.
- AGUILERA-CASTRO, L.; MARTÍN-DE-ARGILA-DEPRADOS, C.; ALBILLOS-MARTÍNEZ, A. Practical considerations in the management of proton-pump inhibitors. **Rev Esp Enferm Dig**, v. 108, n. 3, p. 145-53, 2016.
- AHMAD, A. A.; KASIM, K. F.; MA'RADZI, A. H.; GOPINATH, S. C. Peptic ulcer: Current prospects of diagnostic and nanobiotechnological trends on pathogenicity. **Process Biochemistry**, n. June, p. 0-1, 2019.
- AHMED, M. A.; MOHANAD, M.; AHMED, A. A.; ABOULHODA, B. E.; EL-AWDAN, S. A. Mechanistic insights into the protective effects of chlorogenic acid against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Modulation of the cross talk between autophagy and apoptosis signaling. **Life Sciences**, v. 275, p. 119370, 2021.
- AIHARA, E.; MATTHIS, A. L.; KARNS, R. A.; ENGEVIK, K. A.; JIANG, P.; WANG, J.; YACYSHYN, B. R.; MONTROSE, M. H. Epithelial regeneration after gastric ulceration causes prolonged cell-type alterations. **Cellular and molecular gastroenterology and hepatology**, v. 2, n. 5, p. 625-647, 2016.
- AKAIKE, S.; SUMINO, M.; SEKINE, T.; SEO, S.; KIMURA, N.; IKEGAMI, F. A new ent-clerodane diterpene from the aerial parts of *Baccharis gaudichaudiana*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 51, n. 2, p. 197-199, 2003.
- AKEL, T.; BEKHEIT, S. Loperamide cardiotoxicity: "a brief review". **Annals of Noninvasive Electrocardiology**, v. 23, n. 2, p. e12505, 2018.
- ALI, R.; SAJJAD, N.; HASSAN, S.; GANIE, S. A.; HAMID, R. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers. **J. Appl. Sci. Comput.**, v. 5, p. 104-115, 2018.

AL-SAYED, E.; EL-NAGA, R. N. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. **Phytomedicine**, v. 22, p. 5–15, 2015.

ALTUNDAG, E.; OZTURK, M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. **Procedia-Social and Behavioral Sciences**, v. 19, p. 756-777, 2011.

AMIRSHAHROKHI, K.; KHALILI, A. R. Gastroprotective effect of 2-mercaptoethane sulfonate against acute gastric mucosal damage induced by ethanol. **International Immunopharmacology**, v. 34, p. 183–188, 2016.

AQUINO, P. E. A.; PEREIRA, N. L. F.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, S. S.; LEANDRO, L. M. G.; SOUZA, J. C. C. O.; OLIVEIRA, C. D. M.; SANTANA, J. K. L.; TORRES, C. M. G.; SILVA, M. R.; COUTINHO, H. D. M.; MATIAS, E. F. F. The association between drugs and herbal products: In vitro enhancement of the antibiotic activity by extracts of dry floral buttons of *Egletes viscosa* L.(macela). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 7, n. 3, p. 258-262, 2015.

ARAB, H. H.; SALAMA, S. A.; OMAR, H. A.; ARAFA, E. S. A.; MAGHRABI, I. A. Diosmin protects against ethanol-induced gastric injury in rats: novel anti-ulcer actions. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0122417, 2015.

ARAÚJO, A. A. S.; BONJARDIM, L. R.; MOTA, É. M.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ESTEVAM, C. D. S.; CORDEIRO, L.; SEIXAS, S. R. S.; BATISTA, J. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive activity and toxicological study of aqueous extract of *Egletes viscosa* Less (Asteraceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 707-715, 2008.

ARAÚJO, T. S.; COSTA, D. S.; SOUSA, N. A.; SOUZA, L. K.; DE ARAÚJO, S.; OLIVEIRA, A. P.; MEDEIROS, J. V. R. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 174, p. 299-307, 2015.

ASHAFA, A. O. T.; SUNMONU, T. O.; ABASS, A. A.; OGHE, A. A. Laxative potential of the ethanolic leaf extract of *Aloe vera* (L.) Burm. f. in wistar rats with loperamide-induced constipation. **Journal of Natural Pharmaceuticals**, v.2, p.158-162, 2011.

AWOUTERS, F.; MEGENS, A.; VERLINDEN, M.; SCHUURKES, J.; NIEMEGEREERS, C.; JANSSEN, P. A. Loperamide. **Digestive diseases and sciences**, v. 38, n. 6, p. 977-995, 1993.

BAHMANI, M.; ZARGARAN, A.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Identification of medicinal plants of Urmia for treatment of gastrointestinal disorders. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 468-480, 2014.

BANDEIRA, M.A.M. **Myracrodruon urundeuva allemao (aroeira do sertão; constituintes químicos ativos da planta em desenvolvimento e adulta)**. 2002. 180 f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

- BARBUT, F.; MEYNARD, J. L. Managing antibiotic associated diarrhoea: Probiotics may help in prevention. **Bmj**, v. 324, n. 7350, p. 1345-1346, 2002.
- BARKUN, A.; LOVE, J.; GOULD, M.; PLUTA, H.; STEINHART, A. H. Bile acid malabsorption in chronic diarrhea: pathophysiology and treatment. **Canadian journal of gastroenterology**, v. 27, n. 11, p. 653-659, 2013.
- BARRETT, K. E. Anatomia funcional do trato gastrintestinal e dos órgãos que drenam nele. In: **Fisiologia Gastrintestinal**. 2. ed. Porto Alegre: AMGR, 2015. p. 336.
- BASTAKI, S.; WALLACE, J. L. Pathogenesis of nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy: clues to preventative therapy. **Canadian Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 2, p. 123-127, 1999.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BECK, K.; FRIEBE, A.; VOUSSEN, B. Nitrgenic signaling via interstitial cells of Cajal and smooth muscle cells influences circular smooth muscle contractility in murine colon. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 30, n. 6, p. e13300, 2018.
- BEERS, R. F; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 195, p. 133-140, 1952.
- BERTLEFF, M. J.; LANGE, J. F. Perforated peptic ulcer disease: a review of history and treatment. **Digestive surgery**, v. 27, n. 3, p. 161-169, 2010.
- BETESH, A. L.; ANA, C. A. S.; COLE, J. A.; FORDTRAN, J. S. Is achlorhydria a cause of iron deficiency anemia?. **The American journal of clinical nutrition**, v. 102, n. 1, p. 9-19, 2015.
- BHATTACHARYYA, A.; CHATTOPADHYAY, R.; MITRA, S.; CROWE, S. E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological reviews**, v. 94, n. 2, p. 329-354, 2014.
- BIANO, L. S.; OLIVEIRA, A. S.; PALMEIRA, D. N.; SILVA, L. A.; DE ALBUQUERQUE-JUNIOR, R. L.; DUARTE, M. C.; CORREA, C. B.; GRESPAN, R.; BATISTA, J. S.; CAMARGO, E. A. Gastroprotective action of the ethanol extract of *Leonurus sibiricus* L.(Lamiaceae) in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 284, p. 114792, 2022.
- BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Regulação e modulação da secreção gástrica. **Revista de Ciências Médicas**, v. 11, n. 1, 2012.
- BINDU, S.; MAZUMDER, S.; DEY, S.; PAL, C.; GOYAL, M.; ALAM, A.; IQBAL, M. S.; SARKAR, S.; SIDDIQUI, A. A.; BANERJEE, C.; BANDYOPADHYAY, U. Nonsteroidal anti-inflammatory drug induces proinflammatory damage in gastric mucosa through NF- κ B activation and neutrophil infiltration: Anti-inflammatory role of

heme oxygenase-1 against nonsteroidal anti-inflammatory drug. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, p. 456-467, 2013.

BIONDO, T. M. A.; TANAE, M. M.; DELLA COLETTA, E.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: Analysis of underlying mechanisms. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, n. 2, p. 368-373, 2011.

BJÖRNE, H.; PETERSSON, J.; PHILLIPSON, M.; WEITZBERG, E.; HOLM, L.; LUNDBERG, J. O. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness. **The Journal of clinical investigation**, v. 113, n. 1, p. 106-114, 2004.

BLACK, C. J.; DROSSMAN, D. A.; TALLEY, N. J.; RUDDY, J.; FORD, A. C. Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management. **The Lancet**, v. 396, n. 10263, p. 1664-1674, 2020.

BOEING, T.; MEJIA, J. A. A.; CCANA-CCAPATINTA, G. V.; MARIOTT, M.; SOUZA, P.; MARIANO, L. N. B.; BASTOS, J. K. The gastroprotective effect of red propolis extract from Northeastern Brazil and the role of its isolated compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, p. 113623, 2021.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, p. 206-209, 1982.

BRAGA, L. L. B. C.; ROCHA, G. A.; ROCHA, A. M. C.; QUEIROZ, D. M. M.; MAGALHÃES, D. M. Fundamentos da Fisiopatologia da Úlcera Péptica e do Câncer Gástrico. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. São Paulo: Blucher, p. 731-750, 2016.

BRANDT, K. G.; ANTUNES, M. M. C.; DA SILVA, G. A. P. Acute diarrhea: evidence-based management. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 6, p. S36-S43, nov. 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças diarreicas agudas (DDA): Situação epidemiológica**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dda/situacao-epidemiologica>. Acesso em: 18 mar. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS) de março de 2016 a outubro de 2021**, 2022. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acesso em: 22 nov. 2022.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, p. 229-239, 2010.

BREVIGLIERI, E.; Da SILVA, L. M.; BOEING, T.; SOMENSI, L.B.; CURY, B.J.; GIMENEZ, A.; CECHINEL FILHO, V.; De ANDRADE, S.F. Gastroprotective and anti-secretory mechanisms of 2-phenylquinoline, an alkaloid isolated from *Galipea longiflora*. **Phytomedicine**, v. 25, p. 61-70, 2017.

BROWNING, K N.; TRAVAGLI, R. A. Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. **Comprehensive physiology**, v. 4, n. 4, p. 1339, 2014.

BRUNE, K.; PATRIGNANI, P. New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Journal of pain research**, v. 8, p. 105, 2015.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. In: **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. p. 1819-1819, 2006.

BUZZI, F. C.; FRANZOI, C. L.; ANTONINI, G.; FRACASSO, M.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; NIERO, R. Antinociceptive properties of caffeic acid derivatives in mice. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4596-4602, 2009.

CALOU, I. B. F.; SOUSA, D. I. M.; CUNHA, G. M. A.; BRITO, G. A. C.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Topically applied diterpenoids from *Egletes viscosa* (Asteraceae) attenuate the dermal inflammation in mouse ear induced by tetradecanoylphorbol 13-acetate-and oxazolone. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 8, p. 1511-1516, 2008.

CAMILLERI, M.; SELLIN, J. H.; BARRETT, K. E. Pathophysiology, Evaluation, and Management of Chronic Watery Diarrhea. **Gastroenterology**, v. 152, n. 3, p. 515-532.e2, fev. 2017.

CAMPBELL, I. Gut motility and its control. **Anaesthesia & Intensive Care. Medicine**, v. 16 (1), p. 40-42, 2014.

CARVALHO, K. R. **Estudo metabolômico e atividade gastroprotetora de macela-da-terra (*Egletes viscosa* L.-Asteraceae)**. 2021. 293 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

CARVALHO, K. R.; SOUZA, A. S. Q.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; SILVA, E. O.; CÁSSIA, A. P. R.; ZOCOLO, G. J.; de BRITO, E. S.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M. NIR and ¹H qNMR methods coupled to chemometrics discriminate the chemotypes of the gastroprotective herb *Egletes viscosa*. **Food Research International**, v. 138, p. 109759, 2020.

CARVALHO, K. R.; ZOCOLO, G. J.; PEREIRA, R. D. C. A.; MARTINS, F. I. C. C.; RIBEIRO, P. R. V.; de BRITO, E. S.; SILVEIRA, E. R.; CANUTO, K. M. Development of a UPLC-ESI-MS method for simultaneous determination of flavonoids and diterpenes in *Egletes viscosa* (L.) Less herbal products. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 166, p. 155-163, 2019.

CHEN, T.; CHENG, H.; YEH, C. Epidemiology changes in peptic ulcer diseases 18 years apart explored from the genetic aspects of *Helicobacter pylori*. **Translational Research**, v. 232, p. 115-120, 2021.

CHEN, Y.; DING, Z.; WU, Y.; CHEN, Q.; LIU, M.; YU, H.; WANG, T. Effects of *Allium mongolicum* Regel and its flavonoids on constipation. **Biomolecules**, v. 10, n. 1, p. 14, 2019.

CHENG, L. K.; O'GRADY, G.; DU, P.; EGBUJI, J. U.; WINDSOR, J. A.; PULLAN, A. J. Gastrointestinal system. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 65-79, 2010.

CHIAVAROLI, A.; di SIMONE, S. C.; ACQUAVIVA, A.; LIBERO, M. L.; CAMPANA, C.; RECINELLA, L.; LEONE, S.; BRUNETTI, L.; ORLANDO, G.; NILOFAR, N.; VITALE, I.; CESA, S.; ZENGİN, G.; MENGHINI, L.; FERRANTE, C. Protective Effects of PollenAid Plus Soft Gel Capsules' Hydroalcoholic Extract in Isolated Prostates and Ovaries Exposed to Lipopolysaccharide. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6279, 2022.

CHOI, J. S.; KIM, J. W.; CHO, H. R.; KIM, K. Y.; LEE, J. K.; SOHN, J. H.; KU, S. K. Laxative effects of fermented rice extract in rats with loperamide-induced constipation. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 8, n. 6, p. 1847-1854, 2014.

CIFTCI, F.; ERÖZGEN, F. Patients With Perforated Peptic Ulcers: Risk Factors for Morbidity and Mortality. **International Surgery**, v. 103, n. 11-12, p. 578-584, 2018.

CLIFFORD, M. N.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS n. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3821-3832, 2005.

CORNE, S. J.; MORRISSEY, S. M. W. R. Proceedings: a method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **The Journal of Physiology**, v. 242, p. 116P– 117, 1974.

CRISTIANS, S.; BYE, R.; NAVARRETE, A.; MATA, R. Gastroprotective effect of *Hintonia latiflora* and *Hintonia standleyana* aqueous extracts and compounds. **Journal of ethnopharmacology**, v. 145, n. 2, p. 530-535, 2013.

CUNHA, A. N. **Aspectos químicos do estudo interdisciplinar (químico, farmacológico, botânico e agrônomo) de *Egletes viscosa* Less.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, 2003.

DADONAITE, B.; RITCHIE, H.; ROSER, M. Diarrheal diseases. **Our World in Data**, 2018.

DANTAS, R. O. Diarréia e constipação intestinal. **Semiology symptoms**. 37:262- 266, 2004.

De FONESKA, A.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 26, p. 604-610, 2010.

DEANE, A. M.; CHAPMAN, M. J.; REINTAM BLASER, A.; MCCLAVE, S. A.; EMMANUEL, A. Pathophysiology and treatment of gastrointestinal motility disorders in the acutely ill. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 34, n. 1, p. 23-36, 2019.

DERIN, N.; AGAC, A.; BAYRAM, Z.; ASAR M.; IZGUT-UYSAL, V. N. Effects of L-carnitine on neutrophil-mediated ischemia–reperfusion injury in rat stomach. **Cell Biochemistry and Function**, v. 24, p. 437–442, 2006.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F.; AUTORE, G. Effects of quercetin on the gastrointestinal tract in rats and mice. **Phytotherapy research**, v. 8, n. 1, p. 42-45, 1994.

DIMIDI, E.; CHRISTODOULIDES, S.; SCOTT, S. M.; WHELAN, K. Mechanisms of action of probiotics and the gastrointestinal microbiota on gut motility and constipation. **Advances in nutrition**, v. 8, n. 3, p. 484-494, 2017.

DOMITROVIĆ, R.; JAKOVAC, H.; MARCHESI, V. V.; VLADIMIR-KNEŽEVIĆ, S.; CVIJANOVIĆ, O.; TADIĆ, Ž.; ROMIĆ, Ž.; RAHELIĆ, D. Differential hepatoprotective mechanisms of rutin and quercetin in CCl₄-intoxicated BALB/cN mice. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, n. 10, p. 1260-1270, 2012.

DUBEY, S.; GANESHPURKAR, A.; SHRIVASTAVA, A.; BANSAL, D.; DUBEY, N. Rutin exerts antiulcer effect by inhibiting the gastric proton pump. **Indian journal of pharmacology**, v. 45, n. 4, p. 415, 2013.

DUDINK, J.; MEARIN, L. M.; SUKHAI, R. N. Ileus after the use of loperamide in a child with acute diarrhea. **Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde**, v. 147, n. 14, p. 670-672, 2003.

DUMIC, I.; NORDIN, T.; JECMENICA, M.; STOJKOVIC LALOSEVIC, M.; MILOSAVLJEVIC, T.; MILOVANOVIC, T. Gastrointestinal tract disorders in older age. **Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 2019, 2019.

DUPONT, H. L. Persistent diarrhea: a clinical review. **Jama**, v. 315, n. 24, p. 2712-2723, 2016.

ECKL, P. M.; BRESGEN, N. Genotoxicity of lipid oxidation compounds. **Free radical biology and medicine**, v. 111, p. 244-252, 2017.

EGEROD, K. L.; ENGELSTOFT, M. S.; LUND, M. L.; GRUNDDAL, K. V.; ZHAO, M.; BARIR-JENSEN, D.; Nygaard, E. B.; Petersen, N.; Holst, J. J.; Schwartz, T. W. Transcriptional and functional characterization of the G protein-coupled receptor repertoire of gastric somatostatin cells. **Endocrinology**, v. 156, n. 11, p. 3909-3923, 2015.

EL-ASHMAWY, N.E.; KHEDR, E. G.; EL-BAHRAWY, H. A.; SELIM, H.M. Nebivolol prevents indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **Journal of Immunotoxicology**, v. 13, n. 4, p. 580-589, 2016.

ELSEWEIDY, M. M. Brief review on the causes, diagnosis and therapeutic treatment of gastritis disease. **Alternative and Integrative Medicine**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2017.

ENGELS, C.; GRÄTER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M.; GÄNZLE, M. G.; SCHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 557-562, 2012.

ENGEVIK, A. C.; KAJI, I.; GOLDENRING, J. R. The physiology of the gastric parietal cell. **Physiological reviews**, v. 100, n. 2, p. 573-602, 2020.

FAKHRI, S.; FARZAEI, M. H. Antioxidants effects in health: The bright and the dark sides. In: **Antioxidants Effects in Health**. Elsevier, 2022. p. 819-836.

FARZAEI, M. H.; SHAMS-ARDEKANI, M. R.; ABBASABADI, Z.; RAHIMI, R. Avaliação científica de frutas comestíveis e especiarias usadas para o tratamento de úlcera péptica na medicina tradicional iraniana. **Avisos de Pesquisa Acadêmica Internacional**, v. 2013, 2013.

FIDELES, L. S.; DE MIRANDA, J. A. L.; MARTINS, C. S.; BARBOSA, M. L. L.; PIMENTA, H. B.; PIMENTEL, P. V. S.; TEIXEIRA, C. S.; SCAFURI, M. A. S.; FAÇANHA, S. O.; BARRETO, J. E. F.; CARVALHO, P. M. M.; SCAFURI, A. G.; ARAÚJO, J. L.; ROCHA, J. A.; VIEIRA, I. G. P.; RICARDO, N. M. P. S.; CAMPELO, M. S.; RIBEIRO, M. E. N. P.; BRITO, G. A. C.; CERQUEIRA, G. S. Role of rutin in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: prevention of histological damage and reduction of inflammation and oxidative stress. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2786, 2020.

FLOHÉ, L.; TOPPO, S.; ORIAN, L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 187, p. 113-122, 2022.

FORMIGA, R. O.; QUIRINO, Z. G. M.; DINIZ, M. D. F. F. M.; MARINHO, A. F.; TAVARES, J. F.; BATISTA, L. M. Maytenus erythroxyton Reissek (Celastraceae) ethanol extract presents antidiarrheal activity via antimotility and antisecretory mechanisms. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 24, p. 4381, 2017.

FREITAS, É. L.; RIBEIRO A. Q.; MAGALHAES, S. M. S.; MOURA, C. S. PERFIL DE UTILIZAÇÃO DE ANTIÁCIDOS POR USUÁRIOS DA FARMÁCIA UNIVERSITÁRIA DA UFMG, BELO HORIZONTE (MG). **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 18, n. 9/10, p. 36-40, 2013.

FRIDOVICH, I. Radicais superóxidos e superóxidos dismutases. **Revisão anual de bioquímica**, v. 64, n. 1, p. 97-112, 1995.

FURNESS, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, 9(5), 286-294, 2012.

FURNESS, J. B.; STEBBING, M. J. The first brain: Species comparisons and evolutionary implications for the enteric and central nervous systems. **Neurogastroenterology & motility**, v. 30, n. 2, p. e13234, 2018.

GALLIGAN, J. J.; STERNINI, C. Insights into the role of opioid receptors in the GI tract: experimental evidence and therapeutic relevance. **Gastrointestinal Pharmacology**, p. 363-378, 2016.

GALURA, G. M.; CHAVEZ, L. O.; ROBLES, A.; MCCALLUM, R. Gastroduodenal injury: Role of protective factors. **Current gastroenterology reports**, v. 21, n. 8, p. 1-7, 2019.

GALVÃO, W. R. A.; BRAZ FILHO, R.; CANUTO, K. M.; RIBEIRO, P. R. V., CAMPOS, A. R., MOREIRA, A. C. O. M., SILVA, S. O.; MESQUITA FILHO, F. A.; SANTOS, S. A. A. R.; MELO JUNIOR, J. M. A.; GONÇALVES, N. G. G.; FONSECA, S. G. C.; BANDEIRA, M. A. M. Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão-A conservationist proposal for the species. **Journal of ethnopharmacology**, v. 222, p. 177-189, 2018.

GASCHLER, M. I. M.; STOCKWELL, Brent R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 482, n. 3, p. 419-425, 2017.

GOIS, M. A. F.; LUCAS, F. C. A.; COSTA, J. C. M.; MOURA, P. D.; LOBATO, G. Etnobotânica de espécies vegetais medicinais no tratamento de transtornos do sistema gastrointestinal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 547-557, 2016.

GOUVEIA, M. A. C.; LINS, M. T. C.; SILVA, G. A. P. Acute diarrhea with blood: diagnosis and drug treatment. **Jornal de Pediatria**, v. 96, p. 20-28, 2020.

GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 10, p. 131-138, 1982.

GRIFFIN, M. R.; SCHEIMAN, J. M. Prospects for changing the burden of nonsteroidal anti-inflammatory drug toxicity. **The American journal of medicine**, v. 110, p. S33-S37, 2001.

GUEDES, M. M.; CARVALHO, A. C. S.; LIMA, A. F.; LIRA, S. R. S.; de QUEIROZ, S. S.; SILVEIRA, E. R.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective Mechanisms of Centipedic Acid, a Natural Diterpene from *Egletes viscosa* LESS. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 7, p. 1351-1355, 2008.

GUEDES, M. M.; CUNHA, A. N.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Antinociceptive and gastroprotective effects of diterpenes from the flower buds of *Egletes viscosa*. **Planta medica**, v. 68, n. 11, p. 1044-1046, 2002.

GUIMARÃES, L. L.; VENTURA, A. L.; CAPELLARI, L. R.; DE SOUZA, V. V.; TOMA, W. Análise fitoquímica de plantas medicinais indicadas popularmente na forma de garrafadas para o tratamento da úlcera gástrica. **Unisanta Health Science**, v. 1, n. 1, p. 88-97, 2017.

GUNNARSDOTTIR, A. K.; JOHANNSSON, M.; HARALDSSON, M.; BJARNADOTTIR, G. D. Loperamide abuse-constipation or heart attack?. **Laeknabladid**, v. 104, n. 12, p. 543-548, 2018.

HAGA, T. Molecular properties of muscarinic acetylcholine receptors. **Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Science**, v. 89, n. 6, p. 226–256, 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, USA, 2015.

HAN, J.; LEE, S.H; GIEBISCH, G.; WANG, T. Potassium Channelopathies and Gastrointestinal Ulceration. **Gut and Liver**, v. 10, n. 6, p. 881-889, 2016.

HEMPEL, S.; NEWBERRY, S. J.; MAHER, A. R.; WANG, Z.; MILES, J. N.; SHANMAN, R.; SHEKELLE, P. G. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, v. 307, n. 18, p. 1959-1969, 2012.

HSU, M.; SAFADI, A. O.; LUI, F. Physiology, Stomach. **StatPearls [Internet]**, 2020.

HUNT, R. H.; CAMILLERI, M.; CROWE, S. E.; EL-OMAR, E. M.; FOX, J. G.; KUIPERS, E. J.; MALFERTHEINER, P.; MCCOLL, K. E. L.; PRITCHARD, D. M.; RUGGE, M.; SONNENBERG, A.; SUGANO, K.; TACK, J. The stomach in health and disease. **Gut**, v. 64, n. 10, p. 1650-1668, 2015.

ISLAM, M. N.; RAUF, A.; FAHAD, F. I.; EMRAN, T. B.; MITRA, S.; OLATUNDE, A.; MUBARAK, M. S. Superoxide dismutase: an updated review on its health benefits and industrial applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-19, 2021.

ISLAM, M. T.; da MATA, A. M. O. F.; de AGUIAR, R. P. S.; PAZ, M. F. C. J.; de ALENCAR, M. V. O. B.; FERREIRA, P. M. P.; MELO-CAVALCANTE, A. A. C. Therapeutic potential of essential oils focusing on diterpenes. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 9, p. 1420-1444, 2016.

JAIN, K. S.; SHAH, A. K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S. M.; KALE, A. P.; JAGTAP, J. R.; BHOSALE, A. V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 1181-1205, 2007.

JALILZADEH-AMIN, G.; MAHAM, M. Antidiarrheal activity and acute oral toxicity of *Mentha longifolia* L. essential oil. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 2, p. 128, 2015.

JAMISON, D. T.; BREMAN, J. G.; MEASHAM, A. R.; ALLEYNE, G.; CLAESON, M.; EVANS, D. B.; MUSGROVE, P. (Ed.). Disease control priorities in developing countries. **New York: Oxford University Press**. 2006.

JANUÁRIO, A. H.; SANTOS, S. L.; MARCUSSI, S.; MAZZI, M. V.; PIETRO, R. C. L. R.; SATO, D. N.; ELLENA, J.; SAMPAIO, S. V.; FRANÇA, S. C.; SOARES, A. M. Neo-clerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): anti-proteolytic and anti-hemorrhagic properties. **Chemico-Biological Interactions**, v. 150, n. 3, p. 243-251, 2004.

JIN, C.; KENNY, D. T.; SKOOG, E. C.; PADRA, M.; ADAMCZYK, B.; VITIZEVA, V.; THORELL, A.; VENKATAKRISHNAN, V.; LINDÉN, S. K.; KARLSSON, N. G. Structural diversity of human gastric mucin glycans. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 16, n. 5, p. 743-758, 2017.

JOURET-MOURIN, A.; GEBOES, K. Colites infectieuses. **Acta endoscopica**, v. 32, n. 2, p. 167-183, 2002.

JUNG, M. K.; CALLACI, J. J.; LAUING, K. L.; OTIS, J. S.; RADEK, K. A.; JONES, M. K.; KOVACS, E. J. Alcohol Exposure and Mechanisms of Tissue Injury and Repair. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 3, p. 392-399, 2011

KALANT, H.; GRANT, D.M.; MITCHELL, J. In: WARD, W. E. Principles of medical pharmacology. **Toronto: Saunders Elsevier**, v. 856, 2007.

KATARY, M. A.; SALAHUDDIN, A. Gastroprotective effect of vanillin on indomethacin-induced gastric ulcer in rats: protective pathways and anti-Secretory mechanism. **Clin Exp Pharmacol**, v. 7, n. 2, p. 2161-1459.1000232, 2017.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. Basic and Clinical Pharmacology. **New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill**, 2014.

KAVITT, R. T.; LIPOWSKA, A. M.; ANYANE-YEBOA, A.; GRALNEK, I. M. Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease. **The American journal of medicine**, v. 132, n. 4, p. 447-456, 2019.

KELLOW, J. E.; AZPIROZ, F.; DELVAUX, M.; GEBHART, G. F.; MERTZ, H. R.; QUIGLEY, E. M. M.; SMOUT, A. J. P. M. Applied Principles of Neurogastroenterology: Physiology/Motility Sensation. **Gastroenterology**, 130 (5), 1412–1420, 2006.

KIELA, P. R.; GHISHAN, F. K. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 2, p. 145–159, 2016.

KIERSZENBAUM, A. L.; TRES, L. Histology and cell biology: an introduction to pathology E-book. **Elsevier Health Sciences**, 2015.

KIM, T.; SHIVDASANI, R. A. Stomach development, stem cells and disease. **Development**, v. 143, n. 4, p. 554-565, 2016.

KIM, Y. S.; LEE, J. H.; SONG, J.; KIM, H. Gastroprotective Effects of Inulae Flos on HCl/Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Rats. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5623, 2020.
KISHIDA, K.; PEARCE, S. C.; YU, S.; GAO, N.; FERRARIS, R. P. Nutrient sensing by absorptive and secretory progenies of small intestinal stem cells. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 312, n. 6, p. G592-G605, 2017.

KIM, Y.; KIM, J. T.; PARK, J.; SON, H. J.; KIM, E. Y.; LEE, Y. J.; RHYU, M. R. 4, 5-Di-O-Caffeoylquinic Acid from *Ligularia fischeri* Suppresses Inflammatory Responses Through TRPV1 Activation. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 10, p. 1564-1570, 2017.

KIOKIAS, S.; OREOPOULOU, V. A review of the health protective effects of phenolic acids against a range of severe pathologic conditions (including coronavirus-based infections). **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5405, 2021.

KOLGAZI, M.; CILINGIR, S.; YILMAZ, O.; GEMICI, M.; YAZAR, H.; OZER, S.; ACIKEL-ELMAS, M.; ARBAK, S.; SUYEN, G. G. Caffeic acid attenuates gastric mucosal damage induced by ethanol in rats via nitric oxide modulation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 334, p. 109351, 2021.

KOMAL, K. S.; RANA, A. C. Herbal approaches for diarrhoea: a review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 1, p. 31-38, 2013.

KOMAZAWA, Y.; ADACHI, K.; MIHARA, T.; ONO, M.; KAWAMURA, A.; FUJISHIRO, H.; KINOSHITA, Y. Tolerance to famotidine and ranitidine treatment after 14 days of administration in healthy subjects without *Helicobacter pylori* infection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 6, p. 678-682, 2003.

KONG, F.; SINGH, R. P. Disintegration of solid foods in human stomach. **Journal of food science**, v. 73, n. 5, p. R67-R80, 2008.

KOYYADA, A. Long-term use of proton pump inhibitors as a risk factor for various adverse manifestations. **Therapies**, v. 76, n. 1, p. 13-21, 2021.

KUNA, L.; JAKAB, J.; SMOLIC, R.; RAGUZ-LUCIC, N.; VCEV, A.; SMOLIC, M. Peptic ulcer disease: a brief review of conventional therapy and herbal treatment options. **Journal of clinical medicine**, v. 8, n. 2, p. 179, 2019.

KWIECIEŃ, S.; BRZozowski, T.; KONTUREK, P. C. H.; KONTUREK, S. J. THE ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN ACTION OF NITRIC. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 53, n. 4, p. 761-773, 2002.

LABORATÓRIO GLOBO LTDA. Cloridrato de loperamida [Bula]. 2014, p. 1–12.

LA CASA, C.; VILLEGAS, I.; DE LA LASTRA, C. A.; MOTILVA, V.; CALERO, M. M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **Journal of ethnopharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 45-53, 2000.

LANAS, A.; CHAN, F. K. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 390, n. 10094, p. 613-624, 2017.

LAU, J. Y.; SUNG, J.; HILL, C.; HENDERSON, C.; HOWDEN, C. W.; METZ, D. C. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**, v. 84, n. 2, p. 102-113, 2011.

LEE, B. I.; NUGROHO, A.; BACHRI, M. S.; CHOI, J.; LEE, K. R.; CHOI, J. S.; KIM, W. B.; LEE, K. T.; LEE, J. D.; PARK, H. J. Anti-ulcerogenic effect and HPLC analysis of the caffeoylquinic acid-rich extract from *Ligularia stenocephala*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 3, p. 493-497, 2010.

LEE, Y. J.; HSU, J. D.; LIN, W. L.; KAO, S. H.; WANG, C. J. Upregulation of caveolin-1 by mulberry leaf extract and its major components, chlorogenic acid derivatives, attenuates alcoholic steatohepatitis via inhibition of oxidative stress. **Food & function**, v. 8, n. 1, p. 397-405, 2017.

LEITE, A. C. P.; De SOUSA, F. A.; De LIMA, L. N.; GADELHA, S. P.; PESSOA, C. V. Plantas medicinais utilizadas nos distúrbios gastrointestinais: revisão de literatura. **Mostra Científica da Farmácia**, v. 4, n. 2, 2018.

LEITE, G. O.; Da PENHA, A. R.; FERNANDES, C. N.; SOUZA, H. H. F.; Da COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R. Gastroprotective mechanism of *Vanillosmopsis arborea* bark essential oil. **Fitoterapia**, v. 80, p. 77-80, 2009.

LI, X.; LI, K.; XIE, H.; XIE, Y.; LI, Y.; ZHAO, X.; JIANG, X.; CHEN, D. Antioxidant and cytoprotective effects of the Di-O-Caffeoylquinic acid family: The mechanism, structure-activity relationship, and conformational effect. **Molecules**, v. 23, n. 1, p. 222, 2018.

LI, X.; LIU, Y.; GUAN, W.; XIA, Y.; ZHOU, Y.; YANG, B.; KUANG, H. Physicochemical properties and laxative effects of polysaccharides from *Anemarrhena asphodeloides* Bge. in loperamide-induced rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 240, p. 111961, 2019.

LIMA, I. C.; CASTRO, R. N.; CHAVES, D. S. A.; FERREIRA, R. T.; CARVALHO, M. F.; MALVAR, D. D. C.; VANDERLINDE, F. A. The folk medicine as tool for discovery of new anti-inflammatory drugs: the example of *Spermacoe verticillata*. **Acta Horticulturae**, v. 1198, p. 67-74, 2018.

LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; BEZERRA, A. M. E.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. *Egletes viscosa* (Linn.) Less. (macela). In : VIANNA, G. S. B.; LEAL, L. K. A. M.; VASCONCELOS, S. M. M. (Ed.). **Plantas Medicinais da Caatinga: atividades biológicas e potencial terapêutico**. Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, 2013.

LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; MARQUES, M. S. L.; SANTOS, R. H. A.; GAMBARDELA, M. T. P. Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 217-223, 1996.

LIU, Y.; LIANG, J.; WU, J.; CHEN, H.; ZHANG, Z.; YANG, H.; CHEN, L.; CHEN, H.; SU, Z.; LI, Y. Transformation of patchouli alcohol to β -patchoulene by gastric juice: β -patchoulene is more effective in preventing ethanol-induced gastric injury. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017.

LÍVERO, F. A. R.; SILVA, L. M.; FERREIRA, D. M.; GALUPPO, L. F.; BORATO, D. G.; PRANDO, T. B. L.; LOURENÇO, E. L. B.; STRAPASSON, R. L. B.; STEFANELLO, M. É. A.; WERNER, M. F. P.; ACCO, A. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* promotes gastroprotection and healing of acute and chronic gastric ulcers induced by ethanol and acetic acid. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 389, n. 9, p. 985–998, 2016.

LOGUERCIO, C.; TARANTO, D.; BENEDUCE, F.; BLANCO, C. V.; DE VINCENTIIS, A.; NARDI, G.; ROMANO, M. Glutathione prevents ethanol induced gastric mucosal damage and depletion of sulfhydryl compounds in humans. **Gut**, v. 34, n. 2, p. 161-165, 1993.

LORENZI, H. M.; MATOS, F. FJA Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. **Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum**, 2008.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v.193, p. 265-75, 1951.

LUANGWATTANANUN, P.; EIAMPHUNGORN, W.; SONGTAWEE N.; BÜLOW, L.; ISARANKURA, N.A.; AYUDHYA, C.; PRACHAYASITTIKUL, V.; YAINOY, S. Impact of reactive oxygen species generation on *Helicobacter pylori*-related extragastric diseases: a hypothesis. **Journal of Biotechnology**, v. 247, p. 50-59, 2017.

MA, L.; HU, L.; FENG, X.; WANG, S. Nitrate and nitrite in health and disease. **Aging and disease**, v. 9, n. 5, p. 938, 2018.

MA, Y. L.; WU, Z. M.; LIU, X.; LAN, J. E.; ZAI, W. J.; JIN, X.; XIE, H.; MU, Q.; LIU, H. R. Antidiarrheal activity of the extracts of *Valeriana jatamansi* Jones on castor oil-induced diarrhea mouse by regulating multiple signal pathways. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, p. 115560, 2022.

MAGALHÃES, K. N.; GUARNIZ, W.A.S.; SÁ, K.M.; FREIRE, A.B.; MONTEIRO, M.P.; NOJOSA, R.T.; BIESKI, I.G.C.; CUSTÓDIO, J.B.; BALOGUN, S.O.; BANDEIRA, M.A.M. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of ethnopharmacology**, v. 237, p. 314-353, 2019.

MAHMOOD, N.; NAZIR, R.; KHAN, M.; KHALIQ, A.; ADNAN, M.; ULLAH, M.; YANG, H. Antibacterial activities, phytochemical screening and metal analysis of medicinal plants: traditional recipes used against diarrhea. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 194, 2019.

MALFERTHEINER, P.; MEGRAUD, F.; O'MORAIN, C. A.; GISBERT, J. P.; KUIPERS, E. J.; AXON, A. T.; BAZZOLI, F.; GASBARRINI, A.; ATHERTON, J.; GRAHAM, D. Y.; HUNT, R.; MOAYYEDI, P.; ROKKAS, T.; RUGGE, M.; SELGRAD, M.; SUERBAUM, S.; SUGANO, K.; EL-OMAR, E. M. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. **Gut**, v. 66, n. 1, p. 6-30, 2017.

MANABE, N.; CAMILLERI, M.; RAO, A.; WONG, B.S.; BURTON, D.; BUSCIGLIO, I.; ZINSMEISTER, A. R.; HARUMA K. Effect of daiken chuto (TU-100) on gastrointestinal and colonic transit in humans. **American Journal Physiology Gastrointestinal Liver Physiology**, v. 298. p.970–975, 2010.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. In: Universidade Federal do Ceará (Ed.). 3. ed. Fortaleza-CE: UFC, p. 394, 2007.

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

MATSUKURA, N.; SHIROTA, A.; ASANO, G. Anatomy, histology, ultrastructure, stomach, rat. In: **Digestive system**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1985. p. 281-288.

MCCRACKEN, K. W.; WELLS, J. M. Mechanisms of embryonic stomach development. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, p. 36-42, 2017.

MEERVELD, B. G.V.; JOHNSON, A. C.; GRUNDY, D. Gastrointestinal Physiology and Function Beverley. In: **Handbook of Experimental Pharmacology**. [s.l: s.n.]. p. 1–16.

MEGHA, R.; FAROOQ, U.; LOPEZ, P. P. Stress-Induced Gastritis. **StatPearls [Internet]**, 2020.

MELO, C. M.; MAIA, J. L.; CAVALCANTE, Í. J.; LIMA, M. A. S.; VIEIRA, G. A. B.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. 12-Acetoxyhawtriwaic acid lactone, a diterpene from *Egletes viscosa*, attenuates capsaicin-induced ear edema and hindpaw nociception in mice: possible mechanisms. **Planta medica**, v. 72, n. 07, p. 584-589, 2006.

MIRANDA, M. A.; LEMOS, M.; COWART, K. A.; RODENBURG, D.; MCCHESENEY, J. D.; RADWAN, M. M.; BASTOS, J. K. Gastroprotective activity of the hydroethanolic extract and isolated compounds from the leaves of *Solanum cernuum* Vell. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 172, p. 421-429, 2015.

MIRJALILI, S. A. Gastrointestinal Physiology. In: **Physiology for General Surgical Sciences Examination (GSSE)**. Springer, 2019.

MOBEEN, A.; MOAZZAM, S. W. Jawarish Shahi: A special dosage form of herbal formulations for functional gastrointestinal disorders in Unani medicine-A comprehensive review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 293, p. 115319, 2022.

MORAIS, T. C.; PINTO, N. B.; CARVALHO, K. M. M.; RIOS, J. B.; RICARDO, N. M. P.; TREVISAN, M. T. S.; SANTOS, F. A. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-biological interactions**, v. 183, n. 1, p. 264-269, 2010.

- MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, p. 495–505, 1991.
- MOUSA, A. M.; EL-SAMMAD, N. M.; HASSAN, S. K.; ABD EL NASSER, A. M.; HASHIM, A. N.; MOUSTAFA, E. S.; BAKRY, S. M.; ELSAYED, E. Antiulcerogenic effect of *Cuphea ignea* extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019.
- NA, J. R.; LEE, K. H.; KIM, E.; HWANG, K.; NA, C. S.; KIM, S. Laxative Effects of a Standardized Extract of *Dendropanax morbiferus* H. Léveillé Leaves on Experimental Constipation in Rats. **Medicina**, v. 57, n. 11, p. 1147, 2021.
- NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T.; ANDO, T.; KISHI, A.; UEDA, S.; OYAMADA, H.; KONDO, M. Changes in superoxide dismutase activity in the gastric mucosa of peptic ulcer patients. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 14, p. S131-4, 1992.
- NAM, Y.; LEE, J. M.; WANG, Y.; HA, H. S.; SOHN, U. D.; The effect of Flos *Lonicerae japonicae* extract on gastro-intestinal motility function. **Journal of ethnopharmacology**, v. 179, p. 280-290, 2016.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of natural products**, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.
- NDIDI, Kelichi. Gastric Ulcers; Causes, Symptoms, Treatment, and Prevention. **Journal Wetenskap Health**, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2020.
- NIKI, E. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products?. **FEBS letters**, v. 586, n. 21, p. 3767-3770, 2012.
- NILIUS, B.; DROOGMANS, G. Ion channels and their functional role in vascular endothelium. **Physiological reviews**, v. 81, n. 4, p. 1415-1459, 2001.
- OECD Guideline (2001) on acute oral toxicity (AOT). **Environmental health and safety monograph series on testing and adjustment number 425**. Disponível em: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvm/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl425-508.pdf. Acesso em: 4 de jun. de 2022.
- OLINDA, T. M.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Quebrachitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K⁺ATP channels. **Phytomedicine**, v. 15, p. 327-333, 2008.
- OPAS/OMS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Álcool**. 2021. Disponível em: www.paho.org/pt/topicos/alcool. Acessado em: 18 de janeiro de 2023.
- O'TOOLE, T. J.; SHARMA, S. Physiology, somatostatin. **StatPearls [Internet]**, 2020.

PALA, F. S.; GÜRKAN, H. The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. **Advances in Molecular Biology**, v. 1, n. 19, p. 9, 2008.

PAGANOTTE, D. M.; SANNOMIYA, M.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; SALGADOA, H. Operculina macrocarpa: chemical and intestinal motility effect in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 4, p. 427-432, 2016.

PANDEY, A.; SARASWAT, N.; WAL, P.; PAL, R. S.; WAL, A.; MAURYA, D. A detailed review on: recent advances, pathophysiological studies and mechanism of peptic ulcer. **Research journal of pharmacology and pharmacodynamics**, v. 11, n. 4, p. 165-170, 2019.

PANG, B. X.; BU, L. X.; JIA, M. Y.; CHEN, L. Q.; SONG, K.; LIU, Y. S.; SHANG, W. Protective effect of dietary nitrate on stress-induced gastric mucosal injury via enhancing blood perfusion in Mongolian gerbils. **Chinese Medical Journal**, v. 133, n. 17, p. 2141-2142, 2020.

PATEL, R. H.; MOHIUDDIN, S. S. Biochemistry, Histamine. **StatPearls [Internet]**, 2020.

PAZ, M. F. C. J.; ISLAM, M. T.; TABREZ, S.; FIROZ, C. K. JABIR, N. R.; KAMAL, M. A.; MELO-CAVALCANTE, A. A. C.; ALMEIDA, F. R. C. Effect of diterpenes on hepatic system. **Current pharmaceutical design**, v. 24, n. 35, p. 4093-4100, 2018.

PESKAR, B. M.; EHRLICH, K.; PESKAR, B. A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, n. 3, p. 969-974, 2002.

POTRICH, F. B.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MAYER, B.; SANTOS, A. C.; TWARDOWSCHY, A.; GUEDES, A.; MARQUES, M. C. A. Ação de extratos de plantas medicinais sobre a motilidade do trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 750-754, 2014.

PROSAPIO, J. G.; SANKAR, P.; JIALAL, I. Physiology, Gastrin. **StatPearls [Internet]**, 2020.

PROSS, N. Effects of dehydration on brain functioning: a life-span perspective. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 70, n. Suppl. 1, p. 30-36, 2017.

QAZI, N. G.; KHAN, A.; ABBASI, S. W.; SHAH, F. A.; RASHEED, F.; ALI, F.; HASSAN, S. S.; BUNGAU, S. Pharmacological basis of Rumex hastatus D. Don in gastrointestinal diseases with focusing effects on H⁺/K⁺-ATPase, calcium channels inhibition and PDE mediated signaling: Toxicological evaluation on vital organs. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 5919, 2022.

QIN, X.; DEITCH, E. A. Dissolution of lipids from mucus: A possible mechanism for prompt disruption of gut barrier function by alcohol. **Toxicology Letters**, v. 232, n. 2, p. 356-362, 2015.

QIU, L.; YAO, L.; FANG, Y.; WANG, L.; XUE, M.; LIN, Z.; SI, J. Effect of cuttlebone on healing of indomethacin-induced acute gastric mucosal lesions in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

RAMANA, K. V.; SINGHAL, S. S.; REDDY, A. B. Therapeutic potential of natural pharmacological agents in the treatment of human diseases. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

RANI, K. Role of antioxidants in prevention of diseases. **J Appl Biotechnol Bioeng**, v. 4, n. 1, p. 00091, 2017.

RANJBAR, R.; GHASEMIAN, M.; MANIATI, M.; KHATAMI, S. H.; JAMALI, N.; TAHERI-ANGANEH, M. Gastrointestinal disorder biomarkers. **Clinica Chimica Acta**, 2022.

RAO, M.; GERSHON, M. D. Enteric nervous system development: what could possibly go wrong?. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, n. 9, p. 552–565, 25 set. 2018.

RAO, M.; GERSHON, M. D. The bowel and beyond: the enteric nervous system in neurological disorders. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 13, n. 9, p. 517–528, 20 set. 2016.

RAO, V. S. N.; FIGUEIREDO, E. G.; MELO, C. L.; VIANA, G. S. B.; MENEZES, D. B.; MATOS, M. S. F.; SILVEIRA, E. R. Protective effect of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less., in experimental liver injury. **Pharmacology**, v. 48, p. 392–397, 1994.

RAO, V. S. N.; PAIVA, L. A. F.; SOUZA, M. F.; CAMPOS, A. R.; RIBEIRO, R. A.; BRITO, G. A. C.; TEIXEIRA, M. J.; SILVEIRA, E. R. Ternatin, an anti-inflammatory flavonoid, inhibits thioglycolate-elicited rat peritoneal neutrophil accumulation and LPS-activated nitric oxide production in murine macrophages. **Planta Medica**, v. 69, p. 851–853, 2003.

RAO, V. S. N.; SANTOS, F. A.; SOBREIRA, T. T.; SOUZA, M. F.; MELO, C. L.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta medica**, v. 63, n. 02, p. 146–149, 1997.

REES, Christopher J; POLLACK, Charles V; RIESE, Victoria G. Peptic ulcer disease. In: **Differential Diagnosis of Cardiopulmonary Disease**. Springer, Cham, 2019. p. 769–778.

RIAZ, M. B.; KHAN, A.; QAZI, N. G. Pharmacological and computational evaluation of Sapodilla and its constituents for therapeutic potential in hyperactive gastrointestinal disorders. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 23, n. 2, p. 224, 2020.

RIBEIRO, A. R. S.; DINIZ, P. B.; PINHEIRO, M. S.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L.; THOMAZZI, S. M. Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: The role of prostaglandins, ATP-sensitive K⁺ channels, and gastric mucus secretion. **Chemico-biological interactions**, v. 244, p. 121–128, 2016.

RITCHIE, H.; ROSER, M. Causes of Death. 2018. **Published Online at OurWorldInData. org**. Disponível em: <https://ourworldindata.org/causes-of-death>. Acesso em: 14 dez. 2022.

ROCHA, B. S.; LUNDBERG, J. O.; RADIR.; LARANJINHA J. Role of nitrite, urate and pepsin in the gastroprotective effects of saliva. **Redox Biology**, v. 8, p. 407-414, 2016.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, R.; RODRÍGUEZ-SILVA, R. Epidemiology of acute diarrhea in children. **Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora**, v. 37, n. 2, p. 94-102, 2022.

ROMAN, A. K. S.; SHIVDASANI, R. A. Boundaries, junctions and transitions in the gastrointestinal tract. **Experimental cell research**, v. 317, n. 19, p. 2711-2718, 2011.

RORSMAN, P.; HUISING, M. O. The somatostatin-secreting pancreatic δ -cell in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 7, p. 404-414, 2018.

RUBACH, M.; LANG, R.; HOFMANN, T.; SOMOZA, V. Time-dependent component-specific regulation of gastric acid secretion-related proteins by roasted coffee constituents. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1126, n. 1, p. 310-314, 2008.

RUSSO, M.; COPPOLA, V.; GIANNETTI, E.; BUONAVOLONTÀ, R.; PISCITELLI, A.; STAIANO, A. Oral administration of tannins and flavonoids in children with acute diarrhea: a pilot, randomized, control-case study. **Italian journal of pediatrics**, v. 44, n. 1, p. 1-6, 2018.

SAHOO, H. B.; SAGAR, R.; KUMAR, A.; BHAIJI, A.; BHATTAMISHRA, S. K. Antidiarrhoeal investigation of *Apium leptophyllum* (Pers.) by modulation of Na^+ K^+ ATPase, nitrous oxide and intestinal transit in rats. **biomedical journal**, v. 39, n. 6, p. 376-381, 2016.

SAHOO, H. B.; SAHOO, S. K.; SARANGI, S. P.; SAGAR, R.; KORI, M. L. Anti-diarrhoeal investigation from aqueous extract of *Cuminum cyminum* Linn. Seed in Albino rats. **Pharmacognosy Research**, v. 6, n. 3, p. 204, 2014.

SALES, I. R. P. **Cissampelos sympodialis EICHL.(Menispermaceae): avaliação das atividades antimotilidade e antidiarreica in vivo**. Orientadora: Leônia Maria Batista. 2014. 55f. TCC (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/602>. Acesso: 14 dez. 2022.

SANCHES-LOPES, J. M.; FERREIRA, G. C.; PINHEIRO, L. C.; KEMP, R.; TANUS-SANTOS, J. E. Consistent gastric pH-dependent effects of suppressors of gastric acid secretion on the antihypertensive responses to oral nitrite. **Biochemical Pharmacology**, v. 177, p. 113940, 2020.

SÁNCHEZ-SALCEDO, E. M.; TASSOTTI, M.; DEL RIO, D.; HERNÁNDEZ, F.; MARTÍNEZ, J. J.; MENA, P. (Poly) phenolic fingerprint and chemometric analysis of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry leaves by using a non-targeted UHPLC–MS approach. **Food chemistry**, v. 212, p. 250-255, 2016.

SANTILLANES, G.; ROSE, E. Evaluation and Management of Dehydration in Children. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 36, n. 2, p. 259–273, 2018.

SCHILLER, L. R. Antidiarrheal drug therapy. *Current gastroenterology reports*, v. 19, n. 5, p. 1-12, 2017.

SCHILLER, L. R. Definitions, pathophysiology, and evaluation of chronic diarrhoea. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 26, n. 5, p. 551-562, 2012.

SCHILLER, L. R.; PARDI, D. S.; SELLIN, J. H. Chronic Diarrhea: Diagnosis and Management. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, n. 2, p. 182- 193.e3, 2017.

SCHUBERT, M. L. Gastric acid secretion. **Current opinion in gastroenterology**, v. 32, n. 6, p. 452-460, 2016.

SCHUBERT, M. L. Physiologic, pathophysiologic, and pharmacologic regulation of gastric acid secretion. **Current opinion in gastroenterology**, v. 33, n. 6, p. 430-438, 2017.

SEBAI, H.; JABRI, M. A.; SOULI, A.; RTIBI, K.; SELMI, S.; TEBOURBI, O.; EL-BENNA, J.; SAKLY, M. Antidiarrheal and antioxidant activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract in rats. **Journal Ethnopharmacology**, v. 152, n. 2, p. 327-332, 2014.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with ellman reagents. **Analytical Biochemistry**, v. 25 p. 192-205, 1968.

SENSOY, I. A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. **Current research in food science**, v. 4, p. 308-319, 2021.

SERAFIM, C.; ARARUNA, M. E.; JÚNIOR, E. A.; DINIZ, M.; HIRUMA-LIMA, C.; BATISTA, L. A review of the role of flavonoids in peptic ulcer (2010–2020). **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5431, 2020.

SHAY, H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. **Gastroenterology**, v. 5, p. 43-45, 1945.

SHAY, H.; SUN, D. C.; GRUENSTEIN, M. A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat. **Gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 906-913, 1954.

SHIM, Y. K.; KIM, N. The Effect of H₂ Receptor Antagonist in Acid Inhibition and Its Clinical Efficacy. **The Korean journal of gastroenterology= Taehan Sohwagi Hakhoe chi**, v. 70, n. 1, p. 4-12, 2017.

SHIMOYAMA, A. T.; SANTIN, J. R.; MACHADO, I. D.; SILVA, A. M. O.; DE MELO, I. L. P.; MANCINI-FILHO, J.; FARSKY, S. H. Antiulcerogenic activity of chlorogenic acid in different models of gastric ulcer. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 386, n. 1, p. 5-14, 2013.

SHIN, J. M.; MUNSON, K.; VAGIN, O.; SACHS, G. The gastric HK-ATPase: structure, function, and inhibition. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, n. 457, v. 3, p. 609–622, 2009.

SHIVAJI, U. N.; FORD, A. C. Prevalence of functional gastrointestinal disorders among consecutive new patient referrals to a gastroenterology clinic. **Frontline Gastroenterology**, v. 5, n. 4, p. 266-271, 2014.

SIES, H. On the history of oxidative stress: Concept and some aspects of current development. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 122-126, 2018.

SILVA-FILHO, F. A.; LIMA, M. A. S.; BEZERRA, A. M. E.; BRAZ FILHO, R.; SILVEIRA, E. R. A Labdane diterpene from the aerial parts of *Egletes viscosa* Less. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 7, p. 1374-1378, 2007.

SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. **Constituintes micromoleculares de plantas do nordeste com potencial farmacológico: com dados de RMN 13C**. 2005. Fortaleza; Expressão Gráfica, p. 213.

SISAY, M.; ENGIDAWORK, E.; SHIBESHI, W. Evaluation of the antidiarrheal activity of the leaf extracts of *Myrtus communis* Linn (Myrtaceae) in mice model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1-11, 2017.

SOUSA, A.D.; MAIA, A.I.V.; RODRIGUES, T.H.S.; CANUTO, K.M.; RIBEIRO, P.R.V.; PEREIRA, R.C.A.; VIEIRA, R.F.V.; BRITO, E.S. Ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Phyllanthus amarus* and its composition evaluation by UPLC-QTOF. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 91-103, 2016.

SOUZA, M. F.; CUNHA, G. M. A.; FONTENELE, J. B.; VIANA, G. S. B.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Antithrombotic activity of ternatin, a tetramethoxy flavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytotherapy Research**, v. 8, n. 8, p. 478–481, 1994.

SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by ternatin, a bioflavonoid from *Egletes viscosa* Less. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 8, p. 557–561, 1998.

SQUIRE, J. M.; GUERREIRO M. J.; SIDEBOTHAM, R. L.; REIS, C. A.; WISEMAN, J.; LUTHER, P. K. Quantitative MUC5AC and MUC6 mucin estimations in gastric mucus by a least-squares minimization method. **Analytical Biochemistry**, v. 439, n. 2, p. 204-211, 2013.

STRAND, D. S.; KIM, D.; PEURA, D. A. 25 years of proton pump inhibitors: a comprehensive review. **Gut and liver**, v. 11, n. 1, p. 27, 2017.

SULEYMAN, H.; ALBAYRAK, A.; BILICI, M.; CADIRCI, E.; HALICI, Z. Different Mechanisms in Formation and Prevention of Indomethacin-induced Gastric Ulcers. **Inflammation**, v. 33, n. 4, p. 224-234, 2010.

SZABO, S.; GOLDBERG, I. Experimental pathogenesis: drugs and chemical lesions in the gastric mucosa. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 25, n. sup174, p. 1-8, 1990.

SZAJEWSKA, H.; MRUKOWICZ, J. Z. Probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhea: meta-analysis. **The Journal of pediatrics**, v. 142, n. 1, p. 85, 2003.

SZELENYI, I.; BRUNE, K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 33, n. 7, p. 865-871, 1988.

TAKAHASHI, M.; KATAYAMA, Y. Reversal of the tolerance phenomenon by the intermittent administration of a histamine H₂-receptor antagonist. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 25, p. 1493–1497, 2010.

TAKEUCHI, K.; AMAGASE, K. Roles of cyclooxygenase, prostaglandin E₂ and EP receptors in mucosal protection and ulcer healing in the gastrointestinal tract. **Current pharmaceutical design**, v. 24, n. 18, p. 2002-2011, 2018.

TAKEUCHI, K. Gastric cytoprotection by prostaglandin e₂ and prostacyclin: relationship to ep₁ and ip receptors. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 65, n. 1, p. 3-14, 2014.

TAKEUCHI, K.; ENDOH, T.; HAYASHI, S.; AIHARA, T. Activation of muscarinic acetylcholine receptor subtype 4 is essential for cholinergic stimulation of gastric acid secretion: relation to d cell/somatostatin. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, n. 278, p. 1-11, 2016.

TARNAWSKI, A.; AHLUWALIA, A.; JONES, M. K. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and molecular mechanisms of gastroprotective and ulcer healing actions of antacids. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 126-132, 2013.

TEKLEHAYMANOT, T.; GIDAY, M. Quantitative ethnobotany of medicinal plants used by Kara and Kwego semi-pastoralist people in lower Omo River Valley, Debub Omo zone, southern nations, nationalities and peoples regional state, Ethiopia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 76-84, 2010.

TELES, D. M. **Quantificação dos teores de taninos por espectrofotometria no visível do extrato, elixir e entrecasca triturada de Aroeira-do-Sertão (Myracrodruon urundeuva Fr. All.).** TCC do curso de Farmácia, Universidade Federal do Ceará, 2022.

TEPPERMAN, B. L.; SOPER, B. D. Nitric oxide synthase induction and cytoprotection of rat gastric mucosa from injury by ethanol. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 72, n. 11, p. 1308-1312, 1994.

THIAGARAJAH, J. R.; KAMIN, D. S.; ACRA, S.; GOLDSMITH, J. D.; ROLAND, J. T.; LENCER, W. I.; PEDICODE CONSORTIUM. Advances in evaluation of chronic diarrhea in infants. **Gastroenterology**, v. 154, n. 8, p. 2045-2059. e6, 2018.

THIAGARAJAH, J. R.; VERKMAN, A. S. CFTR inhibitors for treating diarrheal disease. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 92, n. 3, p. 287-290, 2012.

THIAGARAJAH, Jay R. Pathogenesis of acute diarrhea in children. **Uptodate**. Waltham, MA: UpToDate Inc.[internet], 2019.

TOBIAS, A.; SADIQ, N. M. Physiology, Gastrointestinal Nervous Control. **StatPearls [Internet]**, 2019.

TRINDADE, G.; MORAES, A.; RIBEIRO, T.; MENEZES, A. P. S. AUTOMEDICAÇÃO POR ANTIÁCIDOS EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA, BAGÉ-RS. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 2, 2017.

TSAI, Thomas C.; BROOKS, David C. Evaluation of peptic ulcer disease. In: **The SAGES Manual of Foregut Surgery**. Springer, Cham, 2019. p. 635-642.

TULASSAY, Z.; HERSZÉNYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 99-108, 2010.

TUNARU, S.; ALTHOFF, T. F.; NÜSING, R. M.; DIENER, M.; OFFERMANN, S. Castor oil induces laxation and uterus contraction via ricinoleic acid activating prostaglandin EP3 receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 23, p. 9179-9184, 2012.

TURNER, J. R. O Trato Gastrointestinal. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Robbins & Cotran: **Bases patológicas das doenças**. 8. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

ULLAH, A.; MUNIR, S.; BADSHAH, S. L.; KHAN, N.; GHANI, L.; POULSON, B. G.; EMWAS, A. H.; JAREMKO, M. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5243, 2020.

UNICEF/WHO. Why children are still dying and what can be done. 2009. **Reterieved from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44174/1/978924_1598415_eng.pdf**, 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ -UFC. **Farmácia Escola**. Elixir de Aroeira. Disponível em: < <https://farmaciaescola.ufc.br/pt/produtos/liquidos/elixir-de-aroeira/>> Acesso em: 14 dez 2022.

- VALLGREN, S.; EL MUNSHID, H. A.; HEDENBRO, J.; REHFELD, J. F.; HÅKANSON, R. Mechanism of gastric acid response to pylorus ligation: effects of nephrectomy. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 4, p. 491-496, 1983.
- VAN DALEN, C. J.; WINTERBOURN, C. C.; SENTHILMOHAN, R.; KETTLE, A. J. Nitrite as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase: implications for nitration and hypochlorous acid production at sites of inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 16, p. 11638-11644, 2000.
- VIANA, A. F. S. C.; SILVA, F. V.; FERNANDES, H. D. B.; OLIVEIRA, I. S.; BRAGA, M. A.; NUNES, P. I. G.; VIANA, D. A.; SOUSA, D. P.; RAO, V. S.; OLIVEIRA, R. C. M.; SANTOS, F. A. Gastroprotective effect of (-)-myrtenol against ethanol-induced acute gastric lesions: possible mechanisms. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 8, p. 1085-1092, 2016.
- VIANA, G. S. B.; MATOS, F. J. A.; BANDEIRA, M. A. M.; RAO, V. S. **Aroeira-do-sertão: estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**. 2 ed. rev. amp. Fortaleza, CE: ed. UFC, 1995.
- VIEIRA, G. A. B.; LIMA, M. A. S.; BEZERRA, A. M. E.; SILVEIRA, E. R. Chemical composition of teas from two cultivated chemotypes of *Egletes viscosa* ("Macela-da-terra"). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 1, p. 43-47, 2006.
- WALDUM, H. L.; KLEVELAND, P. M.; FOSSMARK, R. Upper gastrointestinal physiology and diseases. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 50, n. 6, p. 649-656, 2015.
- WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself?. **Physiological reviews**, v. 88, n. 4, p. 1547-1565, 2008.
- WALLACE, J. L.; MILLER, M. J. Nitric oxide in mucosal defense: a little goes a long way. **Gastroenterology**, v. 119, n. 2, p. 512-520, 2000.
- WALLEY, T.; MILSON, D. Loperamide related toxic megacolon in *Clostridium difficile* colitis. **Postgraduate Medical Journal**, v. 66, n. 777, p. 582-582, 1 jul. 1990.
- WALTZ, P.; ESCOBAR, D.; BOTERO, A. M.; ZUCKERBRAUN, B. S. Nitrate/nitrite as critical mediators to limit oxidative injury and inflammation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 23, n. 4, p. 328-339, 2015.
- WANG, C.; ZHANG, N.; WANG, Z.; QI, Z.; ZHENG, B.; LI, P.; LIU, J. Rapid characterization of chemical constituents of *Platycodon grandiflorum* and its adulterant *Adenophora stricta* by UPLC-QTOF-MS/MS. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 52, n. 10, p. 643-656, 2017.
- WEYDERT, C. J.; CULLEN, J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. **Nature Protocols**, v. 5, n. 1, p. 51-66, 2010.

WHITTLE, B. J. R.; LOPEZ-BELMONTE, J.; MONCADA, S. Nitric oxide mediates rat mucosal vasodilatation induced by intragastric capsaicin. **European journal of pharmacology**, v. 218, n. 2-3, p. 339-341, 1992.

WHO. **Diarrhoeal disease**, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>. Acesso em: 16 jul. 2022.

WOOLF, A.; ROSE, R. Peptic ulcer. **StatPearls [Internet]**, 2020.

WU, P. E.; JUURLINK, D. N. Clinical Review: Loperamide Toxicity. **Annals of Emergency Medicine**, v. 70, n. 2, p. 245-252, ago. 2017.

WU, T.; WANG, X.; XIONG, H.; DENG, Z.; PENG, X.; XIAO, L.; JIANG, L.; SUN, Y. Bioactives and their metabolites from *Tetrastigma hemsleyanum* leaves ameliorate DSS-induced colitis via protecting the intestinal barrier, mitigating oxidative stress and regulating the gut microbiota. **Food & Function**, v. 12, n. 23, p. 11760-11776, 2021.

XIAOLI, L.; WU, C. W.; KIM H. Y.; TIAN, W.; CHIANG, F. Y.; LIU, R.; ANUWONG, A.; RANDOLPH, G. W.; DIONIGI, G.; LAVAZZA, M. Gastric acid secretion and gastrin release during continuous vagal neuromonitoring in thyroid surgery. **Langenbeck's archives of surgery**, v. 402, n. 2, p. 265-272, 2017.

YAKUBU, M. T.; NURUDEEN, Q. O.; SALIMON, S. S.; YAKUBU, M. O.; JIMOH, R. O.; NAFIU, M. O.; WILLIAMS, F. E. Antidiarrhoeal activity of *Musa paradisiaca* Sap in Wistar rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

YANDRAPU, H.; SAROSIEK, J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal Mucosa: An Overview. **Current Gastroenterology Reports**, v. 17, n. 6, p. 1-8, 2015.

YAO, X.; SMOLKA, A. J. Gastric parietal cell physiology and *Helicobacter pylori*-induced disease. **Gastroenterology**, v. 156, n. 8, p. 2158-2173, 2019.

ZAGARI, R. M.; FRAZZONI, L.; MARASCO, G.; FUCCIO, L.; BAZZOLI, F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: A clinical practice update. **Minerva Medica**, v. 112, n. 2, p. 281-287, 2020.

ZDERO, C.; AHMED, A. A.; BOHLMANN, F.; MUNGAI, G. M. Diterpenes and sesquiterpene xylosides from east african *Conyza* species. **Phytochemistry**, v. 29, n. 10, p. 3167-3172, 1990.

ZIMMER, K. P.; DE LAFFOLIE, J.; BARONE, M. V.; NAIM, H. Y. Endocytosis in enterocytes. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 166, n. 7, p. 205-210, 2016.

ZULAIKHAH, S. T. The role of antioxidant to prevent free radicals in the body. **Sains Medika**, v. 8, n. 1, p. 39-45, 2017.

ANEXO I - FOLHA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do efeito de infusões de Egletes viscosa em lesões gastrintestinais induzidas pela indometacina em camundongos Swiss.", protocolada sob o CEUA nº 1860060721 (00 001940), sob a responsabilidade de **Flávia Almeida Santos** e equipe; *Benedito Yago Machado Portela; Gabrielle de Paula Freire* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 09/08/2021.

We certify that the proposal "Evaluation of the effect of Egletes viscosa infusions on indomethacin-induced gastrointestinal lesions in Swiss mice.", utilizing 376 Heterogenics mice (376 males), protocol number CEUA 1860060721 (00 001940), under the responsibility of **Flávia Almeida Santos** and team; *Benedito Yago Machado Portela; Gabrielle de Paula Freire* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 08/09/2021.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 09/2021 a 09/2023

Área: **Departamento de Fisiologia E Farmacologia**

Origem: **Biotério Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED)**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **5 a 7 semanas**

N: **376**

Linagem: **Swiss**

Peso: **20 a 30 g**

Local do experimento: Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Rua Coronel Nunes de Melo, nº 1315, - Prédio do Instituto de Biomedicina, 1º andar.

Fortaleza, 24 de janeiro de 2023

Prof. Dra. Camila Ferreira Roncari
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dra. Karuza Maria Alves Pereira
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

ANEXO II - FOLHA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ**

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO PROKINETICO, ANTIDIARRHEICO E LAXATIVO DAS INFUSÕES DE Egletes viscosa EM CAMUNDONGOS Swiss.", protocolada sob o CEUA nº 6423230822 (00 002308), sob a responsabilidade de **Flávia Almeida Santos** e equipe; *Benedito Yago Machado Portela; Gabrielle de Paula Freire* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 04/10/2022.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE PROKINETIC, ANTIDIARRHEAL AND LAXATIVE EFFECT OF Egletes viscosa INFUSIONS IN Swiss MICE.", utilizing 392 Heterogenics mice (392 males), protocol number CEUA 6423230822 (00 002308), under the responsibility of **Flávia Almeida Santos and team; Benedito Yago Machado Portela; Gabrielle de Paula Freire** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 10/04/2022.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **10/2022** a **07/2023**

Área: **Departamento de Fisiologia E Farmacologia**

Origem: **Biotério Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED)**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **5 a 7 semanas**

N: **392**

Linagem: **Swiss**

Peso: **25 a 30 g**

Local do experimento: Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Rua Coronel Nunes de Melo, nº 1315, - Prédio do Instituto de Biomedicina, 1º andar.

Fortaleza, 24 de janeiro de 2023

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

ANEXO III – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO

Journal of Ethnopharmacology 309 (2023) 116348



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm

UPLC-QTOF-MS/MS-based metabolomic approach and gastroprotective effect of two chemotypes of *Egletes viscosa* (L.) less. against ethanol-induced gastric ulcer in mice

Flávia Almeida Santos^{a,*}, Ana Flávia Seraine Custódio Viana^a, Paulo Iury Gomes Nunes^a, Benedito Yago Machado Portela^a, Ana Paula Negreiros Nunes Alves^b, Daniel de Araújo Viana^c, Kaline Rodrigues Carvalho^{d,e}, Rita de Cássia Alves Pereira^d, Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro^d, Elenilson Godoy Alves-Filho^d, Edy Sousa de Brito^d, Edilberto Rocha Silveira^e, Kirley Marques Canuto^{d,**}

^a Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

^b Dental Clinic Department, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

^c Christus University Center, Fortaleza, Ceará, Brazil

^d Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa), Tropical Agroindustry, Fortaleza, Ceará, Brazil

^e Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil