



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

GABRIELLE DE PAULA FREIRE

**EFEITO PROTETOR E CICATRIZANTE GÁSTRICO DO EXTRATO DE
SEMENTES DE *Lonchocarpus sericeus* EM ROEDORES**

FORTALEZA

2023

GABRIELLE DE PAULA FREIRE

**EFEITO PROTETOR E CICATRIZANTE GÁSTRICO DO EXTRATO DE
SEMENTES DE *Lonchocarpus sericeus* EM ROEDORES**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas. Área de concentração: Ciências Médicas.

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)

- F933e Freire, Gabrielle de Paula.
Efeito protetor e cicatrizante gástrico do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* em roedores /
Gabrielle de Paula Freire. – 2023.
190 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médicas, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Flávia Almeida Santos.
1. *Lonchocarpus sericeus*. 2. Gastroproteção. 3. Úlcera. 4. Cicatrização. I. Título.

CDD 610

GABRIELLE DE PAULA FREIRE

**EFEITO PROTETOR E CICATRIZANTE GÁSTRICO DO EXTRATO DE
SEMENTES DE *Lonchocarpus sericeus* EM ROEDORES**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas. Área de concentração: Ciências Médicas.

Aprovada em 24/01/2023.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Flávia Almeida Santos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Thiago Sousa de Melo
Centro Universitário INTA (UNINTA)

Dra. Cinthya Iamille Frithz Brandao de Oliveira
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Dra. Francilene Vieira da Silva Freitas
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me dar forças para seguir em frente, e aos meus amigos, pois sem eles eu não teria conseguido dar continuidade a este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal do Ceará**, pela disponibilização de todos os recursos e infraestrutura necessários para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro necessário nesta pesquisa.

À minha orientadora, **Prof^a. Flávia Almeida Santos**, obrigada pela compreensão, pela paciência e pelo voto de confiança. “Caí de cabeça” no LPN e agradeço por todo apoio que recebi durante todos esses anos.

À **Prof^a. Geanne Matos de Andrade** e ao **Prof. Ricardo de Freitas Lima**, obrigada por aceitarem participar da minha banca de qualificação no período tão complicado que foi o final de ano. Obrigada pela disponibilidade e por todas as contribuições para o trabalho final.

Ao **Prof. Pedro Jorge Caldas Magalhães** muito obrigada por aceitar participar tanto na qualificação, como na minha banca de defesa. Espero ter feito “a altura” todas as correções solicitadas. Agradeço imensamente a disponibilidade e as contribuições valiosas para o trabalho final.

A **Prof^a. Cinthya Iamille Frithz Brandao de Oliveira**, a **Prof^a. Francilene Vieira da Silva Freitas** e ao **Prof. Thiago Sousa de Melo**, obrigada por aceitarem participar da minha banca de defesa. Obrigada pela disponibilidade e por todas as contribuições maravilhosas para o trabalho.

A **Prof^a. Ana Flávia Seraine Viana**, obrigada por aceitar participar como suplente deste trabalho. Agradeço muitíssimo a disponibilidade mesmo em meio a tantos afazeres.

Ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial as chefes de departamento **Prof^a. Sandra Maria Nunes** e **Prof^a. Nylane Maria Nunes de Alencar** que possibilitaram e incentivaram a realização deste trabalho.

A todos os colegas e amigos que o Departamento de Fisiologia e Farmacologia pode me proporcionar, **Ewerton Menezes**, **Márcia Netto**, **Gabriela Mariangela**, **Milena Jales**, **Augusto Cesar**, **Cristina Uchôa**, **Vanessa Mesquita**, **Kelly Rose**, **Janequeli Nascimento**, em especial a **Francinadna Neila** que sempre se demonstrou disponível para ajudar com todas as questões burocráticas e ao **Wesley Lyeverton** que me “salvou” diversas vezes durante os experimentos com animais.

Ao **Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro**, pela análise química do material de origem deste trabalho e pela disponibilidade.

Ao Patologista **Dr. Daniel de Araújo Viana**, pela parceria e pelos conhecimentos compartilhados durante a análise histológica deste trabalho.

A Patologista **Prof^a. Ana Paula Negreiros Nunes Alves**, por sempre se mostrar disponível e atenciosa durante a análise histológica deste trabalho.

À minha orientadora da graduação e da dissertação, **Prof^a. Ana de Fátima Fontenele Urano Carvalho**. Para sempre será um grande exemplo de pesquisadora, de professora e de mulher para mim.

À **Luiz Carlos Pereira Almeida Filho**, muitíssimo obrigada pela ajuda e pelo apoio neste trabalho. Você trouxe a “luzinha” no final do túnel para que este doutorado fosse possível de acontecer.

À **Thiago Silva de Almeida**, muitíssimo obrigada pela ajuda na finalização deste doutorado. Nunca me esquecerei do seu apoio, da disponibilidade e das vídeo chamadas que me tiraram tantas dúvidas.

À **Marco Antônio Clementino**, muito obrigada por se mostrar disponível para contribuir com esse trabalho em um momento tão complicado. Obrigadas por todas as correções e principalmente pelas palavras de incentivo.

À **Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas** e a secretária **Lucélia Aragão** que sempre se mostrou disponível para ajudar. Em particular, a ex-secretária **Ivone Mary**, que sempre se mostrou otimista e muito atenciosa com todas as minhas “demandas” e dúvidas.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LPN), **Paulo Iury Gomes, Renan Pereira, Benedito Yago Machado, Ana Virgínia, Tuelly Bandeira e Rose Anny** pela amizade, pelo companheirismo, por me “escutarem” e pelos momentos de confraternizações juntos.

Aos estudantes de iniciação científica que me auxiliaram neste trabalho. **Vinícius Estevão, Maria Teresa, Giovana Ferreira e Victória Regia**, muito obrigada por todo o apoio durante os experimentos.

A **Diogo Vasconcelos Fontenele, Lucas Falcão Muniz e Lucas Galeno Alves**, obrigada por tornarem as noites e os finais de semana mais divertidos. Sem a ajuda de vocês eu não sei se teria “sanidade” para escrever. Vocês tiveram papel fundamental na realização deste

trabalho pois a amizade de vocês me fez uma pessoa melhor a cada dia. Sou muito grata por ter vocês na minha vida.

Aos meus amigos: **Lucas Oliveira, Dayanne Martins, Ednaldo Gonzaga, Juliana Viveiros, Allan Hatts, Isabel Moura, Hayner Esteves, Victor Azevedo, Paulo Ricardo, Raquel Ribeiro, Jefferson Alves, Diego Oliveira, Juan Raposo, Jadson Felipe, Eduardo Max e Gabriel Araújo**. Obrigada por estarem sempre presentes e alegrando meus finais de semana e feriados. As melhores viagens sempre são com vocês.

Aos meus amigos da faculdade: **Nayane Galdino, Anne Marques, Larissa Rodrigues, Raquel Ribeiro, Tuane Ribeiro, Cecili Mendes e Tamara Maciel**, muito obrigada por todos os momentos e pela grande amizade. Apesar de estar longe de alguns, quando nós encontramos é sempre maravilhoso.

Aos amigos do Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais (Bioprospec) e agora afilhados **Pedro Matheus Tabosa e Thaís Borges Moreira**, obrigada pela amizade e pelos maravilhosos momentos de diversão pois sempre que saímos parece que não passou nem uma semana.

À **Rafaelle de Paula Freire**, obrigada pelas conversas e pelas previsões “astrológicas” de cada dia. Agora que você mora longe, as vezes sinto que estamos mais próximas e que você está cada vez mais perto.

À **Cristal Melissa de Paula Freire**, obrigada por estar se tornando essa mulher maravilhosa, essa profissional incrível e esse ser humano de coração bondoso. Tenho muito orgulho de você. Você vai longe futura dentista.

Aos meus pais, **Gilvan Ferreira Freire e Solange de Paula Freire**, obrigada por todo o apoio que sempre me deram em relação aos estudos. Principalmente, obrigada mãe, por todas as orações que tranquilizaram o meu coração.

Ao **Thiago Barroso de Sousa**, meu “Namorado”, obrigada por sempre estar ao meu lado e por aguentar todas as loucuras das “mil abas” que tenho abertas ao mesmo tempo na minha cabeça. Obrigada por ter sido tão paciente e tão compreensivo nesta fase tão difícil da minha vida. #vocemefazfeliz.

Por último, mas primeiramente importante, agradeço a **Deus** e a **Nossa Senhora**, pela força nos momentos difíceis e pela fé de que as coisas iriam melhorar e de que, no final, tudo iria dar certo.

“O sucesso é ir de fracasso em fracasso sem
perder o entusiasmo.” (Winston Churchill)

RESUMO

A úlcera gástrica é uma doença prevalente no mundo inteiro e os medicamentos utilizados no seu tratamento, embora eficientes, apresentam efeitos colaterais. Uma terapia alternativa para esta doença seria o uso de preparações derivadas de produtos naturais. *Lonchocarpus sericeus* é uma espécie utilizada popularmente como anti-inflamatório, analgésico e para tratar distúrbios gastrointestinais. O presente trabalho investigou a atividade protetora e cicatrizante gástrica do extrato hexânico de sementes de *L. sericeus* (LsHE). A composição química foi determinada e os constituintes majoritários foram avaliados *in silico*. O potencial gastroprotetor foi analisado em lesões gástricas induzidas por etanol e por indometacina em camundongos. Nestes modelos foram examinados o conteúdo de muco e marcadores do estresse oxidativo e da inflamação. Além disso, foi investigada a ação de LsHE sobre possíveis vias de sinalização e sobre a secreção gástrica. Seu potencial cicatrizante foi analisado em lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos. Além disso, foi avaliada a toxicidade por doses repetidas e marcadores do estresse oxidativo e da inflamação. Oito componentes foram identificados em LsHE, sendo os majoritários os ácidos oleico, palmítico e beénico. Na análise *in silico* foram previstas características favoráveis à absorção gastrointestinal, biodisponibilidade e ausência de toxicidade. O pré-tratamento com LsHE reduziu a área da lesão gástrica e restaurou o muco nos modelos de lesão induzida por etanol e por indometacina. Em ambos os modelos, o pré-tratamento aumentou os níveis de catalase, glutatona e superóxido dismutase e reduziu os níveis de malondialdeído e mieloperoxidase em comparação com camundongos não tratados. A inibição das vias de sinalização relacionadas a prostaglandinas e óxido nítrico reverteu o efeito gastroprotetor apresentado por LsHE nas lesões induzidas por etanol, mas esse efeito não foi totalmente revertido pelo bloqueio dos canais de potássio ou dos receptores vanilóides transitórios. LsHE foi capaz de aumentar o pH e reduzir a acidez e volume de secreção gástrica para níveis semelhantes aos de animais controle em modelo de ligação de piloro. O tratamento com LsHE por sete dias, reduziu a área e o volume da lesão gástrica induzida por ácido acético, aumentando a taxa de cicatrização quando comparado a ratos não tratados. LsHE não promoveu alterações que indicassem toxicidade. O tratamento também aumentou os níveis de catalase e glutatona e reduziu os níveis de superóxido dismutase, malondialdeído e mieloperoxidase em comparação com ratos não tratados. Em conclusão, LsHE exerce um efeito protetor contra lesões gástricas induzidas por etanol e por indometacina e um efeito cicatrizante em lesões gástricas induzidas por ácido acético, possivelmente seus efeitos estão relacionado ao aumento

de fatores protetores da mucosa gástrica, a modulação da secreção ácida e a diminuição da inflamação nos tecidos.

Palavras-chave: *Lonchocarpus sericeus*; Gastroproteção; Úlcera; Cicatrização.

ABSTRACT

Gastric ulcers are a disease prevalent worldwide, and the drugs used to treat them, although effective, have side effects. An alternative therapy for this disease would be the use of preparations obtained from natural products. *Lonchocarpus sericeus* is a species popularly used as an anti-inflammatory and analgesic agent, as well as for the treatment of gastrointestinal disorders. In the present work, the protective and gastric healing effects of hexane extract of *L. sericeus* seeds (LsHE) were investigated. The chemical composition was determined and the main constituents were evaluated *in silico*. The gastroprotective potential was analyzed in ethanol- and indomethacin- induced gastric lesions in mice. In these models, mucus content and markers of oxidative stress and inflammation were studied. In addition, the effect of LsHE on possible signaling pathways and on gastric secretion was investigated. Its healing potential was analyzed in acetic acid-induced gastric lesions in rats. In addition, repeated-dose toxicity and markers of oxidative stress and inflammation were investigated. Eight components were identified in LsHE, the most important of which were oleic acid, palmitic acid, and behenic acid. *In silico* analysis predicted properties favorable for gastrointestinal absorption, bioavailability, and absence of toxicity. Pretreatment with LsHE reduced the area of gastric damage and restored mucus in both ethanol- and indomethacin-induced injury models. In both models, pretreatment increased levels of catalase, glutathione, and superoxide dismutase and reduced levels of malondialdehyde and myeloperoxidase compared with untreated mice. Inhibition of prostaglandin and nitric oxide-related signaling pathways reversed the gastroprotective effect of LsHE in ethanol-induced lesions, but this effect was not fully reversed by blocking potassium channels or transient vanilloid receptors. LsHE was able to increase pH and reduce gastric acidity and secretory volume to levels similar to control animals in a pyloric binding model. Seven days of treatment with LsHE reduced the area and volume of the acetic acid-induced gastric lesion and increased the healing rate compared with untreated rats. LsHE did not promote changes indicative of toxicity. Treatment also increased the levels of catalase and glutathione and reduced the levels of superoxide dismutase, malondialdehyde, and myeloperoxidase compared with untreated mice. In conclusion, LsHE exerts a protective effect against gastric lesions induced by ethanol and indomethacin and a healing effect in gastric lesions induced by acetic acid, and its effect may be related to the increase of gastric mucosal protective factors, modulation of acid secretion, and decreased inflammation in tissues.

Key words: *Lonchocarpus sericeus*; Gastroprotection; Ulcer; Healing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Desenho esquemático do estômago humano delimitando diferentes regiões.....	32
Figura 2:	Mecanismos de controle da secreção de ácido gástrico pelas células parietais.....	33
Figura 3:	Mecanismos de ação de enzimas antioxidantes sobre espécies reativas de oxigênio.....	43
Figura 4:	Processo de renovação epitelial e cicatrização da úlcera gástrica.....	45
Figura 5:	Distribuição geográfica de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (Poir.) Kunth no mundo. Pontos amarelos indicam zonas frequentes e pontos laranjas zonas de distribuição muito frequentes.....	52
Figura 6:	<i>Lonchocarpus sericeus</i> (Poir.) Kunth. (A) Porte arbóreo; (B) Folhas; (C) Flores dotadas de estandarte; (D) Fruto característico, legume seco indeiscente.....	54
Figura 7:	Estratégia experimental para análise do extrato hexânico de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	64
Figura 8:	Cromatograma do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE). Análise realizada em cromatógrafo a gás e espectrômetro de massa (CG-MS)	81
Figura 9:	Compostos identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	82
Figura 10:	Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido oleico, componente majoritário presente no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	89
Figura 11:	Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido palmítico, segundo componente majoritário presente no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	90
Figura 12:	Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido beénico, terceiro componente majoritário presente no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	91

Figura 13:	Classes de alvos identificados <i>in sílico</i> para cada um dos componentes majoritários presentes no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE). (A) Ácido oleico. (B) Ácido palmítico. (C) Ácido beénico.....	92
Figura 14:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.....	96
Figura 15:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por etanol absoluto em camundongos. Fotomicrografias representativas dos estômagos após diferentes tratamentos.....	98
Figura 16:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.....	101
Figura 17:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.....	122
Figura 18:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por ácido acético em ratos. Fotomicrografias representativas dos estômagos após diferentes tratamentos.....	126
Figura 19:	Esquema representativo e resumido das propriedades do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	169

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.....	95
Gráfico 2:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	100
Gráfico 3:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o conteúdo de muco na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	102
Gráfico 4:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	103
Gráfico 5:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	104
Gráfico 6:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	105
Gráfico 7:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	106
Gráfico 8:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.....	107
Gráfico 9:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o conteúdo de muco na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.....	108

Gráfico 10:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina...	109
Gráfico 11:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.....	110
Gráfico 12:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.....	111
Gráfico 13:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.....	112
Gráfico 14:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.....	113
Gráfico 15:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.....	114
Gráfico 16:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.....	115
Gráfico 17:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.....	116
Gráfico 18:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com vermelho de rutênio.....	117

Gráfico 19:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o volume de secreção gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.....	118
Gráfico 20:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre a acidez gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.....	119
Gráfico 21:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o pH gástrico de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.....	120
Gráfico 22:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) na área (A) e volume (B) de lesões gástricas induzidas por ácido acético, em ratos, após sete dias de tratamento.....	123
Gráfico 23:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre a taxa de cicatrização de lesões gástricas induzidas por ácido acético, em ratos, após sete dias de tratamento.....	124
Gráfico 24:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o ganho de peso de animais tratados durante o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	128
Gráfico 25:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre o consumo de água (A) e sobre o consumo de ração (B) de animais tratados durante o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	129
Gráfico 26:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	133
Gráfico 27:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	134
Gráfico 28:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	135

Gráfico 29: Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	136
Gráfico 30: Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Equipamentos utilizados durante os experimentos.....	62
Tabela 2:	Componentes identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	83
Tabela 3:	Propriedades físico-químicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	84
Tabela 4:	Propriedades de absorção dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	85
Tabela 5:	Propriedades químico/biológicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	86
Tabela 6:	Possíveis interações metabólicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	86
Tabela 7:	Potencial de toxicidade dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	87
Tabela 8:	Descrição dos alvos identificados <i>in silico</i> para cada um dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	93
Tabela 9:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	99
Tabela 10:	Efeitos do extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por ácido acético em ratos.....	127
Tabela 11:	Peso relativo dos órgãos de ratos tratados com o extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético.....	131
Tabela 12:	Parâmetros bioquímicos séricos de ratos tratados com o extrato de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético.....	132

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADME/T	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
ADP	Difosfato de Adenosina
AINEs	Anti-Inflamatórios Não Esteroidais
ALT	Alanina Aminotransferase
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina Trifosfato
BIOCEN	Biotério Central
BIOPROSPEC	Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais
CAT	Catalase
CCK-2	Colecistocinina tipo 2
CETENE	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
CEUA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CG	Cromatografia Gasosa
CG-FID	Cromatógrafo a Gás com Detector de Ionização de Chama
CG-MS	Cromatógrafo a Gás e Espectrômetro de Massa
ChEMBL	Banco de dados de moléculas bioativas semelhantes a drogas
CONCEA	Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
COX	Ciclooxigenase
COX-2	Ciclooxigenase do tipo 2
CYP450	Citocromo P450
DTNB	5,5-Dithio-bis-(2-Nitrobenzoic acid)
E.P.M	Erro Padrão da Média
ECL	Células Enterocromafins
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EGF	Fator de Crescimento Epidermal
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
eNOS	Óxido Nítrico Sintase endotelial

EP1-EP4	Receptores de Prostaglandinas do tipo 1-4
EROs	Espécies Reativas do Oxigênio
FAME	“FAst MEtabolizer”
GC	Guanilato Ciclase
GMPc	Monofosfato Cíclico de Guanosina
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione Reduzida
GSSG	Glutathione Oxidada
GST	Glutathione S-transferase
H&E	Hematoxilina-Eosina
H ⁺ /K ⁺ ATPase	Bomba de Prótons
H2	Receptor de Histamina do tipo 2
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HTAB	Hexadeciltrimetilamônio
IBP	Inibidores da Bomba de Prótons
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular-1
IL-1β	Interleucina 1 Beta
InChi	“International Chemical identifier”
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzida
IRL	Índice de Retenção Linear
KATP	Canais de Potássio Sensíveis ao ATP
L-NAME	Nω-Nitro-L-Arginina Metil Éster
LsHE	Extrato Hexânico de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i>
M1-M4	Receptores Muscarínicos do tipo 1-4
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
mRNA	RNA mensageiro
NAC	N-Acetilcisteína
NaCl	Cloreto de Sódio
NBT	Azul de Nitrotetrazol
NDMA	N-nitrosodimetilamina
NERDD	Terceira geração do “FAst MEtabolizer”

NH ₄ Cl	Cloreto de Amônio
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia dos EUA
nNOS	Óxido Nítrico Sintase neuronal
NOS	Óxido Nítrico Sintase
O ²⁻	Ânion Superóxido
O ³	Ozônio
OECD	Organização de Cooperação e Desenvolvimento Econômico
ON	Óxido Nítrico
PA	Potencial de ser Ativo
PASS	“Prediction of Activity Spectra for Substances”
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PGE2	Prostaglandinas do tipo E2
PI	Potencial de ser Inativo
PKA	Proteína Quinase A
QSAR	“Quantitative structure–activity relationship”
SDS	“Sodium Dodecil Sulfate”
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
SMILES	“Simplified Molecular-Input Line-Entry System”
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Dismutase
SOMP	“Site of Metabolism Prediction”
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
TGI	Trato Gastrointestinal
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TRPV	Receptores Vanilóides Transitórios
UFC	Universidade Federal do Ceará
UG	Úlceras Gástricas
UV	Ultravioleta
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	29
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	31
2.1	Anatomia e fisiologia gástrica.....	31
2.2	Úlcera gástrica.....	35
2.3	Modelos animais para o estudo da úlcera gástrica.....	38
2.4	Mecanismos de defesa e de cicatrização da mucosa gástrica.....	41
2.5	Tratamento da úlcera gástrica.....	47
2.6	<i>Lonchocarpus sericeus</i> (Poir.) Kunth.....	51
3	JUSTIFICATIVA.....	58
4	OBJETIVOS.....	59
4.1	Objetivos gerais.....	59
4.2	Objetivos específicos.....	59
5	MATERIAIS.....	60
5.1	<i>Lonchocarpus sericeus</i>	60
5.1.1	Obtenção e processamento das sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i>	60
5.1.2	Preparação do extrato hexânico de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	60
5.2	Reagentes químicos.....	61
5.3	Animais de laboratório.....	61
5.4	Equipamentos utilizados.....	61
6	METODOLOGIA.....	63
6.1	Estratégia experimental.....	63
6.2	Caracterização química do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	63
6.2.1	Derivatização.....	63
6.2.2	Análise CG-MS e CG-FID.....	65
6.3	Análise <i>in sílico</i> dos componentes majoritários do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	65
6.3.1	Estrutura dos compostos.....	65
6.3.2	Parâmetros ADME/T.....	66
6.3.3	Biotransformação metabólica <i>in sílico</i>	66
6.3.4	Predição de alvos moleculares.....	67

6.4	Toxicidade aguda em camundongos.....	67
6.5	Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em camundongos.....	68
6.5.1	Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto.....	68
6.5.2	Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto.....	68
6.5.3	Lesões gástricas induzidas por indometacina.....	69
6.6	Avaliação do conteúdo de muco e de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação.....	70
6.6.1	Determinação do conteúdo de muco na barreira protetora gástrica.....	70
6.6.2	Determinação de malondialdeído.....	71
6.6.3	Determinação de glutathiona reduzida.....	71
6.6.4	Determinação da atividade da catalase.....	72
6.6.5	Determinação da atividade da superóxido dismutase.....	72
6.6.6	Determinação da atividade da mieloperoxidase.....	73
6.7	Avaliação dos mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor de LsHE em camundongos.....	73
6.7.1	Avaliação do papel das prostaglandinas.....	73
6.7.2	Avaliação do papel do Óxido Nítrico (NO)	74
6.7.3	Avaliação do papel dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (KATP).....	74
6.7.4	Avaliação do papel dos receptores TRPV.....	75
6.8	Determinação de volume gástrico, acidez e pH em camundongos.....	75
6.9	Avaliação da atividade cicatrizante gástrica em ratos.....	76
6.9.1	Lesão gástrica induzida por ácido acético 80%.....	76
6.9.2	Análise histológica da lesão gástrica induzida por ácido acético 80%.....	77
6.10	Efeito de LsHE sobre parâmetros indicativos de toxicidade no protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético 80% em ratos.....	78
6.10.1	Avaliação do efeito de LsHE sobre o peso dos animais, consumo de água e de ração.....	78
6.10.2	Avaliação do efeito de LsHE sobre o peso relativo dos órgãos.....	78
6.10.3	Avaliação do efeito de LsHE sobre parâmetros bioquímicos indicativos de toxicidade.....	79
6.11	Avaliação de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação na lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos.....	79

6.12	Análise estatística.....	80
7	RESULTADOS.....	81
7.1	Composição química do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE).....	81
7.2	Análise <i>in sílico</i> dos componentes majoritários do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE)	82
7.2.1	Parâmetros ADME/T.....	82
7.2.2	Biotransformação metabólica <i>in sílico</i>	87
7.2.3	Predição de alvos moleculares.....	88
7.3	Toxicidade aguda do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em camundongos.....	94
7.4	Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> em camundongos.....	94
7.4.1	Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por etanol absoluto.....	94
7.4.2	Efeito de LsHE sobre as alterações histológicas induzidas por etanol absoluto.....	97
7.4.3	Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por indometacina.....	97
7.5	Efeito de LsHE sobre o conteúdo de muco após o protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	102
7.6	Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.....	103
7.6.1	Níveis de malondialdeído.....	103
7.6.2	Níveis de glutathiona reduzida.....	104
7.6.3	Estimativa da atividade da catalase.....	105
7.6.4	Estimativa da atividade da superóxido dismutase.....	106
7.6.5	Estimativa da atividade da mieloperoxidase.....	107
7.7	Efeito de LsHE sobre o conteúdo de muco após o protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	108
7.8	Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	109
7.8.1	Níveis de malondialdeído.....	109

7.8.2	<i>Níveis de glutathiona reduzida</i>	110
7.8.3	<i>Estimativa da atividade da catalase</i>	111
7.8.4	<i>Estimativa da atividade da superóxido dismutase</i>	112
7.8.5	<i>Estimativa da atividade da mieloperoxidase</i>	113
7.9	Possíveis mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor de LsHE em camundongos	114
7.9.1	<i>Participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor de LsHE</i>	114
7.9.2	<i>Participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor de LsHE</i>	115
7.9.3	<i>Participação dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP no efeito gastroprotetor de LsHE</i>	116
7.9.4	<i>Participação dos receptores TRPV no efeito gastroprotetor de LsHE</i>	117
7.10	Efeito de LsHE sobre o volume gástrico, a acidez e o pH em camundongos	118
7.11	Avaliação da atividade cicatrizante do extrato de <i>Lonchocarpus sericeus</i> (LsHE) em ratos	121
7.11.1	<i>Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por ácido acético</i>	121
7.11.2	<i>Efeito de LsHE sobre as alterações histológicas induzidas por ácido acético</i> ...	124
7.12	Avaliação do efeito de LsHE sobre parâmetros indicativos de toxicidade após o protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos	128
7.12.1	<i>Efeito de LsHE sobre o peso dos animais, consumo de água e de ração</i>	128
7.12.2	<i>Efeito de LsHE sobre o peso relativo dos órgãos</i>	130
7.12.3	<i>Efeito de LsHE sobre parâmetros bioquímicos indicativos de toxicidade</i>	130
7.13	Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos	133
7.13.1	<i>Níveis de malondialdeído</i>	133
7.13.2	<i>Níveis de glutathiona reduzida</i>	134
7.13.3	<i>Estimativa da atividade da catalase</i>	135
7.13.4	<i>Estimativa da atividade da superóxido dismutase</i>	136
7.13.5	<i>Estimativa da atividade da mieloperoxidase</i>	137
8	DISCUSSÃO	138
9	CONCLUSÕES	168

REFERÊNCIAS.....	170
ANEXO I.....	190
Aprovação da comissão de ética no uso de animais.....	190

1. INTRODUÇÃO

A úlcera gástrica é uma doença prevalente no mundo inteiro, esta doença caracteriza-se por uma lesão que afeta toda a integridade da mucosa, podendo estender-se desde o lúmen do estômago até às camadas musculares (BENVENUTTI *et al.*, 2020). As úlceras ocorrem quando existe um desequilíbrio entre os mecanismos protetores e os fatores agressores presentes no estômago. Entre os mecanismos de proteção gástrica estão a produção de mucinas, a liberação de peptídeos e prostaglandinas, a renovação celular contínua e o fluxo sanguíneo adequado. Por outro lado, entre os fatores agressivos estão a liberação excessiva de ácido clorídrico, a ingestão de álcool, o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e a presença da bactéria *Helicobacter pylori* (AZIZ *et al.*, 2019; HE *et al.*, 2022). Embora vários mecanismos estejam relacionados à patogênese das úlceras gástricas, todos eles convergem de forma a causar um comprometimento da camada protetora de células epiteliais, levando a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a um consequente aumento do estresse oxidativo na região (DEJBAN *et al.*, 2020).

Antigamente, as úlceras eram controladas cirurgicamente e isso causava altas taxas de morbidade e mortalidade. A introdução dos antagonistas dos receptores H₂ de histamina causou uma diminuição de 85% nos processos cirúrgicos para o tratamento desta doença (FAZALDA *et al.*, 2018; KUNA *et al.*, 2019). Atualmente, o tratamento medicamentoso é indicado para gastrites e úlceras não complicadas e inclui, além dos antagonistas dos receptores H₂, antiácidos, inibidores da bomba de prótons (IBPs) e antibióticos quando for verificada a presença de *H. pylori*. No entanto, esses medicamentos podem ter eficácia limitada, gerar reações adversas e interações medicamentosas (PARK *et al.*, 2019). Desta forma, têm sido estimuladas pesquisas relacionadas a terapias alternativas, que sejam eficazes, mas que gerem menos efeitos colaterais (ZHOU *et al.*, 2020). Várias plantas já foram descritas na literatura como detentoras de propriedades antiulcerogênicas e estas agem através de diversos mecanismos, principalmente devido ao aumento de fatores protetores da mucosa gástrica, de efeitos anti-inflamatórios e de propriedades antioxidantes (KUNA *et al.*, 2019).

Lonchocarpus sericeus (Poir.) Kunth é uma espécie da família Fabaceae, que está presente principalmente na América central, América do Sul e no Continente Africano. No Brasil sua distribuição é bem frequente, sendo conhecida no sertão nordestino como “ingazeiro” (GBIF SECRETARIAT, 2022; TOZZI, 1989). A planta é popularmente utilizada na África para tratar a epilepsia, para estimular o apetite, para tratar distúrbios estomacais e constipação

intestinal (OYEDEJI *et al.*, 2015). As folhas são usadas como remédio de amplo espectro e a casca é usada para tratar dores no corpo, artrite, reumatismo, desnutrição e algumas doenças de pele (ABDULLAHI *et al.*, 2021; EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020). As sementes de *L. sericeus* são ricas em fitoquímicos como flavonóides, antocianinas, carotenoides e várias vitaminas, sendo consideradas uma boa fonte de antioxidantes com alta capacidade de sequestrar radicais livres (OYEDEJI *et al.*, 2015). Na literatura, *L. sericeus* é caracterizado pela presença de atividade antiagregante plaquetária (FONTENELE *et al.*, 2005), hepatoprotetora (AGBONON; GBEASSOR, 2009), antiedematogênica (FONTENELE *et al.*, 2009), anti-inflamatória (EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020), analgésica (EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020) e anticonvulsivante (ABDULLAHI *et al.*, 2021). Essas atividades foram descritas em vários extratos, frações e constituintes isolados de raízes, cascas e folhas de *L. sericeus*.

Apesar do relato de uso popular de *L. sericeus* no tratamento de distúrbios gástricos, ainda há poucas informações sobre seu real potencial farmacológico e, principalmente, sobre os mecanismos de ação por trás deste potencial. Este estudo, portanto, avaliou o efeito protetor e/ou cicatrizante gástrico de um extrato de sementes de *L. sericeus* e sugeriu alguns mecanismos envolvidos por trás desta atividade.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

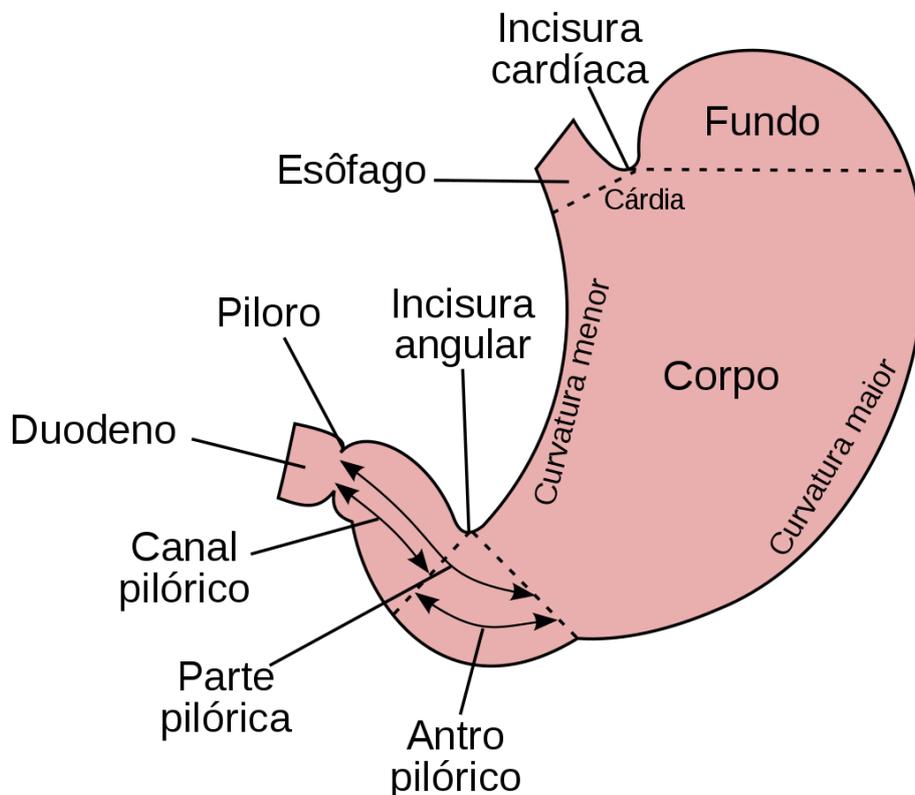
2.1 Anatomia e fisiologia gástrica

O sistema digestivo inclui o trato gastrintestinal (TGI) e os órgãos acessórios da digestão, glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas. O TGI atravessa a cavidade torácica, onde fica localizado o esôfago, e a cavidade abdominal, que acomoda o estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (cécum, cólon, reto, canal anal e ânus). A função geral do TGI é digerir os nutrientes ingeridos, por meio de complexos processos de secreção de enzimas digestivas, e absorver os nutrientes essenciais (carboidratos, proteínas, gorduras, minerais e vitaminas) (MEERVELD; JOHNSON; GRUNDY, 2017).

O estômago é a estrutura mais dilatada do TGI. Todos os vertebrados com mandíbulas possuem estômago como uma porção muscular caracteristicamente curvada do canal alimentar proximal. Esta estrutura é importante para o armazenamento de alimentos e principalmente para uma digestão preliminar em um ambiente ácido (KIM; SHIVDASANI, 2016). Anatomicamente, conforme podemos visualizar na figura 1, o estômago humano é dividido basicamente em três regiões anatômicas: cárdia, fundo/corpo e antro. Ele também apresenta uma curvatura maior, na margem esquerda gástrica, e uma curvatura menor, na direita. A cárdia fica próxima a região da junção gastresofágica e suas glândulas secretam principalmente muco. O fundo/corpo compreende cerca de 80% do estômago e contém as glândulas oxínticas. O antro é a região localizada próximo ao esfíncter pilórico, que separa o estômago do duodeno, e contém as glândulas pilóricas (SHEH; FOX, 2013).

A digestão é a principal função do estômago. Para isso, a mucosa e os músculos estomacais, são responsáveis pelas secreções gástricas para dissolver o alimento e pelas contrações para triturar e empurrar o alimento até o esfíncter pilórico (SENSOY, 2021). O suco gástrico, secretado pelo estômago, é composto principalmente por ácido clorídrico e por enzimas proteolíticas, que fornecem o ambiente necessário para a desnaturação de proteínas e facilitam a absorção de nutrientes. Esse ambiente ácido também desempenha um papel importante auxiliando na eliminação de microrganismos patogênicos que podem ser ingeridos (SHEH; FOX, 2013).

Figura 1: Desenho esquemático do estômago humano delimitando diferentes regiões.



FONTE: Imagem da internet <<https://aprenda.bio.br/anatomia/anatomia-e-estruturas-do-estomago/>>

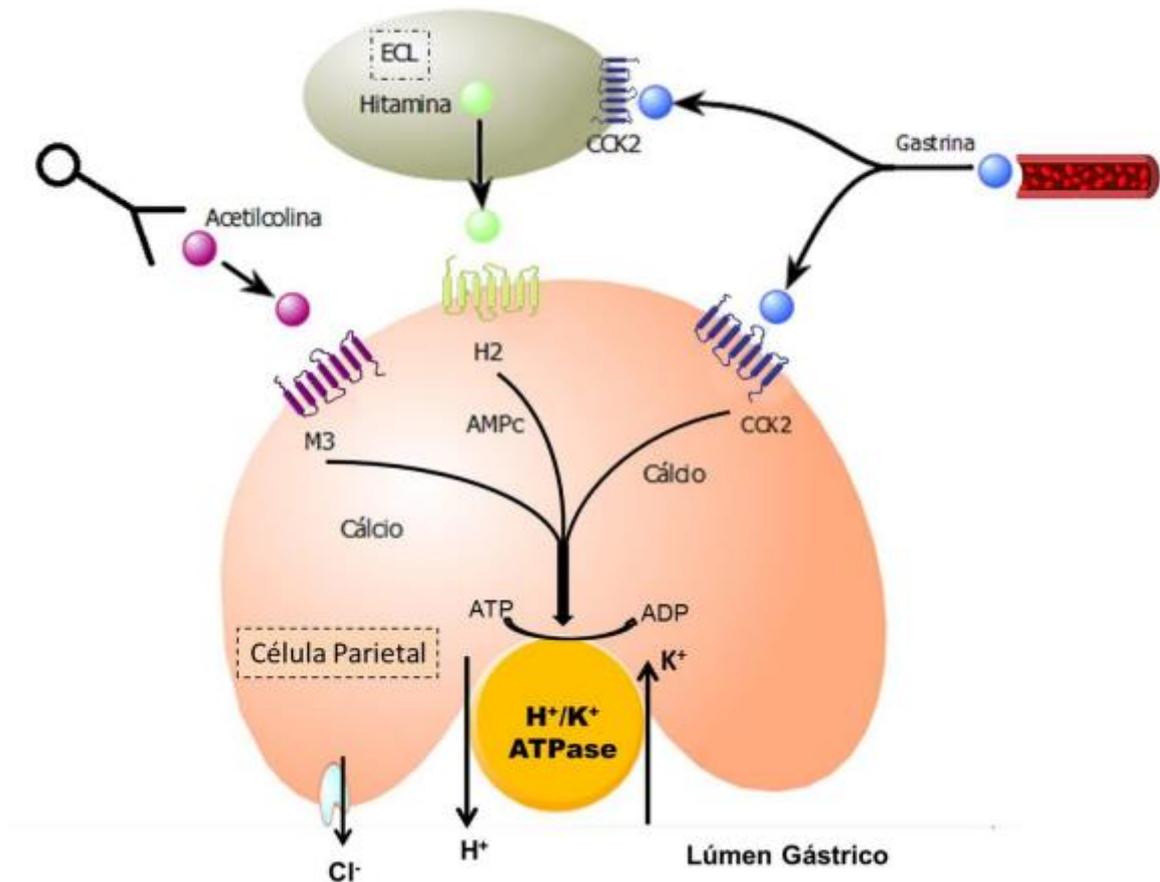
A mucosa gástrica secreta de 1,2 a 1,5 litros de suco gástrico por dia. Durante a digestão, o pH do lúmen estomacal alcança valores entre 1 e 2 e isso requer células especializadas. As células parietais são as responsáveis por produzir e secretar grandes quantidades de íons de Cl^- e de H^+ e por manter o ambiente ácido do estômago (SCHUBERT, 2010). O processo de secreção gástrica consiste em três fases: cefálica, gástrica e intestinal. A fase cefálica começa antes que o alimento chegue ao estômago, sendo ativada pelos sentidos da visão, olfato e paladar. A fase gástrica se inicia com a presença dos alimentos, sendo responsável por 70% da secreção. A fase intestinal começa quando o alimento começa a chegar ao duodeno, envolvendo principalmente processos inibitórios da secreção (SENSOY, 2021).

A secreção de ácido gástrico deve ser rigorosamente regulada para não exceder os fatores de proteção da mucosa gástrica. Um desequilíbrio nos mecanismos de proteção ou sobre a regulação da secreção de ácido pode levar a doenças gastrointestinais como úlceras gástricas (EL-SERAG *et al.*, 2014). Existem vários mecanismos que regulam a secreção gástrica, mecanismos parácrinos (histamina), endócrinos (gastrina) e neurais (acetilcolina). Esses

mecanismos envolvem a intercomunicação de células parietais com células especializadas da mucosa gástrica (células enterocromafins - ECL no corpo/fundo do estômago, células G no antro e células D no antro e corpo/fundo do estômago) e neurônios (ARIN *et al.*, 2017).

Os moduladores da secreção ácida gástrica podem atuar estimulando ou inibindo a secreção. A acetilcolina, gastrina e histamina são as principais moléculas que atuam estimulando a bomba de prótons e consequentemente controlando a secreção de ácido clorídrico pela célula parietal (Figura 2). Essas moléculas interagem com receptores presentes nas células parietais associados a duas grandes vias de transdução de sinal: a via dependente do monofosfato cíclico de adenosina (AMPC), onde a histamina age, e a via de sinalização dependente de cálcio, onde agem acetilcolina e gastrina. As duas vias ativam as proteínas quinases e resultam na ativação da bomba de prótons ($H^+ / K^+ -ATPase$) (BITZIOU; PATEL, 2012).

Figura 2: Mecanismos de controle da secreção de ácido gástrico pelas células parietais.



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).

A acetilcolina é um neuroquímico com diversas funções no cérebro e em outros sistemas orgânicos do corpo. Este neurotransmissor é liberado por fibras pós-sinápticas de neurônios do sistema nervoso central (SNC) e entérico principalmente durante a fase cefálica da secreção de suco gástrico. Ele estimula a secreção gástrica de duas maneiras: Diretamente, via receptor muscarínico M3 na célula parietal; e indiretamente, via receptor M1 nas células enterocromafins (ECL) estimulando a secreção de histamina. Os receptores muscarínicos M2 e M4 também estimulam de forma indireta a secreção gástrica através da inibição da secreção de somatostatina, um hormônio inibidor da secreção gástrica. A somatostatina age principalmente durante a fase intestinal, inibindo a secreção de gastrina e de histamina e, desta forma, reduzindo a secreção ácida (SAM; BORDONI, 2022).

A gastrina é o principal hormônio envolvido na indução da secreção ácida gástrica, ela é um estimulador endógeno que também pode induzir a secreção por mecanismos diretos e mecanismos indiretos. A gastrina é liberada tanto durante a fase cefálica, como durante a fase gástrica (CZINN; BLANCHARD, 2011). Este hormônio é secretado pelas células G do estômago e atua de maneira direta ligando-se a receptores de colecistocinina tipo 2 (CCK-2) nas células parietais, e de maneira indireta quando se liga a receptores CCK-2 encontrados nas células enterocromafins (ECL). Esta ligação nas células ECL estimula os receptores a secretarem histamina e induz a secreção de ácido clorídrico pelas células parietais, sendo o principal mecanismo por trás da secreção de suco gástrico (FOURMY; GIGOUX; REUBI, 2011).

A histamina medeia inúmeras funções no organismo através de seus quatro subtipos de receptores acoplados à proteína G transmembrana. O receptor de histamina do tipo 2 (H2) está envolvido na produção de ácido gástrico e, por conta disso, esse receptor é o alvo farmacológico de diversos medicamentos (ALONSO *et al.*, 2015). Como citado anteriormente, a secreção de histamina estimulada pela gastrina é o principal mecanismo de secreção gástrica. A histamina fica armazenada em vesículas secretoras presentes nas células ECL e quando esta célula é estimulada pela gastrina ocorre a sua liberação e posterior ligação aos receptores H2 presentes nas células parietais (FALUS; POS; DARVAS, 2011). Quando os receptores H2 são ativados pela histamina eles induzem um aumento na concentração citosólica de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc). O AMPc aumenta as concentrações intracelulares de cálcio, ativa a proteína quinase A (PKA) e esta fosforila proteínas envolvidas no processo de ativação da bomba de prótons, consequentemente isso resulta na liberação da secreção ácida gástrica (ALONSO *et al.*, 2015).

De forma bem geral, a bomba de prótons ($H^+ / K^+ -ATPase$) pode ser ativada de três maneiras: através da ligação da acetilcolina a receptores M3, através da ligação de gastrina a receptores CCK2 e através da ligação de histamina a receptores H2. A histamina eleva as concentrações intracelulares de AMPc e a acetilcolina e a gastrina elevam as concentrações intracelulares diretamente de cálcio. Tudo isso acarreta a ativação da bomba prótons. No estado de repouso, essa bomba fica em compartimentos vesiculares citoplasmáticos da célula parietal. Quando a célula parietal recebe o estímulo secretor pela ligação de algum dos agentes moduladores, as vesículas movem-se para a região apical das células e se fundem a membrana plasmática ativando o funcionamento da bomba (IMHANN *et al.*, 2016; SANTOS; RAO, 2016).

A meia-vida da bomba prótons é de apenas 50 horas e estima-se que aproximadamente 25% das bombas de prótons são sintetizadas todos os dias (IMHANN *et al.*, 2016). Essa bomba troca íons de hidrogênio intracelulares (H^+) por íons de potássio extracelulares (K^+) e isso ocorre contra um gradiente de concentração, na forma de transporte ativo, consumindo para isso adenosina trifosfato (ATP). Este mecanismo ocorre juntamente com extrusão do íon cloro (Cl^-) via canais de cloreto e potássio também na membrana apical das células parietais. Os íons Cl^- se associam aos íons H^+ para formar, no lúmen gástrico, a solução de ácido clorídrico presente na secreção gástrica e essencial para a digestão dos alimentos (SHIN; KIM, 2013).

2.2 Úlcera gástrica

A úlcera é um distúrbio gastrointestinal prevalente no mundo inteiro e suas complicações aumentaram muito nas últimas décadas, sendo inclusive, causas de morbimortalidade. É uma das doenças mais dolorosas e de acordo com uma nova estatística afetará 1 em cada 10 pacientes durante a vida (BEIRANVAND, 2022; PARK *et al.*, 2019). No Brasil apesar de ser uma doença frequente, sua prevalência é desconhecida, pois são poucos os estudos de base populacional que quantificam sua magnitude. A doença é considerada um relevante problema de saúde pública, frequentemente associada à perda na qualidade de vida e crescentes gastos no tratamento das suas complicações (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

A apresentação típica de um paciente com úlcera é a dor epigástrica que piora após a alimentação. Geralmente também ocorre náusea leve e saciedade precoce, onde o indivíduo relata se sentir satisfeito mais cedo ou depois de comer uma quantidade bem menor que a habitual. Os pacientes costumam descrever a dor como aguda ou ardente que normalmente não

irradia. O achado mais comum no exame físico é a sensibilidade epigástrica. Os sintomas podem continuar por semanas ou meses antes que os pacientes procurem ajuda médica (WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022). Pacientes com úlcera péptica não tratada geralmente apresentam sintomas recorrentes devido a cura espontânea e recaída enquanto o fator causal persiste. Sangramento, perfuração ou obstrução da saída gástrica são as principais complicações da doença (LANAS; CHAN, 2017).

As úlceras são geralmente encontradas no estômago ou no duodeno. Quando encontradas no estômago são chamadas de úlceras gástricas, quando encontradas no duodeno são chamadas de úlceras duodenais. As úlceras também podem ocorrer no esôfago e no divertículo de Meckel (SOUZA *et al.*, 2016). As úlceras gástricas se apresentam como uma quebra na barreira mucosa do revestimento do estômago e tem diâmetro superior a 5 mm. Acometem toda a espessura da mucosa, incluindo camadas mais profundas da parede gástrica e podendo atingir a camada muscular (BENVENUTTI *et al.*, 2020). Do ponto de vista histopatológico, a úlcera possui margens claras que penetram na submucosa e no músculo. Frequentemente estão presentes detritos inflamatórios na superfície epitelial e na submucosa. Também podemos encontrar diversos pontos de fibrose e vasos sanguíneos espessados (WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022).

A lesão normalmente ocorre quando existe um desequilíbrio entre os mecanismos protetores e os fatores agressivos do sistema gástrico. A mucosa gástrica apresenta diversos mecanismos de defesa responsáveis pela manutenção da sua integridade. No entanto, alterações nessas defesas devido a presença de um ou mais fatores agressores podem causar erosão e ulceração. Muitas vezes a doença é multifatorial e resulta da interação de diversos fatores agressores juntos (LIU *et al.*, 2015; MIRANDA *et al.*, 2015).

Os fatores de risco para o desenvolvimento de úlceras gástricas são principalmente a idade e a cronicidade do uso de AINEs. O tabagismo também é um fator importante para o seu desenvolvimento, aumentando o risco relativo em duas vezes, em relação a não fumantes. Não existem diferenças relacionadas ao sexo, portanto a prevalência de úlceras gástricas entre homens e mulheres é semelhante. Nos Estados Unidos, a prevalência de úlceras gástricas em indivíduos com 60 anos ou mais se aproxima de 50%. As estimativas também estipulam que cerca de 25% dos usuários crônicos de AINEs, desenvolverão úlceras gástricas em algum momento da vida (KAYALI *et al.*, 2018).

É importante entender que essa doença é evitável e tratável. Os pacientes podem ser tratados de maneiras diferentes, dependendo da etiologia da sua úlcera. Desta forma, a causa

que realmente ocasionou a doença deve ser investigada antes do início do tratamento (WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022). As etiologias mais comuns das úlceras gástricas incluem uma infecção bacteriana por *Helicobacter pylori* e a perda de prostaglandinas gástricas associada ao uso de AINES. Etiologias menos comuns incluem infecção viral por citomegalovírus, radiação, quimioterapia, obstrução da saída gástrica, câncer e doença de Crohn. O fator comum a essas etiologias é que elas promovem a ruptura da barreira e expõem a mucosa gástrica aos efeitos prejudiciais do ácido naturalmente presente no estômago (SCIDA *et al.*, 2018).

Cerca de 80 a 90% das úlceras gástricas resultam de *H. pylori* e/ ou do uso de AINES. *H. pylori* é uma bactéria em forma de espiral que cresce no trato digestivo. Segundo Barchi *et al.* (2018), esta bactéria está presente na mucosa do estômago de 45 a 50% dos seres humanos em todo o mundo. As baixas condições socioeconômicas na infância são os fatores de risco mais importantes para a infecção por *H. pylori* (EUSEBI; ZAGARI; BAZZOLI, 2014). Trata-se de uma bactéria com a qual as pessoas têm contato ainda muito jovens, especialmente em países em desenvolvimento e/ ou com status socioeconômico baixo e agregados familiares com muitas pessoas (BARCHI *et al.*, 2018). Embora a maneira de transmissão da infecção ainda não seja clara, a transmissão interpessoal parece ser a rota principal. A bactéria pode ser transmitida de pessoa para pessoa através do contato direto com saliva, vômito ou matéria fecal (DIACONU *et al.*, 2017; EUSEBI; ZAGARI; BAZZOLI, 2014).

As características clínicas de uma infecção por *H. pylori* variam de gastrite assintomática a graves doenças gastrointestinais (DIACONU *et al.*, 2017). Embora as infecções normalmente não apresentem sintomas, podem facilmente levar a gastrites complicadas e úlceras (AMERICAN COLLEGE OF PHYSICIANS, 2015). Essas bactérias induzem uma resposta inflamatória no hospedeiro que leva a uma resposta epitelial com degeneração e lesão do tecido. A sintomatologia vai depender da virulência das bactérias presentes e de fatores endógenos dos mecanismos de defesa do próprio hospedeiro (BARCHI *et al.*, 2018).

A infecção por *H. pylori* vem diminuindo constantemente nas últimas décadas, principalmente nos países industrializados, enquanto a prevalência de úlcera associada ao uso de AINES está aumentando (CARLI *et al.*, 2015). AINES como indometacina e ibuprofeno, estão entre os fármacos mais utilizados no mundo. Estes medicamentos são utilizados como agentes antipiréticos, anti-inflamatórios e analgésicos. Eles são utilizados no tratamento de dores musculares, condições artríticas, dismenorrea, enxaquecas, após trauma agudo, dentre outros (GHLICHLOO; GERRIETS, 2022). Os AINES são a segunda causa mais comum de úlceras gástricas no mundo. Eles têm boa eficácia e uma longa história de uso clínico, mas

podem causar úlceras que podem chegar a ter complicações fatais. Devido ao uso generalizado de AINEs, as toxicidades gastrointestinais associadas têm implicações substanciais para o sistema de saúde (ATCHISON; HERNDON; RUSIE, 2013).

Os pacientes que usam AINEs têm um risco relativo multiplicado por quatro para o desenvolvimento de úlceras gástricas, quando comparados às pessoas que não usam. No entanto, a toxicidade gastrointestinal com o uso destes medicamentos é mais alta em pacientes com fatores de risco (CASTELLSAGUE *et al.*, 2012). O uso concomitante de AINEs com inibidores seletivos da recaptção de serotonina, corticosteroides, antagonistas da aldosterona ou anticoagulantes também aumenta substancialmente o risco de sangramento gastrointestinal (MASCLEE *et al.*, 2014). Em pacientes usuários de AINEs, mas que não apresentam fatores de risco, apenas 0,4% apresentam eventos adversos. No entanto, o risco sobe para 9% nos pacientes com múltiplos fatores de risco (BHALA *et al.*, 2013).

2.3 Modelos animais para o estudo da úlcera gástrica

Os modelos animais desempenham um papel significativo nas pesquisas que visam entender a úlcera gástrica. É necessário ter modelos experimentais credíveis que possam ser usados para avaliar compostos com potencial atividade na proteção e no tratamento de úlceras. Os modelos animais também podem servir como ferramentas para ajudar a entender melhor os mecanismos fisiopatológicos por trás da lesão, como mecanismos antissecretores, gastrocitoprotetores, gastrocicatrizantes e antioxidantes subjacentes a compostos com efeitos antiulcerosos (ADINORTEY *et al.*, 2013).

As úlceras gástricas podem ser induzidas em diversas espécies animais, mas a maioria dos experimentos é realizada em roedores. A escolha de um modelo animal adequado pode ser bastante difícil já que cada modelo apresenta suas vantagens e suas desvantagens (ADINORTEY *et al.*, 2013). O uso de diferentes modelos, em um mesmo estudo, deve ser considerado para investigar e tratar as lesões da mucosa gástrica. Os modelos mimetizam lesões fisiológicas, mas cada modelo possui características distintas de lesão, então podem e devem ser utilizados de forma complementar (SIMÕES *et al.*, 2019).

Dentre os modelos experimentalmente utilizados para testar ou avaliar o potencial anti-úlcera dos compostos temos: úlceras gástricas induzidas por etanol, úlceras gástricas induzidas por AINEs, úlceras gástricas induzidas por estresse de imersão em água ou estresse de restrição e frio, úlceras gástricas induzidas por ácido acético, úlceras gástricas induzidas por histamina,

úlceras pépticas induzidas por ligação do piloro, úlceras gástricas induzidas por reserpina, úlceras gástricas induzidas por serotonina, úlceras pépticas induzidas por dietilditiocarbamato (DDC), úlceras induzidas por azul de metileno, úlceras gástricas induzidas por isquemia-reperfusão, úlceras duodenais induzidas por cisteamina, úlceras duodenais induzidas por indometacina-histamina, úlceras gástricas induzidas por ácido ferro-ascórbico, úlceras induzidas por ácido acético mais *H. pylori* (ADINORTEY *et al.*, 2013).

Dentre os modelos apresentados, os mais utilizados, sozinhos ou em associação, são os modelos de úlceras gástricas induzidas por etanol, por AINEs, por estresse de imersão em água ou de restrição e frio e por ácido acético. Esses modelos são relativamente simples e altamente reproduzíveis, além disso, a formação das lesões ulcerativas através deste modelos envolve um desequilíbrio entre os fatores agressores e os mecanismos protetores da mucosa gástrica, da mesma forma em que ocorrem as lesões nos seres humanos (ALMEIDA *et al.*, 2012).

O modelo de lesão gástrica induzida por etanol é amplamente utilizado principalmente pelos rápidos resultados, já que o etanol induz úlceras por ação direta sobre a mucosa. Há muito tempo se sabe que o consumo de álcool pode desencadear a inflamação da mucosa gástrica, então etanol foi um dos primeiros agentes utilizados quando se trata da indução de úlcera. O etanol penetra no tecido gástrico e causa danos diretos as membranas. Esses danos aumentam a permeabilidade da mucosa ao ácido gástrico presente no estômago e isto, juntamente com a liberação de produtos vasoativos de mastócitos, macrófagos e células sanguíneas, leva à necrose das células e conseqüentemente à formação de úlceras gástricas (REPETTO; LLESUY, 2002; SIMÕES *et al.*, 2019).

O etanol também estimula a secreção ácida gástrica, causa desequilíbrios nos processos antioxidantes celulares e reduz o fluxo sanguíneo, levando a lesões microvasculares. O modelo de lesão gástrica induzida por etanol pode não ser útil ou apropriado durante a avaliação de compostos que agem através de características anti-secretoras. No entanto, esse modelo é bastante útil e amplamente utilizado para estudar a eficácia de compostos que possuam potenciais atividades citoprotetoras e principalmente atividades antioxidantes (ADINORTEY *et al.*, 2013).

A indução de úlcera gástrica é um dos principais efeitos adversos causados pelos AINEs (BI; MAN; MAN, 2014). Existem vários mecanismos pelos quais os AINEs levam à ulceração. Estes medicamentos são ácidos fracos que levam a um aumento da permeabilidade celular e a uma lesão física das células epiteliais (LANAS; CHAN, 2017). Além disso, o mecanismo da ulceração induzida por AINEs também inclui a diminuição da síntese de prostaglandinas. Os

AINEs atuam inibindo a enzima ciclooxigenase (COX) que é responsável pela síntese de prostaglandinas. A inibição da secreção de prostaglandinas, principalmente de PGE2, e de seus efeitos citoprotetores na mucosa gástrica aumenta a suscetibilidade do tecido à lesão (BRUNE; PATRIGNANI, 2015; WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022).

O modelo de lesão gástrica induzida por AINES geralmente utiliza indometacina, aspirina ou ibuprofeno, estes medicamentos levam de 5 a 8 horas para induzir a ulceração do tecido. Este modelo é importante na investigação de compostos citoprotetores e principalmente de compostos com potencial de agentes antissecretores. A fisiopatologia por trás deste modelo envolve os danos a mucosa causados pelo ácido gástrico em resposta a diminuição da síntese de prostaglandinas, portanto, agentes que modulam essa secreção podem atuar de forma satisfatória (ADINORTEY *et al.*, 2013).

Vários estressores físicos e psicológicos causam ulceração gástrica em humanos, e modelos animais também foram desenvolvidos para imitar a condição dessa doença (DEMIRBILEK *et al.*, 2004). A fisiopatologia das úlceras induzidas por estresse é complexa, no entanto, geralmente estas são associadas principalmente a um aumento na liberação de histamina, com consequente aumento da secreção ácida, e a uma redução da produção de muco. Devido ao papel crítico que o muco desempenha na proteção do estômago e na cicatrização da mucosa, o modelo é recomendado para uso na avaliação de agentes citoprotetores e com potencial cicatrizante (ADINORTEY *et al.*, 2013).

A maioria das lesões ulcerativas nos modelos experimentais cicatrizam rapidamente em poucos dias. Essas lesões não formam cicatriz e nem voltam a ulcerar novamente de forma espontânea (ADINORTEY *et al.*, 2013). O modelo de lesões gástricas induzidas por ácido acético produz lesões arredondadas e bastante profundas através da injeção ou da aplicação tópica de uma solução de ácido acético diretamente no estômago (MAENG *et al.*, 2013). O procedimento de indução de lesão nos animais é relativamente simples, o tamanho e a severidade da úlcera formada variam pouco e a incidência da ocorrência da lesão é de praticamente 100% (GONÇALVES, 2017).

O modelo de úlcera induzida por ácido acético é o que mais se aproxima em similaridades macroscópica e microscópica com a úlcera gástrica encontrada em humanos. Este modelo mimetiza a lesão gástrica em humanos tanto no aspecto patológico da lesão como nos processos de cura e de recorrência (BONAMIN *et al.*, 2011; DA LUZ *et al.*, 2021). Esse modelo de úlcera experimental é considerado crônico devido à sua persistência por um longo período de tempo (BI; MAN; MAN, 2014). Devido à elevada semelhança com as úlceras humanas, esse

modelo foi considerado o mais adequado para uso na avaliação de agentes com potenciais efeitos antissecretores e com potencial efeito na cicatrização de úlceras crônicas (ADINORTEY *et al.*, 2013).

2.4 Mecanismos de defesa e de cicatrização da mucosa gástrica

A mucosa gástrica é constantemente exposta a diversos fatores agressores, sejam eles de origem endógena, como o próprio ácido clorídrico e a pepsina, ou exógena, como estresse, álcool, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), bactérias como *Helicobacter pylori*, dentre outros. Por conta disso, existem diversos mecanismos de defesa responsáveis pela manutenção da integridade do tecido gástrico. Esses mecanismos incluem muco, bicarbonato e fosfolipídios que formam uma barreira protetora, produção de prostaglandinas, produção de óxido nítrico, produção de enzimas antioxidantes, mecanismo de renovação constante do epitélio através de proliferação celular, dentre outros (AZIZ *et al.*, 2019; YANDRAPU; SAROSIEK, 2015).

Para evitar os danos à mucosa que poderiam ser causados tanto pelo ácido clorídrico, como pelas pepsinas presentes no próprio suco gástrico, as células mucosas do estômago geram uma camada de muco alcalino que reveste o epitélio (SHEH; FOX, 2013). Este muco é composto basicamente por água e mucinas, que se polimerizam para dar a consistência viscosa característica. As propriedades únicas do muco permitem que o ácido clorídrico flua das células parietais para o lúmen gástrico, mas não permitem que o ácido penetre na camada de muco. A barreira de muco atua, portanto, neutralizando ácidos, impedindo a difusão de moléculas de pepsina para o epitélio subjacente à superfície da mucosa e por ser hidrofóbica, impedindo a difusão do íon H^+ (SQUIRE *et al.*, 2013).

As células epiteliais da superfície do estômago também secretam bicarbonato e este gera um gradiente de pH muito importante na proteção gástrica. Na camada mucosa o pH é quase neutro (pH 7), enquanto no lado do lúmen gástrico a acidez é bem alta (pH 2) (SENSOY, 2021). Esse gradiente de pH na superfície epitelial do estômago fornece defesa contra o ácido e contra a pepsina luminal, sendo apontado como o principal mecanismo de proteção contra a digestão proteolítica do epitélio da mucosa gástrica (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). A perda da integridade desta camada de muco e bicarbonato, tal como ocorre na presença de úlcera gástrica, dificulta a neutralização intracelular do ácido e os processos de cicatrização do tecido (SAID; KAJI; KAUNITZ, 2015).

Além da barreira de muco gástrico, as prostaglandinas também são importantes mecanismos de defesa da mucosa. As prostaglandinas são produzidas a partir da clivagem dos fosfolípidios de membrana pelas duas isoformas da ciclooxigenase (COX). Elas são derivadas do ácido araquidônico e produzidas em resposta a diferentes estímulos, incluindo vários agentes hormonais, químicos e físicos. As prostaglandinas protegem a mucosa gástrica através da regulação da secreção de ácido clorídrico, do estímulo à produção de muco e bicarbonato pelas células epiteliais da mucosa, da manutenção do fluxo sanguíneo e do controle da motilidade gástrica (TAKEUCHI; AMAGASE, 2018).

As prostaglandinas do tipo E2 (PGE2) são as mais efetivas na proteção da mucosa (TARNAWSKI; AHLUWALIA; JONES, 2013). Estas prostaglandinas possuem a capacidade de estimular uma reação em um tipo de tecido e inibir a mesma reação em outro tipo de tecido. Essa capacidade é determinada pelo tipo de receptor ao qual a prostaglandina se liga. Para exercer suas ações biológicas, essas prostaglandinas se ligam a receptores de prostaglandina E do tipo 1 ao 4. Quando as PGE2, por exemplo, ativam receptores EP3, elas estimulam a secreção de muco e bicarbonato pelas células superficiais da mucosa gástrica. Quando ativam os receptores EP1, elas estimulam a proliferação celular e favorecem o aumento do fluxo sanguíneo da mucosa (TAKEUCHI, 2014).

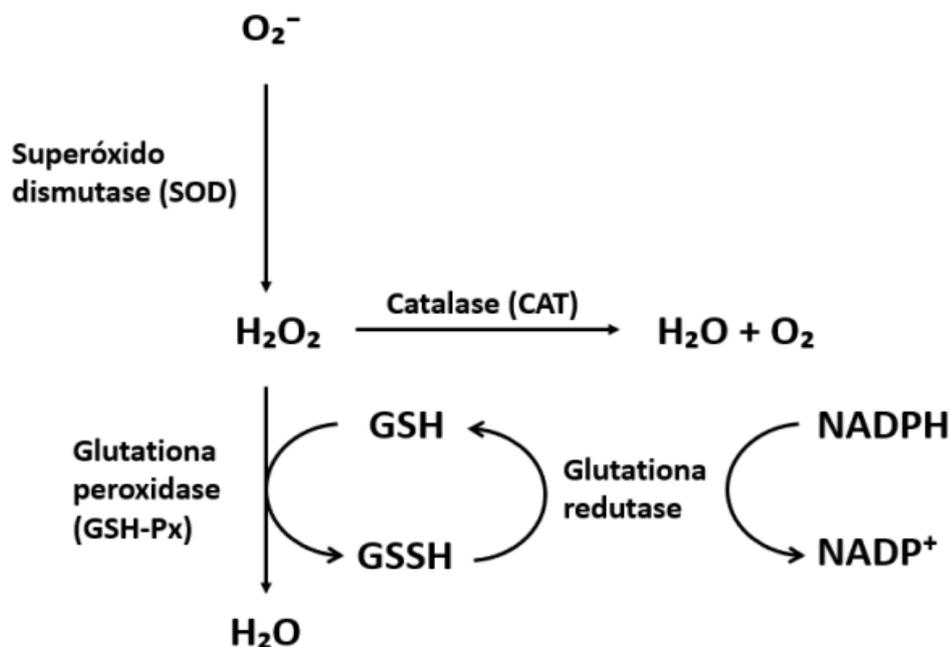
Quando a mucosa gástrica é exposta a um fator irritante, um dos primeiros mecanismos de defesa é o aumento do fluxo sanguíneo na tentativa de remover os agentes irritantes ou nocivos (HOLZER, 2012). O fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, em particular a microcirculação, está criticamente envolvido na habilidade do estômago em resistir aos agentes agressores, sendo um essencial mecanismo de defesa. A microcirculação supre as necessidades de oxigênio e nutrientes, além de auxiliar na remoção de toxinas. Ela também está relacionada com a fisiopatologia das lesões gástricas, principalmente aquelas relacionadas a ingestão de álcool e de AINEs, já que estas duas substâncias reduzem o fluxo sanguíneo (BROWNING; TRAVAGLI, 2014).

Algumas substâncias liberadas pelas células endoteliais são vasodilatadoras e estimulam o aumento da circulação, como é o caso da PGE2 e do óxido nítrico. O óxido nítrico (NO) é uma molécula de sinalização sintetizada a partir da reação do oxigênio molecular (O²) com a L-arginina. A reação é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase e ela existe em três isoformas: NOS endotelial (eNOS) e NOS neuronal (nNOS), ambas constitutivas, e NOS induzível (iNOS), expressa em macrófagos e neutrófilos (MAGIEROWSKI *et al.*, 2015).

O principal local de síntese do NO é na camada interna dos vasos sanguíneos, no endotélio. Do endotélio, ele se difunde para as células musculares subjacentes onde causa o relaxamento, o conseqüente aumento do diâmetro do vaso e também do fluxo sanguíneo. Além do papel no aumento do fluxo sanguíneo, o óxido nítrico desempenha outros papéis importantes no organismo. O NO participa da secreção de muco e bicarbonato, impede a aderência dos neutrófilos às células endoteliais e quando existe um aumento da secreção ácida, ele age indiretamente, estimulando a síntese de PGE2 e suas conseqüentes ações citoprotetoras (KIM, 2014; MAGIEROWSKI *et al.*, 2015).

A proteção da mucosa gástrica também envolve um amplo sistema antioxidante de defesa constituído por vitaminas, flavonoides, carotenoides, ácido úrico, glutathiona reduzida (GSH) e enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona S-transferase (GST). Esse sistema protege a mucosa gástrica dos efeitos das espécies reativas de oxigênio (EROs), como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Figura 3) (KWIECIEN *et al.*, 2014; YANDRAPU; SAROSIEK, 2015).

Figura 3: Mecanismos de ação de enzimas antioxidantes sobre espécies reativas do oxigênio.



FONTE: Sasahara (2021). Glutathiona reduzida (GSH); Glutathiona oxidada (GSSH); Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidada (NADP⁺).

O metabolismo celular é responsável pela produção natural de EROs. No entanto, o acúmulo excessivo destas moléculas pode causar danos as estruturas celulares (GASCHLER; STOCKWELL, 2017). As EROs podem ser radicais livres, que são átomos ou moléculas que possuem uma quantidade ímpar de elétrons, como os radicais superóxido (O^{2-}); ou agentes oxidantes, que não apresentam elétrons desemparelhados, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ozônio (O^3). Cabe ressaltar que as EROs são essenciais para vários processos fisiológicos, incluindo a fosforilação de proteínas, diferenciação celular, ativação de fatores de transcrição, imunidade celular, dentre outros (HRYCAY; BANDIERA, 2015; RAJENDRAN *et al.*, 2014).

EROs também são produzidas em resposta a fatores externos, como radiação UV, consumo de bebidas alcoólicas, ingestão de AINEs, poluição, cigarro, dentre outros. A produção de EROs ligadas a fatores externos têm sido implicada em diversas patologias, incluindo na úlcera gástrica (BHATTACHARYYA *et al.*, 2014). Os EROs causam um processo chamado de peroxidação lipídica, onde ocorrem danos as membranas celulares. Durante esse processo são gerados produtos, onde o principal é o malondialdeído (MDA). Em altas concentrações, os produtos da peroxidação lipídica, causam desordens no influxo e efluxo de íons, danos no DNA e até a morte celular. Para controlar ou evitar essas alterações, as células produzem as enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) (ECKL; BRESGEN, 2017).

A superóxido dismutase (SOD) é uma metaloproteinase que catalisa a dismutação do ânion superóxido (O^{2-}), uma das principais EROs, em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Há três isoformas de SOD que estão localizadas no citoplasma, na mitocôndria ou no compartimento extracelular. O peróxido de hidrogênio formado na reação com a SOD não é um radical livre, mas como dito anteriormente, é um composto com forte capacidade oxidante, sendo também uma EROs. Dessa forma entram as enzimas catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx), para eliminar esse peróxido de hidrogênio do organismo (KWIECIEN *et al.*, 2014).

A CAT é encontrada principalmente em peroxissomas e no citoplasma celular, e a GPx pode ser encontrada em diferentes compartimentos celulares incluindo nas mitocôndria e no núcleo. Ambas as enzimas vão ser responsáveis por degradar o peróxido de hidrogênio formado na reação da SOD em água e oxigênio. Compostos não enzimáticos, como o GSH, também desempenham papel central de defesa contra o estresse oxidativo. A redução do H_2O_2 em água e oxigênio, que é catalisada pela GPx, também é acompanhada pela conversão de glutathiona da forma reduzida (GSH) para a forma oxidada (GSSG) (JANKO *et al.*, 2014).

Outro mecanismo de defesa apresentado pela mucosa gástrica é a renovação constante do epitélio através da proliferação celular. A cada dois/ quatro dias o epitélio gástrico humano é renovado e um balanço entre a perda e a renovação de células é fundamental para se manter a integridade da mucosa (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). O processo de renovação do epitélio gástrico envolve, a proliferação, a migração e a angiogênese celular. Esse processo é controlado por diversos fatores, dentre eles, os principais são o fator de crescimento epidermal (EGF) e o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) (TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012).

Tanto um aumento na degradação celular, como uma redução na proliferação de células epiteliais da mucosa pode ser associado a lesões gástricas. Quando ocorrem danos no epitélio gástrico, como na úlcera, a reconstituição epitelial também envolve processos complexos de cicatrização (TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012). A cicatrização da úlcera gástrica é um processo de regeneração um pouco mais complexo do que a simples renovação do epitélio gástrico. Esse processo envolve inflamação, proliferação celular, migração, formação de tecido de granulação, reepitelização, reconstrução da glândulas, angiogênese e interações entre várias células e a matriz, resultando na remodelação do tecidos e na formação da cicatriz (Figura 4) (TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2021).

Figura 4: Processo de renovação epitelial e cicatrização da úlcera gástrica.



FONTE: Tarnawski (2005), adaptado por Viana (2017).

A cicatrização envolve uma cascata de eventos coordenados e esses eventos podem ser divididos em basicamente três fases: inflamação, proliferação/migração e finalmente remodelamento ou maturação do tecido (TARNAWSKI, 2005). A úlcera gástrica consiste em duas estruturas principais: a margem da úlcera (componente epitelial, formado pela mucosa adjacente não necrótica) e o tecido de granulação na base da úlcera (componente do tecido conjuntivo). Este último desenvolve-se num período de 48 até 72 horas após a formação da úlcera, sendo formado por fibroblastos, macrófagos e células endoteliais em proliferação (TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2021).

No fase da inflamação, a lesão tecidual atrai leucócitos e macrófagos e estes atuam como "células de alarme", contra substâncias estranhas, liberando citocinas pró-inflamatórias como $TNF\alpha$, $IL-1\alpha$ e $IL-1\beta$. Os processos de cicatrização nesta fase também são modulados pela ação das prostaglandinas, produzidas em resposta a um aumento nos níveis de COX-2 no tecido inflamado, e do óxido nítrico. Ocorre um aumento do fluxo sanguíneo na área ulcerada e isso é acompanhado por um aumento dos níveis plasmáticos de fatores de crescimento e fatores de transcrição. Mais tardiamente esse processo também será modulado por citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, com a finalidade de reduzir os danos causados pela inflamação do tecido (OKABE; AMAGASE, 2005; TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012).

Na fase de proliferação/migração, as células do epitélio gástrico são estimuladas a se proliferar e se diferenciar para reconstruir a lâmina própria e os microvasos na base da úlcera. Os principais estímulos para a proliferação, divisão, migração e reepitelização celular são os fatores de crescimento. Esses fatores de crescimento, que são produzidos localmente, ativam a migração e proliferação das células epiteliais por meio de ações autócrinas e/ou parácrinas. Os fatores de crescimento mais importantes envolvidos nesse processo são: fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de resposta sérica (SRF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento semelhante a insulina do tipo 1 (IGF-1), fator de crescimento fibroblástico (FGF), fator de crescimento transformador alfa e beta ($TGF\alpha$ e $TGF\beta$), fator de crescimento de hepatócito (HGF), fator de crescimento nervoso (NGF) e angiopoietinas (SYAM *et al.*, 2009; TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012).

Durante o processo de cicatrização, a mucosa da margem da úlcera forma uma "zona de cicatrização", onde as células parietais e principais são reprogramadas em direção às células progenitoras e expressam o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGF-R, marcador de células progenitoras gástricas), proliferando ativamente. O estímulo a proliferação celular por

EGF ocorre através do aumento dos níveis intracelulares de cálcio, dos aumento dos níveis de glicólise e do aumento da síntese de proteínas (TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2021). As células reprogramadas migram então da margem da úlcera para o tecido de granulação e desta forma passam a reepitelizar também a base da úlcera (SYAM *et al.*, 2009).

A reepitelização é um processo essencial para a cicatrização de úlceras gastrointestinais, já que uma barreira epitelial contínua é crítica para proteger o tecido de granulação e os vasos sanguíneos que estão sendo formados contra as lesões por fatores nocivos intrínsecos presentes, como o próprio suco gástrico. A angiogênese e a restauração dos vasos sanguíneos também é uma parte crítica da cicatrização de lesões teciduais. O VEGF liga-se a receptores específicos e fosforila diversas proteínas citosólicas que ativam a proliferação de células endoteliais e a formação dos novos tubos microvasculares. O SRF é muito importante durante esse processo pois é um fator limitante crítico para a angiogênese induzida por VEGF. O SRF desencadeia a proliferação de células musculares lisas e fibroblastos e a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos (OKABE; AMAGASE, 2005; TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2021).

Ao final de todos esses processos, ocorre a fase de remodelamento ou maturação do tecido formado. A matriz extracelular é formada por uma rede complexa de moléculas organizadas com muita precisão, sendo composta principalmente por colágeno, laminina, proteoglicano, elastina e fibronectina. Na fase final do processo de cicatrização, o colágeno é uma das proteínas mais abundantes e desempenha um papel fundamental na reorganização tecidual da mucosa. Em constante deposição e reabsorção, as fibras de colágeno favorecem o remodelamento do tecido gástrico cicatricial finalizando a cicatrização do tecido (DE MELLO; PISSINATTI; FERREIRA, 2010; SOUZA, *et al.*, 2016).

2.5 Tratamento da úlcera gástrica

Para determinar o melhor tratamento da úlcera gástrica, geralmente são realizados exames de endoscopia. Durante a endoscopia, as úlceras são classificadas usando o esquema de classificação de Forrest. Este esquema fornece o risco estimado de sangramento da úlcera e ajuda a distinguir quais úlceras precisam de tratamento endoscópico, como cauterização, e quais úlceras podem ser tratadas de forma medicamentosa (BARCHI *et al.*, 2018). O tratamento cirúrgico também pode ser necessário quando a terapia endoscópica não é suficiente. As indicações para intervenção cirúrgica incluem perfuração, sangramento e obstrução grave da saída gástrica (WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022).

O histórico prévio do paciente deve ser levado em consideração na busca por um tratamento mais adequado e eficaz para a úlcera gástrica. Se o paciente estiver tomando medicamentos anti-inflamatórios não-esteroidais, por exemplo, estes requerem descontinuação imediata antes do início de qualquer tratamento. Se as biópsias ou testes de laboratório forem positivos para a infecção por *H. pylori*, essa condição requer tratamento com antibioticoterapia prévia, onde a erradicação da bactéria precisa ser confirmada antes do início do tratamento (WOOLF; REHMAN; ROSE, 2022).

Em casos em que se vai optar diretamente pela terapia medicamentosa, a importância clínica desta patologia levou ao desenvolvimento de muitos produtos farmacêuticos. Atualmente, a maioria dos tratamentos de gastrites e de úlceras requer uma combinação de medicamentos, como antiácidos, antagonistas dos receptores de histamina H₂ e inibidores da bomba de prótons (IBPs) (KAVITT *et al.*, 2019; PARK *et al.*, 2019). Os antiácidos mais utilizados são os sais de magnésio e alumínio. Esses sais geralmente são utilizados em associação devido a ocorrência de efeitos colaterais como constipação e diarreia. Estes medicamentos são utilizados em altas doses para aumentar o pH gástrico de forma significativa, sendo relacionados a interações medicamentosas envolvendo sua ligação com outros fármacos no trato gastrintestinal, pela alteração do pH gastrintestinal e do pH urinário (SANTOS; RAO, 2016).

Como exemplos de antagonistas dos receptores H₂ os mais importantes são a cimetidina e a ranitidina. No entanto, numerosas interações medicamentosas foram descritas para estes medicamentos, mais frequentemente para a cimetidina. A cimetidina causa a inibição das enzimas do citocromo P450 e pode reduzir a metabolização de diversos outros fármacos, aumentando a concentração sérica da cafeína, carbamazepina, propranolol, nifedipina, lidocaína, quinidina, imipramina, desipramina, triazolam, metronidazol, dentre outros. A ranitidina, apesar de ser mais potente que a cimetidina, é menos associada a interações medicamentosas e ocorrência de efeitos colaterais (KAVITT *et al.*, 2019; SANTOS; RAO, 2016). No entanto, em 2020 a ranitidina foi retirada do mercado por determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) devido a possibilidade de formação da substância N-nitrosodimetilamina (NDMA), considerada carcinogênica (ANVISA, 2022).

O uso de bloqueadores de receptores H₂ foi bastante reduzido, sendo recomendados apenas para o uso profilático em pacientes que tomam AINEs. Desta forma, as diretrizes médicas indicam que o primeiro tratamento medicamentoso deve ser realizado utilizando os IBPs, considerando estes os agentes mais eficazes no tratamento de úlceras gástricas (ALONSO

et al., 2015). Dentre os IBPs temos o omeprazol, o pantoprazol, o lansoprazol e o esomeprazol como principais exemplos. IBPs agem promovendo um bloqueio irreversível dos canais de H^+/K^+ ATPase, bloqueando a troca de íons realizada pela bomba de prótons e consequentemente reduzindo a secreção ácida gástrica (BEIRANVAND; BAHRAMIKIA, 2020). Um dos principais objetivos do tratamento medicamentoso das úlceras gástricas é, portanto, aumentar o pH dentro do estômago para permitir a cicatrização da mucosa (GRAHAM; LU; DORE, 2019).

Como os IBPs agem predominantemente minimizando os fatores lesivos da mucosa gástrica, no caso reduzindo a secreção de ácido, em muitos casos ocorre recidiva da lesão com a interrupção da terapia medicamentosa. Não existe um fármaco capaz de promover a completa reconstrução da mucosa gástrica (JAIN *et al.*, 2007; KAVITT *et al.*, 2019). Este tratamento clínico também está associado, além das altas taxas de recorrência e a baixa taxa de cura efetiva, a diversos efeitos colaterais e interações medicamentosas relacionados principalmente ao uso a longo prazo (BEIRANVAND; BAHRAMIKIA, 2020). Os IBPs podem causar tontura, diarreia, cefaleia, rash cutâneo, náuseas, flatulência, constipação e dor abdominal. Além disso, o uso crônico desses medicamentos pode levar a eventos adversos relacionados a acloridria, hipersecreção ácida de rebote, doenças cardiovasculares, nefropatia, infecções entéricas e deficiência na absorção de micronutrientes como a vitamina B12 e o cálcio (IMHANN *et al.*, 2016; VAEZI; YANG; HOWDEN, 2017).

O uso prolongado de IBPs também pode elevar a secreção endócrina de gastrina pelas células G. Se a acidez gástrica é reduzida, estas células tendem a secretar quantidades cada vez maiores de gastrina, levando à hipergastrinemia. Como a gastrina é um hormônio trófico que estimula a proliferação celular, a utilização de IBPs por longos períodos de tempo tem sido associada a um maior risco para o desenvolvimento de tumores (VAEZI; YANG; HOWDEN, 2017). Um estudo realizado por Cheung *et al.* (2018) mostrou que pacientes que utilizam IBPs a longo prazo tem um risco de desenvolvimento de câncer gástrico até 2,4 vezes maior, onde o risco aumenta de acordo com a dose e o período de tempo da utilização deste medicamento. Desta forma, o uso de IBPs por longos períodos de tempo requer bastante cautela.

Devido aos efeitos colaterais e as interações medicamentosas relacionados ao uso dos atuais medicamentos para úlcera gástrica, como os IBPs, o tratamento desta doença continua sendo um grande desafio. Isso justifica a busca por novos candidatos que possam fornecer alta eficácia, baixa toxicidade e menos efeitos colaterais (ZHOU *et al.*, 2020). Uma terapia alternativa para o tratamento da úlcera gástrica seria o uso de preparações derivadas de plantas,

em vez de drogas sintéticas (MIRANDA *et al.*, 2015). O uso de plantas como alternativa para tratar diversas enfermidades é datado desde a antiguidade por populações de diversos países. No Brasil, a utilização de espécies vegetais com atividade terapêutica foi disseminada principalmente pela cultura indígena (NEWMAN; CRAGG, 2012).

Diversas plantas, já são relatadas popularmente e na literatura como detentoras de propriedades antiulcerogênica. *Myracrodruon urundeuva*, a aroeira-do-sertão, por exemplo, é utilizada popularmente para diversas finalidades, dentre elas no tratamento de úlceras gástricas. Carlini *et al.* (2010) e Galvão *et al.* (2018) encontraram efeito protetor da mucosa gástrica contra as ulcerações induzidas por estresse em ratos e por etanol em camundongos. Os autores utilizaram extratos de diversas partes da planta e validaram o uso popular. *Maytenus ilicifolia*, a espinheira-santa, também é outro exemplo muito utilizado popularmente para diversas finalidades, inclusive no tratamento de úlceras gástricas. Uma revisão publicada por Meirelles *et al.* (2022) mostrou os usos tradicionais da planta sendo principalmente relacionados ao sistema gastrointestinal e associou esse uso as suas propriedades antiácidas e antiulcerogênicas dominantes.

Lonchocarpus sericeus também é uma espécie utilizada popularmente para tratar diversas doenças. Comunidades utilizam uma decocção ou infusão das folhas da planta para o tratamento de distúrbios gastrointestinais e hepáticos, mostrando que a espécie possui um potencial neste contexto a ser investigado (EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020; OYEDEJI *et al.*, 2015). Estudos demonstraram que a eficácia dos fitoterápicos é comparável ou superior à de medicamentos como omeprazol ou cimetidina em humanos e em modelos animais. Além disso, fármacos obtidos de produtos naturais geralmente apresentam menos efeitos adversos e tendem a ser menos dispendiosos para população, quando comparados aos produtos sintéticos importados de países desenvolvidos (BI; MAN; MAN, 2014).

Com o crescente interesse e a necessidade da descoberta de novos fármacos derivados de produtos naturais, os extratos de plantas vem apresentando resultados promissores no tratamento de úlceras gástricas (BI; MAN; MAN, 2014). Estudos sobre o tratamento de distúrbios gastrointestinais têm focado no potencial da medicina natural devido à disponibilidade, eficácia, menor custo e menor toxicidade (PARK *et al.*, 2019). A prática experimental e clínica também demonstra que medicamentos derivados de plantas são associados a menores taxas de recorrência das doenças gástricas (BI; MAN; MAN, 2014).

Plantas popularmente utilizadas no tratamento de doenças gástricas são conhecidas por agirem através de diversos mecanismos. No entanto, sua ação se deve principalmente ao

aumento de fatores protetores da mucosa gástrica, efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (KUNA *et al.*, 2019). Compostos antiulcerogênicos obtidos de plantas, geralmente exercem seus efeitos aumentando a síntese de prostaglandinas, aumentando os níveis de componentes antioxidantes, estimulando a secreção de muco e bicarbonato, dentre outros (FERNANDES *et al.*, 2010). Estudos também mostram que os extratos de ervas são os agentes mais eficazes neste contexto e particularmente os antioxidantes vegetais têm recebido considerável atenção dos pesquisadores nos últimos anos (BEIRANVAND, 2022).

2.6 *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth

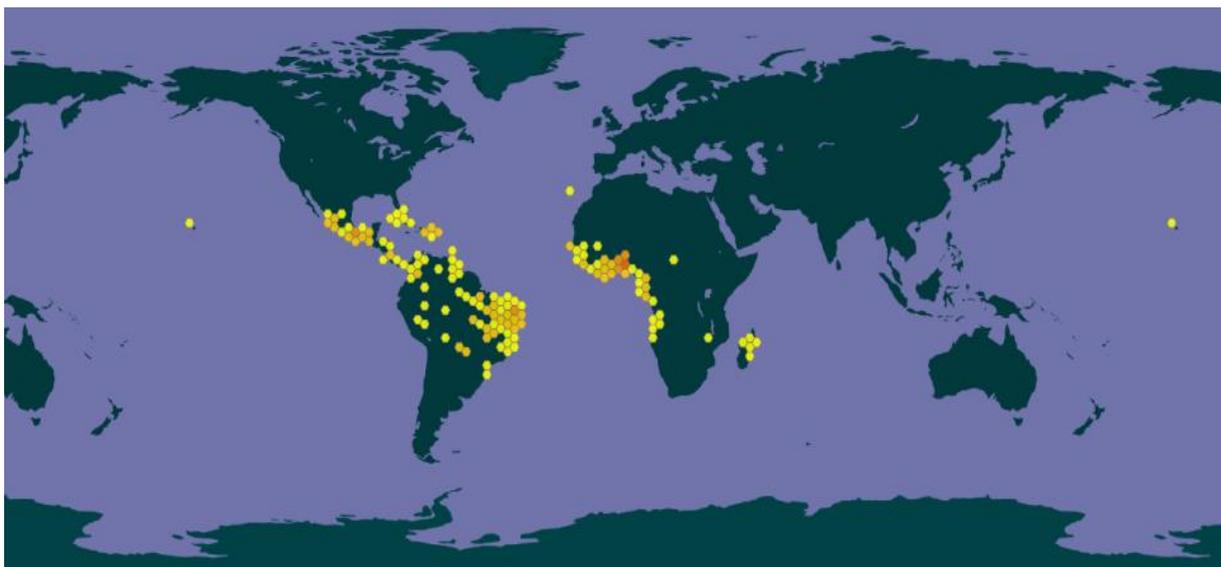
A família Fabaceae constitui um dos maiores grupos vegetais dos trópicos, ficando atrás apenas de Asteraceae e Orchidaceae. Esta família conta com 727 gêneros e cerca de 19.320 espécies (LEWIS *et al.*, 2005). As Fabaceae são muito importantes do ponto de vista econômico, destacando-se na produção de óleos, resinas, perfumes, medicamentos, inseticidas e por apresentar madeiras com grande valor comercial no mundo (PINTO, 2009). Tradicionalmente, a família Fabaceae é dividida em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinoideae e Faboideae (LEWIS *et al.*, 2005). *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, subfamília Faboideae que ocorre frequentemente na região semiárida do Brasil (OYEDEJI *et al.*, 2015).

O gênero *Lonchocarpus* é bastante conhecido e estudado do ponto de vista botânico. Das 150 espécies existentes dentro deste gênero, 24 são nativas do Brasil. Dentre estas, além da espécie *L. sericeus* podemos citar a *L. araripensis*, *L. campestris*, *L. capassus*, *L. chiricanus*, *L. cyanescens*, *L. eriocalyx*, *L. guatemalensis*, *L. latifolius*, *L. neuroscapha*, *L. oaxacensis*, *L. urucu*, *L. utilis*, *L. xuul*, dentre outras. No sertão nordestino a espécie é conhecida por “ingazeiro” e em Fortaleza, no Ceará, por “ingá”, “ingá-bravo”, “ingá-de-bucha”, “guará-timbó” ou “ingáim”. A planta recebe diversas denominações populares de acordo com a região, as vezes umas bem diferentes das outras. Na Bahia, a planta foi nomeada popularmente de “cabelouro”, no Maranhão de “imburana”, “muxiba” ou “muxibeira”, no Piauí de “ingarana”, na Paraíba de “priaça” e em Pernambuco de “piaca” (TOZZI, 1989).

Lonchocarpus sericeus é uma planta de distribuição bem frequente e pode ser encontrada, no Brasil, do norte do estado do Pará ao sul do estado do Rio de Janeiro. Além disso, distribui-se geograficamente na África, América Central, Ásia, Austrália, Colômbia e Caribe (Figura 5) (GBIF SECRETARIAT, 2022). A planta é encontrada com frequência

elevada à margem de cursos d'água e em formações florestais, como na mata de galeria, na mata costeira, na mata secundária, na mata virgem, na mata de várzea ou de terra firme e em floresta estacional semidecidual. A espécie também pode ser encontrada em mata seca, carnaubal, restinga debastada, caatinga, capoeira, savana e sertão nordestino (SOUSA, 2003).

Figura 5: Distribuição geográfica de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth no mundo. Pontos amarelos indicam zonas frequentes e pontos laranjas zonas de distribuição muito frequentes.



Fonte: GBIF Secretariat (2022).

A descrição botânica de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth, foi realizada pela primeira vez por Tozzi (1989), após isso outros autores estudaram a espécie e suas características. Trata-se de uma árvore vistosa, ereta, caducifólia, de altura variada, que geralmente atinge de 10 a 16 metros. Sua copa é ampla e densa, espalhada, fornecendo sombreamento abundante ao redor. A casca tem coloração amarelo-acinzentada, sendo ligeiramente rugosa (Figura 6 A). As folhas possuem pecíolo estriado com folíolos muitas vezes assimétricos. É uma folha pouco lustrosa ou opaca e possui coloração verde-escura (Figura 6 B). Suas inflorescências são verticais e eretas, com racemos pendentes de flores rosadas, arroxeadas ou púrpuras. As flores são muito sedosas e brilhantes na face externa, sendo a face interna mais opaca e com estandarte com mancha verde-amarelada na região centrobasal. Brácteas e bractéolas presentes, usualmente situadas desde a metade até o ápice do pedicelo (Figura 6 C). Seu fruto é verde ou marrom, quando maduro, sendo revestido por indumento ferruginoso. A parede do fruto é espessada na região das sementes, apresentando constrições

de tamanhos variados entre elas. As sementes são arredondadas a oblongo-reniformes, planas ou túrgidas, com testa coriácea a papirácea. Geralmente apresentam cor marrom-escuras com hilo branco (Figura 6 D) (ADEWUYI *et al.*, 2012; SILVA, *et al.*, 2012; TOZZI, 1989).

A espécie *L. sericeus* é utilizada popularmente como lubrificante, como fonte de fibras, como laxante, no tratamento de epilepsia, no tratamento de artrite, para estimular o apetite, para tratar distúrbios estomacais, para dores nas costas, para tratar convulsões, como repelente de insetos e como detentora de propriedades antifúngicas (ABDULLAHI *et al.*, 2021; FONTENELE *et al.*, 2005; KOJS; WLOCH; RUSIN, 2004; OYEDEJI *et al.*, 2015). Comunidades africanas utilizam preparações das folhas da planta para o tratamento de doenças gastrointestinais e hepáticas, além do alívio da malária. Esta infusão/decoção também tem sido amplamente empregada na medicina popular como remédio para dor e inflamação. Na Nigéria, as folhas são usadas como remédio de amplo espectro e a casca é usada para tratar algumas doenças de pele. A planta, de maneira geral, é consumida como um diurético e como um tônico para “manter o bem-estar geral” (AGBONON; GBEASSOR, 2009; EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020).

Diversas atividades biológicas já foram relatados em plantas da família Fabaceae. Geralmente essas atividades são associadas a compostos químicos que estas plantas produzem através da sua atividade metabólica. Os metabólitos secundários gerados nestas reações apresentam diversas ações terapêuticas, sendo vistos como fonte alternativa para a produção de diversos medicamentos no mundo todo (BI; MAN; MAN, 2014). Na literatura, *L. sericeus* já foi estudada quanto a seus metabólitos secundários e suas aplicabilidades, tendo diversos compostos promissores do ponto de vista biológico e farmacológico já identificados (OYEDEJI *et al.*, 2015).

Fitoquímicos, como alcaloides, saponinas, carotenoides, flavonóides, taninos, triterpenos e esteroides já foram detectados nos extratos metanólicos do caule, da casca, das sementes e da raiz de *L. sericeus* (MUSA; YARO; ABUBAKAR, 2006). Oyedeji *et al.* (2015), também estudaram a espécie e identificaram diversos componentes como flavonóides, carotenoides, antocianinas e vitaminas nas sementes da planta, tendo as considerado uma boa fonte de compostos antioxidantes com alta capacidade de sequestrar radicais livres. Além de ser uma boa fonte destes metabólitos secundários, *L. sericeus* também é uma boa fonte de proteínas e de lipídios, pois suas sementes contêm cerca de 40 e 30% desses macronutrientes, respectivamente, sendo consideradas uma boa fonte de compostos nutricionais (CARVALHO *et al.*, 2011).

Figura 6: *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth. (A) Porte arbóreo; (B) Folhas; (C) Flores dotadas de estandarte; (D) Fruto característico, legume seco indeiscente



Fonte: GBIF Secretariat (2022). iNaturalist < <https://www.inaturalist.org/photos/645760>> < <https://www.inaturalist.org/photos/222130795>> por Breno Farias e Markusgmeiner (licensed under <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Oyedeji *et al.* (2015), relataram alta concentração de flavonóides nas sementes de *L. sericeus*, sendo a quercetina o flavonoide mais abundante. A quercetina é o flavonoide mais biologicamente ativo do ponto de vista farmacêutico. Ela é um quelante de metal eficaz que contribui significativamente para a ação antibacteriana e anti-inflamatória dos flavonóides. Além disso, foi relatado que a quercetina possui atividades antioxidantes, anticarcinogênicas, anti-agregadoras plaquetárias e vasolidantes. De acordo com estudo realizado por Azeez *et al.* (2012), as sementes de *L. sericeus* também apresentam alta concentração de β -caroteno e tocoferol. Estas vitaminas possuem diversas atividades antioxidantes já descritas e a vitamina E, além disso, também atua de forma importante na prevenção da peroxidação lipídica. Estes dados mostram que as sementes *L. sericeus* possuem elevado potencial para atuar como fontes de antioxidantes na eliminação de radicais livres.

Sousa (2003) identificou chalconas, uma classe muito comum de flavonóides no gênero Lonchocarpus, nos componentes de *L. sericeus*. Foram identificadas: Derricina, Lonchocarpina, 2,3-Diidrolonchocarpina e Isolonchocarpina, sendo as duas primeiras chalconas seus constituintes majoritários. Um estudo químico realizado por Albuquerque *et al.* (2010) também identificou no extrato hexânico da casca e da raiz de *L. sericeus* chalconas. O grupo isolou e caracterizou as chalconas Lonchocarpina e 2,3-Diidrolonchocarpina. Cunha *et al.* (2003) mostraram que as chalconas obtidas do extrato hexânico obtido das raízes de *L. sericeus* e um de seus principais componentes, a Derricina, apresentaram atividade citotóxica para ovos fertilizados de ouriço do mar. O grupo também mostrou que tanto o extrato como as chalconas Derricina e Lonchocarpina mostraram citotoxicidade contra uma linhagem celular leucêmica. Esses resultados indicaram uma atividade antimetabólica *in vitro* tanto do extrato bruto de *L. sericeus* como de seus principais constituintes.

Fontenele *et al.* (2009), relataram que a fração hexânica das cascas das raízes de *L. sericeus*, rica em chalconas, apresentou atividade antiedematogênica em modelos de edema de pata induzidos por carragenina e levedura de cerveja. A fração também apresentou atividade antiagregante plaquetária. Além disso, foi capaz de reduzir o dano tecidual induzido por ácido acético e demonstrou possuir atividade antinociceptiva em modelos experimentais de dor, como no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético e no teste da formalina. Fontenele *et al.* (2005), também relataram que as chalconas isoladas das cascas das raízes de *L. sericeus*, Derricina e Lonchocarpina, apresentaram atividade antiagregante plaquetária em modelo induzido por uma variedade de agonistas e de maneira dose-dependente.

Agbonon e Gbbeassor (2009) relataram que o extrato etanólico das folhas de *L. sericeus* é capaz de reduzir o dano aos hepatócitos em modelo de administração de CCl₄. O extrato demonstrou potencial antioxidante no fígado e plasma dos ratos, possuindo propriedades hepatoprotetoras que justificam o uso na medicina popular desta planta. Abdullahi *et al.* (2021), estudou o efeito de uma fração solúvel em clorofórmio do extrato metanólico da casca do caule de *L. sericeus*. Os resultados mostraram que a fração contém atividade anticonvulsivante em testes de convulsões induzidas por 4-aminopiridina e pentilenotetrazol em camundongos, sendo merecedora de novas investigações devido a seu potencial contra a epilepsia.

Emmanuel; Onyekachi; Uchenna (2020), demonstraram que vários extratos da casca de *L. sericeus* possuem atividade anti-inflamatória em modelo de edema de pata induzido por ovalbumina e de edema de orelha induzido por xileno. Os extratos também apresentaram atividade analgésica, ao aliviar a dor em modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os autores salientaram que os dados do estudo validam o amplo uso da planta na medicina popular como remédio para o controle da dor e da inflamação.

Alencar *et al.* (1999) estudaram dentre as proteínas das sementes de *L. sericeus*, as lectinas. Eles demonstraram que estas lectinas se ligam especificamente a resíduos de N-acetil-glucosamina, inibindo eventos vasculares e celulares em dois modelos experimentais de inflamação *in vivo*. Alencar *et al.* (2005) também verificaram que lectinas isoladas de *L. sericeus* possuem elevado potencial, inibindo a resposta inflamatória e a colonização bacteriana em modelo de peritonite infecciosa em ratos.

Mota (2008) estudou as mesmas lectinas que Alencar *et al.* (2005) e verificou que estas apresentaram atividade anti-inflamatória associada à inibição da migração de neutrófilos e atividade antinociceptiva no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Durante a investigação da atividade destas lectinas sobre a fase inflamatória da dor, estas também apresentaram atividade antihiperálgica em modelo de hiperálgia mecânica estimulada por carragenina e ovalbumina. Napionga *et al.* (2007) mostraram que os efeitos na migração antinociceptiva e anti-neutrófila das lectinas isoladas de *L. sericeus* estão associados à inibição da produção de citocinas e quimiocinas. Os autores salientaram que a migração de leucócitos é foco terapêutico de drogas que visam controlar doenças inflamatórias agudas ou crônicas, apontando para o possível uso de *L. sericeus* para o desenvolvimento de novos medicamentos para tratamento destas doenças.

Apesar dos relatos de caracterização de compostos possivelmente promissores e de algumas atividades biológicas já descritas na literatura, ainda resta muito a saber sobre o real

potencial de *L. sericeus*, uma planta que possui tantos usos populares. Desta forma, o presente trabalho buscou avaliar a atividade protetora e cicatrizante gástrica de um extrato hexânico obtido de sementes de *L. sericeus* e trazer um pouco mais de informações acerca do potencial desta espécie para tratar distúrbios estomacais, como previamente foi relatado na medicina popular.

3 JUSTIFICATIVA

A úlcera gástrica é uma doença de larga distribuição mundial e cuja relevância aumentou muito nas últimas décadas. De acordo com uma nova estatística, esta vai afetar 1 em cada 10 pacientes em algum momento da vida (BEIRANVAND, 2022). Devido a sua importância clínica, existem diversos medicamentos disponíveis para o tratamento como antiácidos, IBPs, anticolinérgicos e antagonistas do receptor de H₂. No entanto, embora estes medicamentos sejam eficientes, eles apresentam ação gastroprotetora limitada e efeitos colaterais principalmente relacionados ao seu uso crônico (KAVITT *et al.*, 2019). Os IBPs são utilizados por longos períodos de tempo e dessa forma são associados a hipersecreção de rebote, acloridria, doenças cardiovasculares e deficiência de micronutrientes como vitamina B12 e cálcio (VAEZI; YANG; HOWDEN, 2017).

Uma terapia alternativa para o tratamento da úlcera gástrica seria o uso de preparações derivadas de plantas. No Brasil, os medicamentos fitoterápicos são bem aceitos pela população e, além do menor custo, geralmente estão associados a menor ocorrência de efeitos colaterais. A prática também demonstra que medicamentos derivados de plantas são associados a menores taxas de recorrência das doenças gástricas, apresentando resultados promissores no seu tratamento (BI; MAN; MAN, 2014). Os extratos de ervas são os agentes mais eficazes neste contexto e particularmente os antioxidantes vegetais têm recebido cada vez mais atenção dos pesquisadores (BEIRANVAND, 2022).

Lonchocarpus sericeus é uma espécie utilizada popularmente para diversas finalidades, dentre elas para tratar distúrbios gastrointestinais no continente Africano (OYEDEJI *et al.*, 2015). Antes da realização do presente trabalho não existia, na literatura científica, informações sobre o efeito protetor e/ou cicatrizante gástrico de *L. sericeus* apesar deste uso popular. Além disso, as sementes desta planta são ricas em compostos antioxidantes e já foram relatadas atividades analgésicas e anti-inflamatórias em componentes extraídos destas sementes (MOTA, 2008). Todos esses dados apontam para um possível potencial de *L. sericeus* na proteção e cicatrização da mucosa gástrica e, desta forma, esse trabalho visa compreender melhor este potencial. Estudamos um extrato proveniente de suas sementes visando contribuir na busca de tratamentos alternativos eficazes e que possam permitir claros benefícios a população que sofre com doenças gástricas.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo geral

Investigar o efeito protetor e cicatrizante gástrico do extrato hexânico de sementes *Lonchocarpus sericeus* e os mecanismos envolvidos.

4.2 Objetivos específicos

- Produzir o extrato hexânico das sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) e determinar sua composição química através de técnicas de cromatografia gasosa, CG-Ms e CG-FID.
- Avaliar, *in silico*, os parâmetros ADME/T, a biotransformação metabólica e os possíveis alvos moleculares dos componentes majoritários identificados em LsHE.
- Pesquisar a toxicidade aguda de LsHE em camundongos.
- Avaliar o efeito gastroprotetor de LsHE sobre as lesões gástricas agudas induzidas por etanol e por indometacina em camundongos.
- Estudar, em modelos de lesão gástrica induzida por etanol e por indometacina, a ação de LsHE sobre o muco aderido e sobre marcadores do estresse oxidativo e inflamatório.
- Avaliar o possível mecanismo de ação envolvido na atividade gastroprotetora, no modelo de lesão gástrica induzida por etanol, através do bloqueio de vias relacionadas a produção de prostaglandinas, a participação de canais de potássio sensíveis ao ATP, a sintase de óxido nítrico e a participação de receptores TRPV.
- Pesquisar o efeito de LsHE sobre a secreção gástrica, a acidez e o pH estomacal em modelo de ligação pilórica em camundongos.
- Avaliar a atividade cicatrizante de LsHE em modelo de lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos.
- Pesquisar a toxicidade por doses repetidas de LsHE em ratos, através de alterações em parâmetros bioquímicos séricos, no peso dos órgãos e dos animais.
- Estudar, em modelo de lesão gástrica induzida por ácido acético, a ação de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e inflamatório.

5 MATERIAIS

5.1 *Lonchocarpus sericeus*

5.1.1 *Obtenção e processamento das sementes de Lonchocarpus sericeus*

As sementes de *L. sericeus* foram coletadas pelo Dr. Luiz Carlos Pereira Almeida Filho e pela Dr. Nathanna Mateus de Sousa em parceria com Laboratório de Bioprospecção de Recursos Regionais (BIOPROSPEC). A coleta foi realizada em fevereiro de 2019 no Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará (UFC) nas coordenadas 3°44'35.6" S 38°34'34.9" W. A espécie foi previamente identificada e depositada no herbário Prisco Bezerra da UFC (N° EAC 39615) em parceria com a Prof^a Maria Iracema Bezerra Loiola, curadora do respectivo herbário. Este estudo também foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o número AD3CC8F. As sementes coletadas foram trituradas em moinho elétrico e a farinha obtida foi peneirada em malha de 500 µm, para a obtenção de um material homogêneo. A farinha foi seca em estufa à 45 °C por 48 horas para retirada do excesso de umidade.

5.1.2 *Preparação do extrato hexânico de Lonchocarpus sericeus (LsHE)*

A farinha obtida segundo descrito em 5.1.1, teve seus componentes extraídos a frio e em repouso, utilizando hexano na proporção 1:3 (p/v) a 25°C. O solvente foi trocado a cada 24 horas e a mistura resultante de quatro extrações (96 horas) foi reunida e acondicionada em recipiente de vidro. O material foi evaporado a temperatura ambiente, de modo a preservar a integridade dos compostos extraídos, em capela de exaustão até a completa remoção do solvente. O processo rendeu 33% de extrato (LsHE) e este foi armazenado a -20°C até a realização das análises. Todos esses processos foram realizados no BIOPROSPEC em parceria com a Prof^a Ana de Fátima Fontenele Urano Carvalho.

Para a realização das análises *in vivo* LsHE foi preparado para utilização nas doses de 0,4; 0,8; 1,6; 3,15; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 2000 mg/kg de peso do animal. LsHE foi pesado e solubilizado em solução salina (NaCl 0,9%). A diluição permaneceu por um período de vinte minutos em aparelho do tipo sonicador para a completa solubilização. O extrato solubilizado

foi armazenado em recipiente fechado, à temperatura ambiente e protegido da luz até a realização dos experimentos.

5.2 Reagentes químicos

Todos os reagentes utilizados neste estudo foram de grau de pureza analítica e estão citados no decorrer da descrição da metodologia.

5.3 Animais de laboratório

Para a realização dos experimentos com animais, foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), machos, com peso entre 25-30 gramas e ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com peso entre 180-220 gramas fornecidos pelo biotério central (BIOCEN) da UFC. Após o recebimento, os animais passaram um período mínimo de quatorze dias para aclimatização ao novo ambiente antes da realização dos experimentos. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, com temperatura controlada (24 ± 2 °C) e ciclo de 12 horas claro/escuro, tendo livre acesso à água filtrada e ração peletizada padronizada (Nuvilab®). Antes dos protocolos experimentais, os animais foram submetidos a jejum alimentar em gaiolas com piso de grade elevado por 12 horas. Após os procedimentos experimentais, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos com administração intraperitoneal de 300 mg/kg de cetamina e 30 mg/kg de xilazina. Todos os experimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da UFC (CEUA/UFC n° 1933011019) (Anexo I) de acordo com os preceitos da Lei 11.794, com o Decreto 6.899, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

5.4 Equipamentos utilizados

A tabela 1 apresenta a lista dos equipamentos utilizados durante a execução deste trabalho, modelo do equipamento e fabricante.

Tabela 1: Equipamentos utilizados durante os experimentos

Equipamento	Modelo	Fabricante
Agitador do tipo Vortex	QL-901	Biomixer
Balança analítica	AeD-FX	Shimadzu
Banho-Maria	304D	Nova Ética
Câmera do microscópio	DS-Ri2	Nikon
Centrífuga de eppendorfs	AS2IPM	Cientec
Centrífuga de tubos	K14-0815P	Kasvi
Espectrofotômetro	DU720	Beckman Coulter
Espectrômetro de massa – CG-FID	QP-2010	Shimadzu
Espectrômetro de massa – CG-MS	5977A	Agilent Tech
Estufa	002CB	Fanem
LabQuest	Cobas c111	Roche
Leitor de microplaca	UVM 340	Asys
Mesa agitadora	TS-2000	Biomixer
Microscópio	Eclipse Ni-U	Nikon
Moinho elétrico	MDR301	Cadence
Paquímetro digital	100.174B	Digmess
Sonicador	USC700	Unique
Tissuelyser	LT	Qiagen

FONTE: Elaborado pelo autor.

6 METODOLOGIA

6.1 Estratégia experimental

Para uma melhor compreensão do estudo, subdividimos o trabalho em quatro etapas (Figura 7): (1) Perfil químico e processamento *in sílico*; (2) Efeito gastroprotetor; (3) Efeito gastromodulador; (4) Efeito cicatrizante e possível toxicidade.

6.2 Caracterização química do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE)

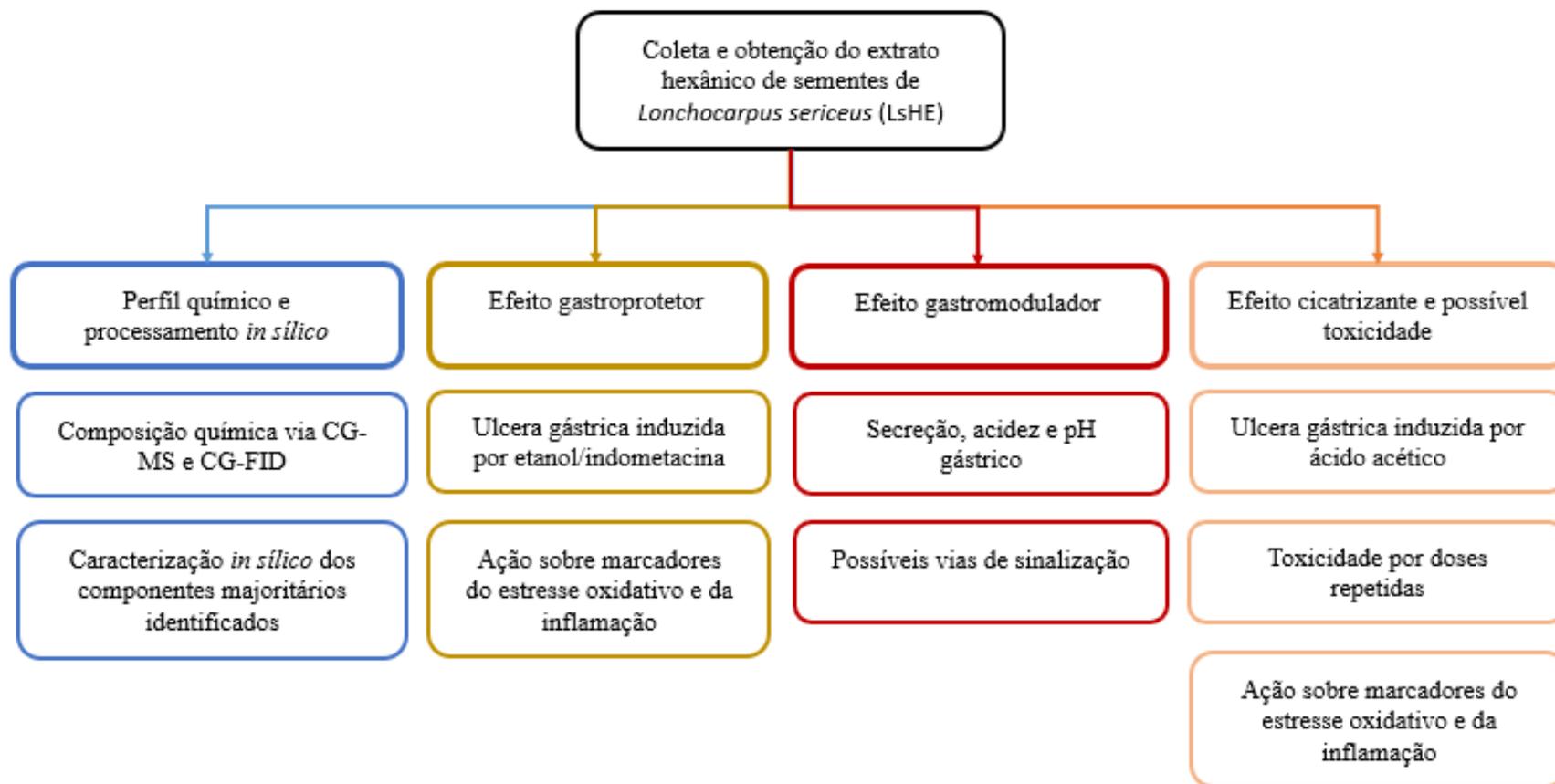
A caracterização e a análise do perfil químico de LsHE foi realizada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em parceria com o Prof. Edy Sousa de Brito e com o Dr. Paulo Riceli Vasconcelos Ribeiro.

6.2.1 Derivatização

A derivatização dos ácidos graxos contidos do extrato de *L. sericeus* (LsHE) em compostos orgânicos voláteis (COV) foi realizada em excesso, de acordo com Cunha *et al.* (2020), com algumas modificações. Em tubos de vidro com tampa de rosca, foram solubilizados 30 mg de LsHE com 1 mL de hexano de grau Cromatografia Gasosa (Sigma-Aldrich, CG). Em seguida, 1,4 mL de solução metanólica com NaOH 0,5 M foram adicionados aos tubos e estes foram fechados e mantidos em banho-maria à 65-70 °C, até a completa dissolução dos glóbulos de gordura.

Os tubos foram resfriados em água corrente e foram adicionados 2 mL de solução esterificante (10 g de cloreto de amônio, NH₄Cl, dissolvido em 300 mL de metanol e 15 mL de ácido sulfúrico, H₂SO₄). A mistura foi agitada em vortex por 30 segundos, mantida novamente em banho-maria à 65-70 °C por 5 minutos e resfriada em água corrente. Posteriormente, 4 mL de solução aquosa de cloreto de sódio (NaCl 36%) foram adicionados e os tubos agitados por mais 30 segundos, seguidos pela adição de 3 mL de hexano de grau CG e nova agitação. Para recuperação dos ésteres, a mistura foi colocada em um funil de separação para separar as fases aquosa e orgânica e a fase orgânica, contendo os ésteres, foi removida com uma micropipeta automática e seca para remover o hexano. Essa fase foi reconstituída com hexano CG para a posterior análise.

Figura 7: Estratégia experimental para análise do extrato hexânico de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



Fonte: Elaborada pelo autor.

6.2.2 Análise CG-MS e CG-FID

As amostras do extrato de *L. sericeus* (LsHE), previamente submetidas a derivatização segundo descrito em 6.2.1, foram analisadas em cromatógrafo a gás com espectrômetro de massa (CG-MS) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (HP-5MS, Agilent®) (30 m × 0,25 mm id, 0,25 mm de espessura do filme) conectada a um detector quadrupolo operando no modo de impacto de elétrons (EI) a 70 eV com uma faixa de massa de varredura de 35-500 m/z. O hélio foi utilizado como gás carreador a 1 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor e da interface foram de 250 e 280 °C, respectivamente, no modo dividido (1:30). A rampa de temperatura foi: 35 °C, aumentada para 180 °C à 15 °C min⁻¹, para 250 °C a 5 °C min⁻¹, e a temperatura final (250 °C) foi mantida por 10 minutos. Os índices de retenção linear (IRL) foram obtidos usando uma solução padrão de alcanos C7-C30 saturados (Supelco, EUA) para comparação. Para identificação experimental dos compostos, os espectros de massa foram comparados com a literatura, com a biblioteca espectral de massa do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia dos EUA (NIST), bem como com os dados espectrais e IRL fornecidos por Adams (2007).

A análise do cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (GC-FID) foi realizada com uma coluna RTX-5 (Restek, 30 m, 0,25 mm, 0,25 µm). O nitrogênio foi usado como gás de arraste e foram seguidas as mesmas condições da análise CG-MS. Novamente, uma mistura de hidrocarbonetos lineares (C7-C30) foram injetados para comparação e obtenção do IRL, também nas mesmas condições experimentais descritas anteriormente.

6.3 Análise *in silico* dos componentes majoritários do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE)

As análises *in silico* dos componentes majoritários de LsHE foram realizados no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), em parceria com o Dr. Thiago Silva de Almeida.

6.3.1 Estrutura dos compostos

Foram selecionados para avaliação *in silico* os componentes encontrados em LsHE com mais de 10% em sua composição. Para obtenção de informações sobre a estrutura destes

componentes majoritários, foi utilizada a base de dados pública PubChem. Foram buscadas a estrutura de referência SMILES (“Simplified Molecular-Input Line-Entry System”) ou InChi (“International Chemical Identifier”). O software ACD labs ChemsSketch (Toronto, On, Canada), versão 14.0 foi utilizado para desenhar estas estruturas.

6.3.2 Parâmetros ADME/T

Os componentes majoritários encontrados em LsHE foram avaliados, *in silico*, quanto aos parâmetros de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade (ADME/T). Com relação a absorção foram avaliados: absorção gastrointestinal, penetração na pele, penetração na barreira hematoencefálica e presença de glicoproteínas de permeabilidade. Com relação a distribuição foram avaliados: acessibilidade sintética e biodisponibilidade. Para avaliação de interações no metabolismo e excreção dos componentes foram analisadas a inibição da família de monooxigenases citocromo P450 (CYP450), com inibição das isoenzimas CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4. Com relação a possível toxicidade foram avaliados: classe de toxicidade, potencial mutagênico, potencial tumorogênico, potencial irritante, potencial hepatóxico, possível efeito na reprodução e imunotoxicidade.

O conjunto de plataformas utilizadas seguiu a metodologia abordada por Barbosa *et al.* (2020). Os componentes foram analisados através de: Swiss ADME (SIB., Lausanne, Suíça), Servidor Protox-II (Charité University, Berlim, Alemanha), Molinspiration (Molinspiration Cheminformatics, Nova Ulica, Eslováquia), Osiris Property Explorer e Osiris Data Warrior (Actelion Pharmaceuticals Ltd., Allschwil, Suíça) e CYPstrate and CYPlebrity (“New E-Resource for Drug Discovery” - NERDD).

6.3.3 Biotransformação metabólica *in silico*

Para entendermos melhor os processos de biotransformação metabólica sofridos por cada um dos componentes majoritários de LsHE dentro no organismo, foram utilizadas quatro plataformas de processamento. Inicialmente, para prevermos qual átomo de cada molécula é mais provável que inicie as reações metabólicas, utilizamos o SOMP (“Site of Metabolism Prediction”), um site para a previsão *in silico* de sítios de metabolismo para compostos do tipo fármaco (RUDIĆ *et al.*, 2015), e o NERDD (Terceira geração do FAME - “FAst

MEtabolizer”). O NERDD é um novo recurso eletrônico que trata da terceira geração de modelos de “machine learning” para a previsão de locais onde acontecem o metabolismo (SoMs) (ŠÍCHO *et al.*, 2019; STORK *et al.*, 2019).

Para prevermos a fase 1 e/ou a fase 2 dos compostos no metabolismo, também ligado a NERDD foi utilizado a GLORYx. A GLORYx utiliza das informações SoMs para prever e classificar as estruturas dos metabólitos que podem ser formados pela fase 1 e/ou fase 2 do metabolismo (KOPS *et al.*, 2021; STORK *et al.*, 2019). Para confirmar os metabólitos formados na fase 1 e na fase 2, e também para descrever o tipo de reação e as prováveis enzimas envolvidas foi utilizada a plataforma BioTransformer 3.0 (KOPS *et al.*, 2021; DJOUMBOU-FEUNANG *et al.*, 2019).

6.3.4 Predição de alvos moleculares

A detecção dos alvos de maior afinidade com base na estrutura de cada um dos componentes majoritários avaliados de LsHE, foi realizada utilizando a plataforma online “Swiss Target Prediction” (SIB., Lausanne, Suíça).

6.4 Toxicidade aguda em camundongos

A avaliação da toxicidade aguda por via oral do extrato de *L. sericeus* (LsHE) foi realizada seguindo as diretrizes do protocolo 425 da “Organization of Economic Cooperation and Development” (OCDE), estudo da toxicidade aguda (OECD GUIDELINES, 2022). Para isso, foram utilizados camundongos da linhagem *Swiss* com seis semanas de idade (25-30g) provenientes do BIOECEN - UFC. Os camundongos foram divididos em dois grupos, (n = 3) e receberam o tratamento por via oral em dose única através de gavagem. O primeiro grupo, controle veículo, recebeu solução salina (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) e o segundo grupo recebeu LsHE (2.000 mg/kg).

Os animais foram observados nas primeiras horas após a administração (1, 2, 4, 6 e 8 horas) e posteriormente duas vezes ao dia durante 14 dias. A observação foi feita para quaisquer sinais de toxicidade, incluindo alterações na pele e pelo, olhos e membranas mucosas, desconforto respiratório e digestivo, produção urinária, padrão de comportamento, tremores, convulsões, salivação, letargia, sono, coma e morte. No 14º dia, os animais foram

sacrificados por sobredose de anestésicos conforme descrito em 5.3 e submetidos a autopsia macroscópica dos órgãos para observação anátomo-morfológica.

6.5 Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em camundongos

6.5.1 Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

Após jejum de sólidos por 12 horas, os camundongos foram divididos em grupos (n=8 animais/grupo) e tratados por via oral com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,25 e 12,5 mg/kg) ou N-acetilcisteína (Sigma-Aldrich, NAC) 200 mg/kg. As doses de LsHE foram selecionadas com base em estudos prévios realizados pelo laboratório. Após uma hora do tratamento, as lesões gástricas foram induzidas com a administração oral de etanol absoluto (Sigma-Aldrich, 99,5%, 0,2 mL/ animal), segundo metodologia descrita por Morimoto *et al.* (1991), com alterações. Decorridos trinta minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos conforme descrito em 5.3. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior e limpos com solução salina gelada (NaCl 0,9%). Os estômagos foram fotografados e a área da lesão gástrica glandular foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Um grupo controle, com animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol, foi incluído no experimento para visualização dos padrões de normalidade. Os resultados foram expressos como área de lesão gástrica (mm²).

6.5.2 Análise histológica das lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

A análise histológica foi realizada em estômagos previamente submetidos ao protocolo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto (n= 4 animais/grupo), conforme descrito previamente em 6.5.1. Os animais foram pré-tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg) ou NAC (200 mg/kg) e um grupo controle, com animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol, foi incluído no experimento para controlar os padrões histológicos de normalidade.

Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da curvatura maior, limpos com salina (NaCl 0,9%) e fixados em solução de formalina tamponada (10%, pH 6,8-7,4), onde ficaram imersos por 24 horas. As peças foram emblocadas em parafina, desidratadas em álcool e diafanizadas em xilol. As lâminas obtidas através dos cortes (4-5 µm), foram submetidas à coloração por hematoxilina-eosina (H&E) para as análises. As lâminas foram examinadas com o auxílio de um microscópio óptico com câmera acoplada para obtenção das fotomicrografias com aumento de 100x. As alterações histológicas avaliadas foram erosão, edema, hemorragia e infiltrado de células inflamatórias, com sua intensidade expressa como escore, onde (+++) indica alterações severas, (++) moderadas, (+) médias e (-) ausentes (AL-SAYED; EL-NAGA, 2015; BANCHROFT; STEVENS; TURNER, 1996). As análises foram realizadas por patologista habilitado, aleatoriamente e sem conhecimento prévio dos grupos para evitar interferência nos resultados.

6.5.3 Lesões gástricas induzidas por indometacina

Após jejum de sólidos por 12 horas, os camundongos foram divididos em grupos (n=8 animais/grupo) e tratados por via oral com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg) ou omeprazol (EMS, 30 mg/kg). Após uma hora do tratamento, as lesões gástricas foram induzidas com a administração oral de indometacina (Sigma-Aldrich, 30 mg/kg em solução de bicarbonato de sódio 5%) segundo metodologia descrita por Olinda *et al.* (2008), com alterações. Os animais foram eutanasiados sete horas após a administração da indometacina por sobredose de anestésicos, conforme descrito em 5.3. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior e limpos com solução salina gelada (NaCl 0,9%). Os estômagos foram fotografados e a área da lesão gástrica glandular foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Um grupo controle, com animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem a indometacina, foi incluído no experimento para visualização dos padrões de normalidade. Os resultados foram expressos como área de lesão gástrica (mm²).

6.6 Avaliação do conteúdo de muco e de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação

Os camundongos utilizados nos protocolos de determinação do conteúdo de muco e dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação foram previamente submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol, conforme descrito em 6.5.1 ou ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina, conforme descrito em 6.5.3. Os animais submetidos aos protocolos foram pré-tratados com veículo (Grupos etanol e indometacina, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg), NAC (200 mg/kg), no protocolo de indução por etanol, ou omeprazol (30 mg/kg), no protocolo de indução por indometacina. Um grupo controle, com animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem os agentes indutores de úlcera, foi incluído no experimento para controlar os padrões fisiológicos de normalidade.

6.6.1 Determinação do conteúdo de muco na barreira protetora gástrica

A determinação do conteúdo de muco da barreira protetora da mucosa gástrica foi realizada seguindo metodologia descrita por Corne; Morrissey; Woods (1974). Após o protocolo inicial, descrito em 6.5.1 ou 6.5.3, onde os animais (n= 8 animais/grupo) foram submetidos a etapa de indução de lesão gástrica, a região glandular dos estômagos de cada um dos animais foi coletada e pesada em balança analítica. Depois disso, os tecidos foram transferidos para uma solução corante de azul de alcian 0,1% (solução de sacarose 0,16 M tamponada com 0,05 M de acetato de sódio, pH 5) onde permaneceram por duas horas, sob agitação a cada trinta minutos por inversão dos tubos.

O excesso de corante dos segmentos foi removido e estes foram lavados em solução de sacarose (0,25 M) por 15 minutos e, depois de trocada a solução, por mais 45 minutos. O processo de lavagem ocorreu sob agitação constante em mesa agitadora. Após as lavagens, o corante que aderiu ao muco foi extraído com solução de cloreto de magnésio (0,5 M) por duas horas também sob agitação constante. Os tecidos foram desprezados e a solução contendo o corante extraído foi misturado na proporção 1:1 com éter dietílico. A mistura foi centrifugada a 3.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante teve a absorbância mensurada no comprimento de onda de 598 nm. A quantidade de muco foi determinada a partir de uma curva

padrão de corante e expressa como micrograma de azul de alcian extraído por cada grama de tecido gástrico.

6.6.2 Determinação de malondialdeído

Para estimar os níveis de peroxidação lipídica, a região glandular dos estômagos dos camundongos foram utilizadas para a quantificação de níveis de malondialdeído (MDA), utilizando o método descrito por Agar *et al.* (1999), com algumas modificações. 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 do tipo tissuelyser. O homogenato obtido deste tecido foi centrifugado a 12.000 rpm, por 15 minutos à 4 °C. Após a centrifugação, alíquotas de 150 µL do sobrenadante foram misturadas com ácido tiobarbitúrico 0,5% (TBA) (diluído em ácido acético 20%, pH 2,4 - 2,6). A mistura foi transferida para o banho-maria com temperatura de 85°C e permaneceu durante duas horas com agitação a cada trinta minutos. Em seguida, esta foi transferida para banho de gelo, onde permaneceu por 15 minutos até o resfriamento total. Após estes procedimentos, foi adicionado, 25 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS, 8,1%) e a mistura foi imediatamente centrifugada a 12.000 rpm, por 15 minutos à 25 °C. A leitura da absorbância foi realizada em comprimento de onda em 532 nm. Para a análise dos resultados, foi realizada uma curva padrão utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano. A dosagem de proteínas presentes nas amostras foi determinada segundo método descrito por Lowry *et al.* (1951). Os resultados foram expressos em micromols de MDA por miligrama de proteína (µM/ mg proteína).

6.6.3 Determinação de glutathiona reduzida

O ensaio para a determinação da concentração de glutathiona reduzida (GSH) foi realizado segundo protocolo descrito por Sedlak e Lindsay (1968). Os tecidos gástricos 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 do tipo tissuelyser. Em seguida, 40 µL de cada homogenato foram misturados a 50 µL de água destilada e 10 µL de ácido tricloroacético (TCA). A mistura resultante foi centrifugada a 5.000 rpm, durante 15 minutos à 4 °C e 60 µL do sobrenadante obtido em cada um dos eppendorfs foram pipetados em uma placa de 96 poços resfriada. Ao sobrenadante na placa, foram adicionados 100 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-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid - DTNB). A leitura da absorbância foi realizada imediatamente após a adição do DTNB, utilizando um leitor de microplaca à 412 nm. Os resultados de absorbância foram interpolados a uma curva padrão de glutathiona reduzida e expressos como micrograma de GSH por miligrama de tecido gástrico ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido).

6.6.4 Determinação da atividade da catalase

A região glandular dos estômagos dos camundongos foi utilizada para verificar a participação da enzima catalase, atividade da catalase (CAT), na proteção da mucosa gástrica causada por LsHE, utilizando o protocolo previamente descrito por Beers e Sizer (1952), com modificações. Para isso, 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 do tipo tissuelyser. O homogenato obtido deste tecido foi centrifugado a 3.000 rpm, por 15 minutos à 4 °C e 10 μL do sobrenadante obtido foi misturado a 2 mL de uma solução tampão/ peróxido de hidrogênio (0,059 M). Imediatamente após a mistura, a absorbância foi lida em espectrofotômetro, utilizando uma cubeta de quartzo à 240 nm. A leitura foi repetida durante seis minutos após a leitura inicial e a diferença entre as absorbâncias do primeiro e do sexto minuto foi considerada para determinar a atividade da enzima presente nas amostras. Os resultados foram expressos em milimolar de catalase pelo tempo por miligrama de tecido (mM/ min/ mg de tecido).

6.6.5 Determinação da atividade da superóxido dismutase

Para determinação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi seguida a metodologia descrita por Giannopolitis e Ries (1977), com alterações. 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 do tipo tissuelyser. O homogenato obtido deste tecido foi centrifugado a 12.000 rpm por 20 minutos à 4 °C. 5 μL do sobrenadante proveniente deste homogenato foram misturados a 150 μL de NBT (Azul de nitrotetrazólio, 750 μM), 300 μL de riboflavina (10 μM) e 100 μL de meio de reação (tampão fosfato de potássio 0,5 M, pH 7,8, contendo 0,1 mM de EDTA e 19,5 mM de L-metionina). A mistura ocorreu no escuro à temperatura ambiente e a reação foi iniciada pela exposição a

uma lâmpada fluorescente de 20 W que permaneceu ligada durante 15 minutos. A reação foi paralisada com o desligamento da lâmpada e a mensuração da absorbância foi imediatamente realizada utilizando um leitor de microplaca à 560 nm. A dosagem de proteínas presentes nas amostras foi determinada segundo método descrito por Lowry *et al.* (1951). Os resultados foram expressos como unidade da enzima, isto é, quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50% por miligrama de proteína (U/ mg).

6.6.6 Determinação da atividade da mieloperoxidase

A atividade enzimática da mieloperoxidase foi avaliada segundo protocolo descrito por Bradley *et al.* (1982). Os tecidos foram pesados e homogeneizados em solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB, 0,5% diluído em tampão fosfato de sódio 0,5 M, pH 6,0), na proporção de 10% p/v, utilizando um homogeneizador de tecido do tipo tissuelyser. O homogenato obtido passou então por um processo de três ciclos de congelamentos e descongelamentos seguidos, sendo rapidamente congelado em nitrogênio líquido durante um minuto e descongelado em aparelho do tipo sonicador durante cinco minutos. Após esta etapa, o material obtido foi centrifugado a 8.300 rpm, por 10 minutos à 4 °C. O sobrenadante (50 µL) foi adicionado a 150 µL de solução de reação composta por tampão fosfato de sódio 0,5 M, pH 6,0, contendo cloridrato de o-dianisidina (0,167 mg/mL) e peróxido de hidrogênio (0,0005%). Imediatamente após a mistura, a leitura da absorbância foi realizada em comprimento de onda de 450 nm durante seis minutos. A diferença entre as absorbâncias do primeiro e do sexto minuto foi considerada para determinar a atividade da enzima presente nas amostras. Uma unidade de atividade de MPO foi definida como a conversão de 1 µmol de peróxido de hidrogênio em um minuto à 25 °C. Os resultados foram expressos como unidade da enzima por miligrama de tecido (U/ mg de tecido).

6.7 Avaliação dos mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor de LsHE em camundongos

6.7.1 Avaliação do papel das prostaglandinas

Para a avaliação da participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor de LsHE, grupos de camundongos (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados por via subcutânea com

indometacina (Sigma-Aldrich, 10 mg/kg, diluída em solução de bicarbonato de sódio 5%), um inibidor não seletivo da COX. Trinta minutos após a administração, os animais receberam por via oral o veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), o LsHE (1,6 mg/ kg) ou o misoprostol (HeBron, 50 µg/ kg). Uma hora após a realização dos tratamentos, os animais também receberam por via oral o etanol absoluto (0,2 mL/ animal), de acordo com protocolo descrito por Matsuda; Li; Yoshikawa (1999), com modificações. Após trinta minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas de acordo com protocolo previamente descrito em 6.5.1.

6.7.2 Avaliação do papel do Óxido Nítrico (NO)

Para a avaliação da participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor de LsHE, grupos de camundongos (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados por via intraperitoneal com N ω -nitro-L-arginina metil éster (Sigma-Aldrich, L-NAME, 20 mg/ kg), um inibidor da óxido nítrico sintase (NOS). Trinta minutos após a administração, os animais receberam o veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg, v.o.), o LsHE (1,6 mg/ kg, v.o.) ou a L-arginina, (Sigma-Aldrich, 600 mg/ kg, i.p.), de acordo com protocolo descrito por Leite *et al.* (2009). Uma hora após a realização dos tratamentos, os animais receberam por via oral o etanol absoluto (0,2 mL/ animal). Trinta minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas de acordo com protocolo previamente descrito em 6.5.1.

6.7.3 Avaliação do papel dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (KATP)

Para a avaliação da participação dos canais de potássio sensíveis ao ATP (KATP) no efeito gastroprotetor de LsHE, grupos de camundongos (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados por via intraperitoneal com glibenclamida (Sigma-Aldrich, 3 mg/ kg), um bloqueador dos canais KATP, de acordo com protocolo descrito por Leite *et al.* (2009). Trinta minutos após a administração, os animais receberam o veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg, v.o.), o LsHE (1,6 mg/ kg, v.o.) ou o diazóxido (Sigma-Aldrich, 3 mg/ kg, i.p.). Uma hora após a realização dos tratamentos, os animais receberam por via oral o etanol absoluto (0,2 mL/ animal). Trinta minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas de acordo com protocolo previamente descrito em 6.5.1.

6.7.4 Avaliação do papel dos receptores TRPV

Para a avaliação da participação dos receptores vanilóides transitórios (TRPV) no efeito gastroprotetor de LsHE, grupos de camundongos (n=8 animais/grupo) foram pré-tratados por via subcutânea com vermelho de rutênio (Sigma-Aldrich, 3,5 mg/ kg), um bloqueador não seletivo dos canais TRPV. Trinta minutos após a administração, os animais receberam por via oral o veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), o LsHE (1,6 mg/ kg) ou a capsaicina (Sigma-Aldrich, 0,3 mg/ kg). Uma hora após a realização dos tratamentos, os animais receberam também por via oral o etanol absoluto (0,2 mL/ animal), de acordo com protocolo descrito por Vale (2020). Trinta minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados e as lesões gástricas mensuradas de acordo com protocolo previamente descrito em 6.5.1.

6.8 Determinação de volume gástrico, acidez e pH em camundongos

Para determinação do volume de secreção gástrica, da acidez e do pH foi realizado o método de ligação pilórica, seguindo metodologia descrita por Kinoshita; Saito; Tamaki (1997) e adaptada para camundongos segundo Monteiro *et al.* (2019). Após jejum de sólidos 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. Todos os materiais cirúrgicos utilizados neste procedimento foram previamente esterilizados através de autoclave (121 °C por 15 minutos). O piloro foi identificado e amarrado com fio de algodão. Animais do grupo histamina (Veículo, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (1,6 mg/kg) ou omeprazol (EMS, 30 mg/kg) receberam o tratamento por via intraduodenal.

Foram inseridos no experimento um grupo falsamente operado (sham) e um grupo controle de ligação, que foi submetido a ligação do piloro, mas não recebeu nenhum tipo de tratamento. Após a sutura, os animais, exceto do grupo sham e do grupo controle de ligação, receberam uma injeção intraperitoneal de histamina (5 mg/kg). Quatro horas após a ligação pilórica, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos conforme descrito em 5.3. Imediatamente após o sacrifício, os estômagos foram amarrados com fio de algodão na região da cárdia para evitar a perda de líquido. Os estômagos foram cuidadosamente retirados

e o conteúdo estomacal foi coletado em tubo de ensaio e submetido a centrifugação a 1.000 rpm, por 10 minutos à 25 °C. O sobrenadante foi coletado e teve seu volume aferido. A acidez e o pH da secreção gástrica foram calculados por titulação com fenolftaleína 1% e solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,01 N) através das seguintes fórmulas:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

$$\text{Acidez (mEq H}^+/\text{L/4h)} = V \text{ NaOH} \times N \times 100$$

$$[\text{H}^+] = \text{Concentração de H}^+ \text{ (mol/litro)}$$

$$V \text{ NaOH} = \text{Volume de NaOH adicionado durante a titulação}$$

$$N = \text{Normalidade do NaOH adicionado}$$

6.9 Avaliação da atividade cicatrizante gástrica em ratos

6.9.1 Lesão gástrica induzida por ácido acético 80%

Após jejum de sólidos por 12 horas, os ratos foram divididos em grupos (n=8 animais/grupo) e anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) administradas por via intraperitoneal. Sob o efeito da anestesia, os animais tiveram os pelos da região tórax/abdominal retirados para diminuir o risco de infecções e foram submetidos a um processo cirúrgico no qual foi realizada uma incisão longitudinal logo abaixo do processo xifoide (lado direito do animal). Todos os materiais cirúrgicos utilizados neste procedimento foram previamente esterilizados através de autoclave (121 °C por 15 minutos). O estômago foi exposto para a parte de fora da incisão e foi induzida uma lesão na região serosa gástrica através da aplicação tópica de 70 µL de ácido acético a 80% (v/v). Um tubo de polietileno, com 6 mm de diâmetro e 2 cm de altura, foi colocado na região para delimitar o espaço de contato do ácido com a superfície do estômago. O ácido foi colocado delicadamente dentro do tubo com o auxílio de uma micropipeta automática e permaneceu por sessenta segundos em contato com o tecido. Passado este tempo, o ácido foi removido com a mesma pipeta (OKABE; AMAGASE, 2005; TAKAGI; OKABE; SAZIKI, 1969). A região foi lavada abundantemente com solução salina estéril (NaCl 0,9%), seca com papel filtro e o estômago foi acomodado novamente na cavidade abdominal. O corte foi suturado com duas suturas independentes, uma sutura interna, na região muscular, e uma sutura externa na região da pele.

Um grupo Sham foi incluído no estudo e serviu para controle. Este grupo foi submetido ao procedimento cirúrgico, mas recebeu a aplicação de solução salina ao invés de ácido acético na região serosa gástrica. Os animais foram observados até acordarem da anestesia e então foram acomodados em gaiolas individualizadas. Um dia após o procedimento cirúrgico, foi iniciado o tratamento com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (25, 50 e 100 mg/kg) ou omeprazol (EMS, 30 mg/kg), administrados por via oral, uma vez ao dia, durante sete dias. As doses de LsHE foram selecionadas com base em estudos prévios realizados pelo laboratório. No oitavo dia os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos, conforme descrito em 5.3. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior e limpos com solução salina gelada. Os estômagos foram fotografados e a lesão gástrica foi mensurada, com o auxílio de um paquímetro digital, avaliando a área (mm²), o volume da lesão (mm³) e a taxa de cicatrização (SILVA *et al.*, 2012). Após essas mensurações, parte da lesão foi armazenada em freezer - 80°C, para análises de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação, e a outra parte foi fixada em formalina tamponada (10%) para procedimentos histopatológicos.

Taxa de cicatrização da lesão =

$$\frac{\text{Área da lesão no grupo veículo} - \text{Área da lesão no grupo teste}}{\text{Área da lesão no grupo veículo}} \times 100$$

6.9.2 Análise histológica da lesão gástrica induzida por ácido acético 80%

A análise histológica foi realizada na região das lesões dos estômagos previamente submetidos à lesão gástrica induzida por ácido acético (n = 6 animais/grupo), seguindo o protocolo descrito anteriormente em 6.9.1. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior, limpos com solução salina (NaCl 0,9%) e fixados em solução de formalina tamponada (10%, pH entre 6,8 e 7,4). As peças foram emblocadas em parafina, desidratadas em álcool e diafanizadas em xilol. As lâminas obtidas através dos cortes (4-5 µm), foram submetidas à coloração por hematoxilina-eosina (H&E) e examinadas com o auxílio de um microscópio óptico para obtenção das fotomicrografias com aumento de 100x e 400x. As alterações histológicas avaliadas foram presença de epitélio queratinizado, presença de erosão e perda de trechos do epitélio, presença de vasos ectásicos e de hemorragia e presença de focos

inflamatórios. A intensidade das alterações foi expressa como escore, onde (+++) indica alterações severas, (++) moderadas, (+) médias e (-) ausentes (CAVALCANTE *et al.*, 2011 BANCHROFT; STEVENS; TURNER, 1996). As análises foram realizadas por patologista habilitado, aleatoriamente e sem conhecimento prévio dos grupos para evitar interferência nos resultados.

6.10 Efeito de LsHE sobre parâmetros indicativos de toxicidade no protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético 80% em ratos

6.10.1 Avaliação do efeito de LsHE sobre o peso dos animais, consumo de água e de ração

Juntamente com o protocolo de indução de lesões gástricas por ácido acético, descrito anteriormente em 6.9.1, foram avaliadas as possíveis alterações provocadas pelo tratamento diário dos animais com o LsHE nas três doses testadas durante o tratamento da lesão gástrica (25, 50 e 100 mg/kg). Após acordarem da anestesia, os animais foram transferidos para gaiolas individualizadas com quantidade padrão de água e comida. O peso dos animais, o consumo de água e o consumo de ração foi aferido diariamente durante os sete dias de tratamento, sempre no mesmo horário. Para fins de controle, também foram avaliados os mesmos parâmetros nos grupos sham, ácido acético (Veículo, NaCl 0,9%, 10 mL/kg) e omeprazol (30 mg/kg).

6.10.2 Avaliação do efeito de LsHE sobre o peso relativo dos órgãos

No oitavo dia após o procedimento cirúrgico de indução de lesões gástricas por ácido acético, os animais foram eutanasiados conforme descrito anteriormente em 6.9.1. Após a remoção dos estômagos, foi realizada a remoção do fígado, baço, rins, coração e pulmão. Os órgãos foram avaliados macroscopicamente na busca por alterações na coloração, textura e formato. Os órgãos retirados foram levemente secos em papel filtro e pesados em balança analítica.

A análise do peso relativo dos órgãos foi calculada segundo a fórmula:

$$\text{Peso relativo do órgão} = \frac{\text{Peso do órgão (g)}}{\text{Peso corporal do animal no dia da eutanásia (g)}} \times 100$$

6.10.3 Avaliação do efeito de LsHE sobre parâmetros bioquímicos indicativos de toxicidade

No oitavo dia após o procedimento cirúrgico de indução de lesões gástricas por ácido acético, antes da realização da eutanásia, os animais foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por administração intraperitoneal. O sangue foi coletado através de punção cardíaca com uma agulha posicionada na base do esterno do animal com inclinação de 30°. O coração foi delicadamente perfurado e uma leve pressão foi realizada no embolo da seringa para início da coleta que foi realizada de forma lenta para evitar o rompimento das hemácias. Após este procedimento, os animais foram submetidos a eutanásia através de uma nova injeção intraperitoneal, desta vez na dose de 300 mg/kg de cetamina e de 30 mg/kg de xilazina. Os demais procedimentos foram descritos anteriormente em 6.9.1.

O sangue foi delicadamente adicionado a tubos a vácuo com gel separador e após a coagulação, os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos à 25 °C. O soro obtido foi aliqotado em tubos do tipo eppendorf e ficou estocado na geladeira a 8°C, no freezer a -20 °C ou no freezer a -80 °C, a depender do teste que seria realizado. Todas as análises foram realizadas respeitando o tempo máximo de armazenamento do soro. Foram analisados os seguintes parâmetros: Glicose, ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase), ureia, creatinina, colesterol total e triglicérides. Todos os ensaios foram realizados em aparelho automático do tipo LabQuest, com reagentes da marca Labtest®, seguindo os procedimentos e orientações descritas pelo fabricante do kit.

6.11 Avaliação de marcadores do estresse oxidativo e da inflamação na lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos

Os ratos utilizados nestes protocolos foram previamente submetidos a indução de lesões gástricas por ácido acético, conforme descrito em 6.9.1. Os animais foram tratados durante sete dias com veículo (Grupo Ácido acético, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (25, 50 e 100 mg/kg) ou omeprazol (EMS, 30 mg/kg). O grupo controle sham, com animais não tratados

e que também não foram submetidos ao processo de indução de úlcera, também foi incluído nos experimentos para controlar os padrões de normalidade.

Os estômagos retirados após a eutanásia dos animais tiveram a região da lesão dividida em duas partes. A parte do estômago que foi destinada a análise dos marcadores do estresse oxidativo e da inflamação foi cortada em fragmentos com 1cm de distância do centro da lesão. Para padronização, os estômagos de animais do grupo sham foram cortados em fragmentos do mesmo tamanho partindo de um ponto comum no centro da região do estômago onde deveria estar a lesão. Todos os fragmentos obtidos foram pesados em balança analítica e previamente cortados em pequenos fragmentos com o auxílio de uma tesoura cirúrgica.

Para determinação dos níveis de malondialdeído (MDA) foram seguidos os procedimentos descritos previamente em 6.6.2. Para determinação dos níveis de glutathione reduzida (GSH) foram seguidos os procedimentos descritos em 6.6.3. Para determinação da atividade da catalase (CAT) foram seguidos os procedimentos descritos em 6.6.4. Para determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD) foram seguidos os procedimentos descritos em 6.6.5. Para determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) foram seguidos os procedimentos descritos em 6.6.6.

6.12 Análise estatística

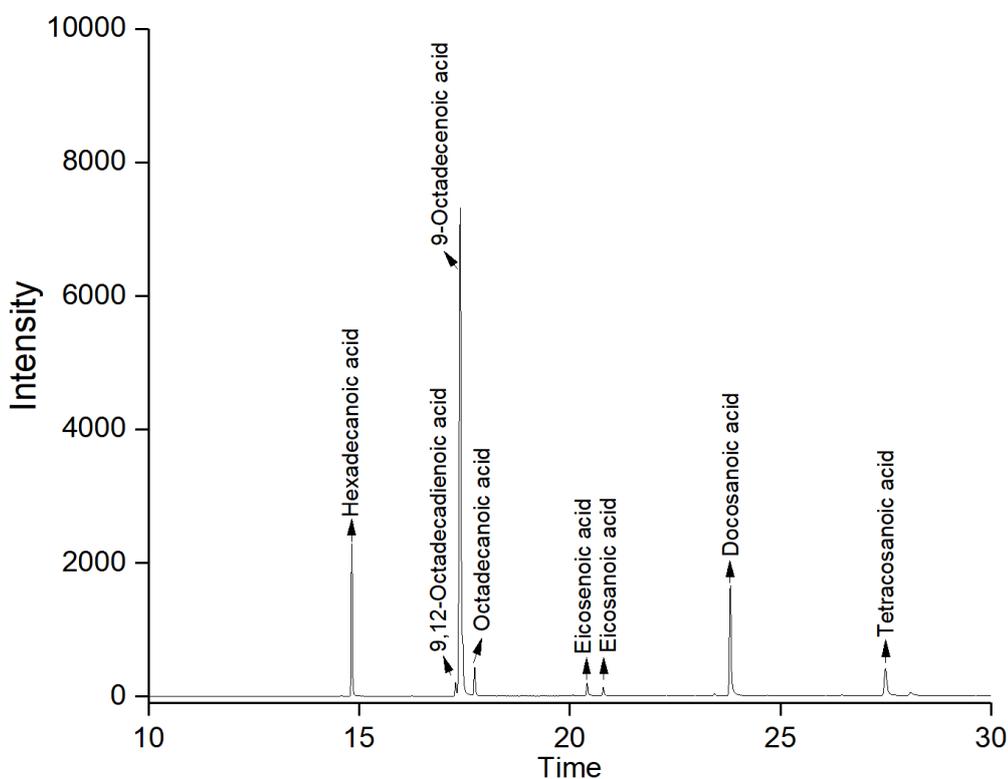
A análise estatística foi realizada utilizando o teste de análise de variância (ANOVA) de um via ou duas vias, seguido dos testes de Tukey ou Bonferroni. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) de oito animais por grupo. Valores de p menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. O programa utilizado para a análise estatística foi o GraphPad Prism® 5.01.

7 RESULTADOS

7.1 Composição química do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE)

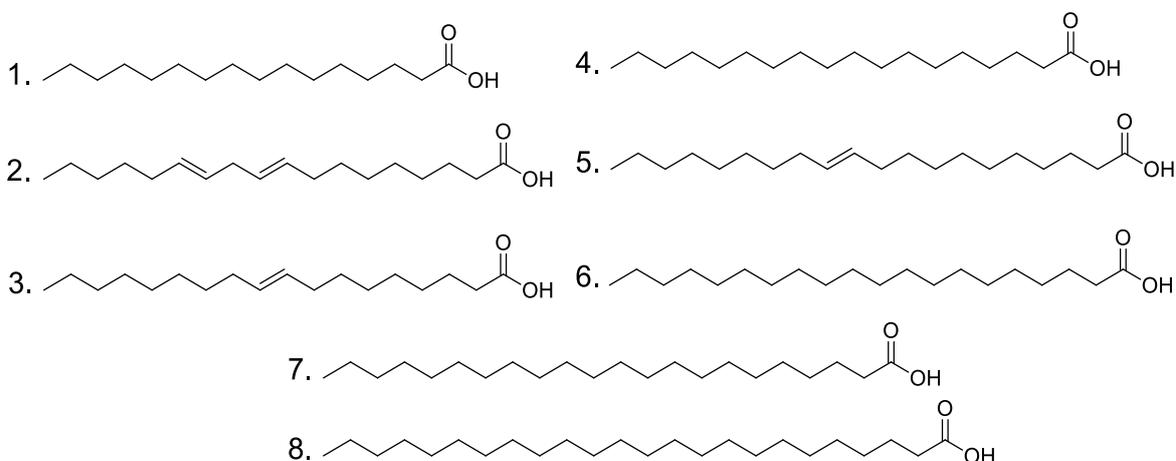
O perfil químico do extrato hexânico das sementes de *L. sericeus* (LsHE) foi identificado pela comparação do índice de retenção linear (IRL) com Adams (2007) e com a biblioteca NIST. Os picos foram numerados de acordo com a ordem de eluição (Figura 8). De acordo com a análise CG-MS, foram identificados oito compostos que são ácidos graxos (Figura 9). Um alto nível de confiança foi demonstrado entre o índice de retenção experimental e os valores de índice da biblioteca NIST. Esses resultados estão de acordo com os valores de correspondência “match” e “R match”.

Figura 8: Cromatograma do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE). Análise realizada em cromatógrafo a gás e espectrômetro de massa (CG-MS).



FONTE: Elaborada pelo autor. Análise realizada em coluna HP-5MS (Agilent®). Intensity – Intensidade. Time – Tempo em minutos.

Figura 9: Compostos identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



FONTE: Elaborada pelo autor. Análise realizada em cromatógrafo a gás e espectrômetro de massa (CG-MS). Estruturas desenhadas utilizando o software ACD labs Chemskech (Toronto, On, Canadá). 1. Ácido hexadecanoico; 2. Ácido 9-12-octadecadienoico; 3. Ácido 9-octadecenóico; 4. Ácido octadecanóico; 5. Ácido eicosenoico; 6. Ácido eicosanóico; 7. Ácido docosanoico; 8. Ácido tetradecanóico.

De acordo com a análise CG-FID, LsHE apresentou como composto majoritário o ácido oleico 67,03% (ácido 9-octadecenóico), seguido pelo ácido palmítico 11,17% (ácido hexadecanoico) e pelo ácido beénico 10,74% (ácido docosanoico). Em menores quantidades identificamos: ácido lignocérico 4,25% (ácido tetradecanóico), ácido esteárico 2,3% (ácido octadecanóico), ácido gondoico 1,87% (ácido eicosenoico), ácido linoleico 1,64% (ácido 9-12-octadecadienoico) e ácido araquidônico 1,01% (ácido eicosanóico) (Tabela 2).

7.2 Análise *in silico* dos componentes majoritários do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE)

7.2.1 Parâmetros ADME/T

Foram selecionados para avaliação *in silico* os três componentes majoritários (>10%) encontrados em LsHE, ácido oleico (ácido 9-octadecenóico), ácido palmítico (ácido hexadecanoico) e ácido beénico (ácido docosanoico). A tabela 3 apresenta as propriedades físico-químicas de cada uma das moléculas identificadas em LsHE.

Tabela 2: Componentes identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

N° Pico	Nome do composto	Nome usual	TR (min) ^a	% ^b	IR _{exp} ^c	IR _{lit} ^d	Match ^d	R. match ^d	Fragmentos de ions
1	Ácido hexadecanoico	Ácido palmítico	14.82	11.17	1925	1921	941	941	74(BP ^e), 87, 143, 227, 270 (M ⁺)
2	Ácido 9-12-octadecadienoico	Ácido linoleico	17.28	1.64	2096	2095	886	915	55, 67 (BP ^e), 81, 95, 263, 294 (M ⁺)
3	Ácido 9-octadecenóico	Ácido oleico	17.40	67.03	2104	2103	829	864	41, 55 (BP ^e), 69, 74, 264 (M ⁺)
4	Ácido octadecanóico	Ácido esteárico	17.74	2.30	2127	2125	906	948	55, 75 (BP ^e), 87, 143, 298 (M ⁺)
5	Ácido eicosenoico	Ácido gondoico	20.41	1.87	2302	2321	877	877	41, 55 (BP ^e), 69, 83, 292, 324 (M ⁺)
6	Ácido eicosanóico	Ácido araquidônico	20.80	1.01	2328	2335	827	855	43, 55, 69, 74 (BP ^e), 87, 326 (M ⁺)
7	Ácido docosanoico	Ácido beénico	23.81	10.74	2528	2530	900	903	43, 55, 74 (BP ^e), 87, 143, 354 (M ⁺)
8	Ácido tetradecanóico	Ácido lignocérico	27.49	4.25	2728	2731	844	864	43, 47, 74 (BP ^e), 87, 143, 382 (M ⁺)

FONTE: Elaborada pelo autor. Análise realizada em cromatógrafo a gás e espectrômetro de massa (CG-MS) e cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (CG-FID). a. Tempo de retenção; b. Proporção do pico na composição do extrato de sementes de *L. sericeus* (LsHE); c. Índice de retenção experimental; d. Índice de retenção da literatura, Nist e Adams (2007), valor de correspondência entre os principais fragmentos do espectro nist e o espectro do pico analisado. Um valor alto indica um alto nível de confiança. A ausência ou adição de outros fragmentos no espectro do pico resulta em baixa correspondência; e. Pico base.

Tabela 3: Propriedades físico-químicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Ácido Beénico
Fórmula molecular	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	C ₂₂ H ₄₄ O ₂
Peso molecular (g/mol)	282,46	256,42	340,58
Recebimento de moléculas de hidrogênio	2	2	2
Doadores de moléculas de hidrogênio	1	1	1
cLogP	5,71	5,20	7,40

FONTE: Elaborado pelo autor. cLogP: Coeficiente de partição logaritmo entre octanol e água (coctanol/cágua), importante para a farmacocinética dos fármacos. Análises realizadas pelas plataformas Swiss ADME (SIB, Lausanne, Suíça), Molinspiration (Molinspiration Chemin formatics, Nova Ulica, Eslováquia) e Servidor Protox-II (Charité University, Berlim, Alemanha).

A tabela 4 apresenta parâmetros relacionados a absorção dos componentes majoritários de LsHE. O ácido oleico e o ácido palmítico possuem alta capacidade de absorção pelas células da mucosa gastrointestinal, mas o ácido beénico possui baixa probabilidade de ser absorvido diretamente por estas células. A probabilidade de penetração na barreira hematoencefálica é baixa para os ácidos oleico e beénico, mas é alta para o ácido palmítico. Já o coeficiente de permeabilidade (Log Kp cm/s) do ácido beénico foi mais alto (-1,01), mostrando maior probabilidade de penetração nas células epiteliais, do que o encontrado para os ácidos oleico (-2,60) e palmítico (-2,77), que apresentaram menor probabilidade de penetração epitelial. A presença de glicoproteínas de permeabilidade (P-GPs), que poderiam estar facilitando a penetração das moléculas, não foi provável em nenhum dos componentes.

Tabela 4: Propriedades de absorção dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Ácido Beénico
Absorção gastrointestinal	Alta	Alta	Baixa
Penetração na barreira hematoencefálica	Não	Sim	Não
Penetração na pele – Log Kp(cm/s)	-2,60	-2,77	-1,01
Presença de P-GPs	Não	Não	Não

FONTE: Elaborado pelo autor. P-GPs, Glicoproteínas de permeabilidade. Análises realizadas com base no método da “gema de ovo cozido” (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017), através das plataformas Swiss ADME (SIB, Lausanne, Suíça) e Molinspiration (Molinspiration Cheminformatics, Nova Ulica, Eslováquia).

Também foram avaliados parâmetros relacionados a acessibilidade sintética, a biodisponibilidade e o “Drug Likeness” dos três componentes majoritários de LsHE (Tabela 5). Com relação a acessibilidade sintética ocorreu pequena diferença entre o ácido oleico (3,07), o ácido palmítico (3,00) e o ácido beénico (2,31). Na análise de biodisponibilidade os três componentes apresentaram o mesmo escore (0,85). Durante a avaliação da semelhança com outras drogas conhecidas (“Drug Likeness”), nenhum dos três componentes apresentou ou se aproximou de um resultado com número positivo que indicaria essa semelhança com outros medicamentos.

Para avaliar as possíveis interações metabólicas na metabolização de fármacos, foram analisadas a inibição da família de monooxigenases citocromo P450 (CYP450) (Tabela 6). O ácido oleico e o ácido palmítico foram capazes de inibir apenas a CYP450 2C9 e a CYP450 1A2. O ácido beénico só foi capaz de inibir a CYP450 1A2. Com relação a possível toxicidade dos componentes majoritários de LsHE, podemos visualizar os resultados encontrados na tabela 7. O ácido oleico foi classificado na classe de toxicidade 2, faixa amarela. Os ácidos palmítico e beénico foram classificados na classe de toxicidade 4, faixa verde. Com relação ao potencial mutagênico, potencial tumorigênico, potencial irritante, potencial hepatóxico, potencial efeito na reprodução e imunotoxicidade, todos os compostos apresentaram baixo risco de causarem qualquer alteração.

Tabela 5: Propriedades químico/biológicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Ácido Beénico
Acessibilidade sintética	3,07	2,31	3,00
Biodisponibilidade	0,85	0,85	0,85
“Drug-likness”	-28,97	-25,22	-25,22

FONTE: Elaborado pelo autor. Biodisponibilidade: Probabilidade de F > 10%. Acessibilidade sintética: 1 (Muito fácil) a 10 (Muito difícil). “Drug-likness”, semelhança com outras drogas conhecidas. Análises realizadas pelas plataformas Swiss ADME (SIB, Lausanne, Suíça) e Osiris Property Explorer, Osiris Data Warrior (Actelion Pharmaceuticals Ltd., Allschwil, Suíça).

Tabela 6: Possíveis interações metabólicas dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Ácido Beénico
Inibidor de CYP450 2C9	Sim	Sim	Não
Inibidor de CYP450 2D6	Não	Não	Não
Inibidor de CYP450 2C19	Não	Não	Não
Inibidor de CYP450 3A4	Não	Não	Não
Inibidor de CYP450 1A2	Sim	Sim	Sim

FONTE: Elaborado pelo autor. CYP450, Família de monooxigenases citocromo P450. Análise realizada pela plataforma CYPstrate and CYPlebrity (“New E-Resource for Drug Discovery” - NERDD).

Tabela 7: Potencial de toxicidade dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

	Ácido Oleico	Ácido Palmítico	Ácido Beénico
Classe de toxicidade	2	4	4
Potencial mutagênico	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Potencial tumorogênico	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Potencial irritante	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Potencial hepatóxico	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Potencial efeito na reprodução	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Imunotoxicidade	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco

FONTE: Elaborado pelo autor. Classes de toxicidade 1 (Extremamente tóxico) à 6 (Improvável de causar dano). Análise realizada pelo Servidor Protox-II (Charité University, Berlim, Alemanha).

7.2.2 Biotransformação metabólica *in silico*

As figuras 13, 14 e 15 nos mostram as prováveis transformações metabólicas que os três componentes majoritários de LsHE podem sofrer após entrarem em contato com o organismo. O ácido oleico (Figura 10) iniciará a transformação metabólica no carbono 18 (probabilidade 0,168) e durante o metabolismo de fase I, provavelmente sofrerá transformação do tipo beta oxidação (prioridade 0,37) ou transformação do tipo hidroxilação alifática (prioridade 0,28). Durante o metabolismo de fase II, o ácido oleico provavelmente sofrerá transformação do tipo glucuronidação (prioridade 0,94). Esta reação poderá ocorrer nos carbonos 16, 17 ou 20 da molécula com probabilidades de 0,4; 0,248 e 0,176, respectivamente.

O ácido palmítico (Figura 11) iniciará suas transformações metabólicas no carbono 1 (probabilidade 0,864) ou no carbono 2 (probabilidade 0,728). No metabolismo de fase I existem cinco reações com alta prioridade de ocorrerem na molécula. O ácido palmítico pode sofrer transformação do tipo hidroxilação alifática em três carbonos diferentes (prioridade de 0,372 ou 0,768); carbonilação (prioridade 0,768) ou beta oxidação (prioridade 0,648). Durante o metabolismo de fase II, é provável que a molécula passe por uma transformação do tipo glucuronidação (prioridade 0,963) no carbono 15 (probabilidade 0,456).

No caso do ácido beénico, conforme podemos observar na figura 12, ele iniciará as reações metabólicas de fase I no carbono 22 com probabilidade de 0,152. A molécula também

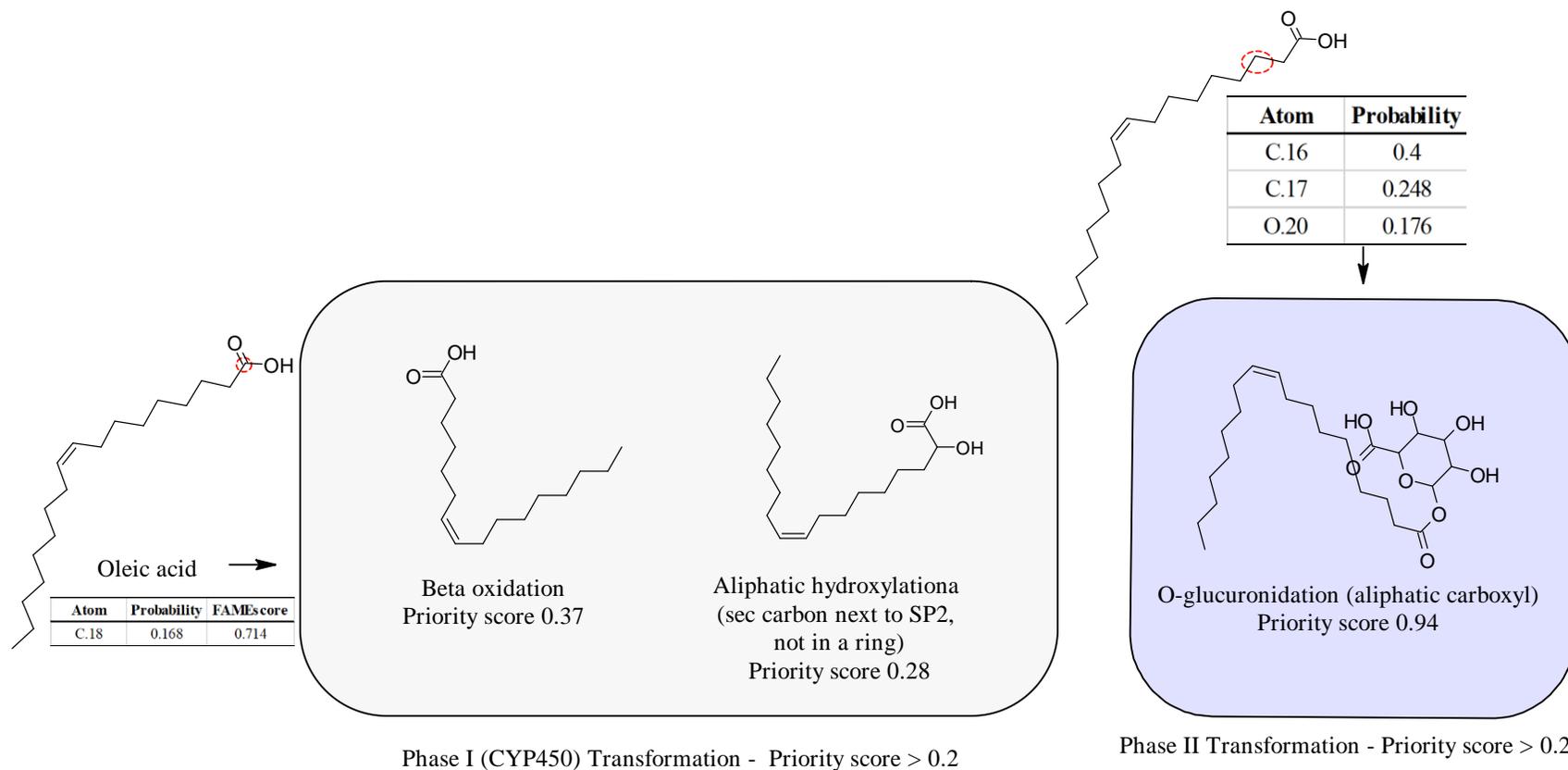
poderá sofrer transformação do tipo hidroxilação alifática (prioridade 0,256) ou transformação do tipo beta oxidação (prioridade 0,256). A reação mais provável de ocorrer durante o metabolismo de fase 2 será a transformação do tipo glucuronidação (prioridade 0,874) no carbono 20 (probabilidade 0,444).

7.2.3 Predição de alvos moleculares de LsHE

A figura 13 mostra as classes dos quinze principais alvos moleculares identificados para cada um dos componentes majoritários identificados em LsHE. Tanto o ácido oleico, como o ácido palmítico e o ácido beénico se ligam principalmente a enzimas, proteínas de ligação a ácidos graxos e receptores nucleares. Além disso, também ocorre a ligação a alguns receptores acoplados a proteína G, fosfatases, oxiredutases, dentre outros.

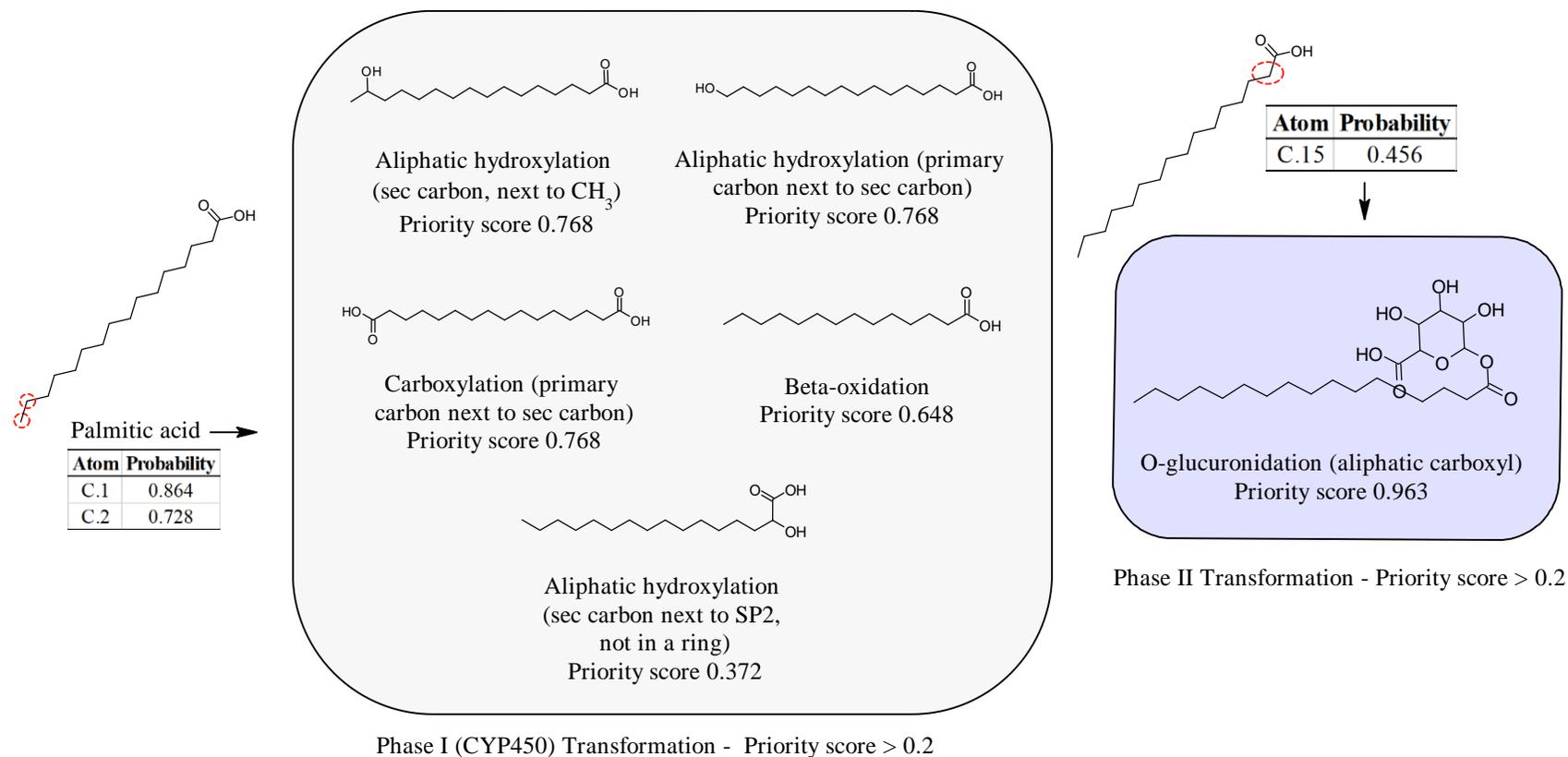
A tabela 8 mostra os alvos moleculares identificados com 100% de probabilidade de ligação para cada um dos componentes majoritários identificados em LsHE. O ácido oleico tem como alvos principais FABP1, FABP4, FABP5, FAAH, PPAR α , PPAR γ e PPAR δ . O ácido palmítico tem em comum com o ácido oleico FABP4, PPAR α , PPAR δ e FABP5. Além disso também tem como alvos FFAR1, FABP2 e FABP3. O ácido beénico tem em comum com o ácido palmito FFAR1, FABP2 e FABP3 e tem em comum com o ácido oleico e com o ácido palmítico FABP4, FABP5, PPAR α e PPAR δ .

Figura 10: Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido oleico, componente majoritário presente no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



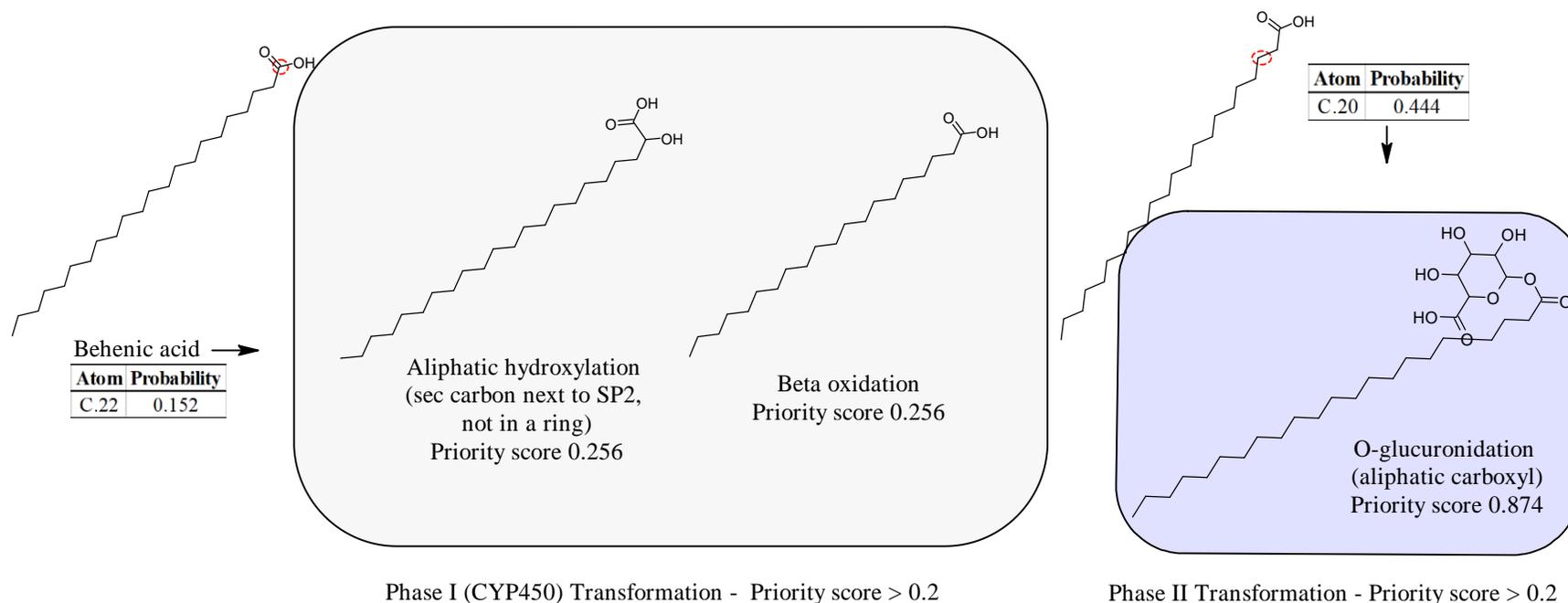
FONTE: Elaborado pelo autor. Análise realizada pelo SOMP (“Site of Metabolism Prediction”), NERDD (Terceira geração do FAME - “FASt MEtabolizer”), pela plataforma GLORYx e pela plataforma BioTransformer 3.0.

Figura 11: Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido palmítico, segundo componente majoritário presente no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



FONTE: Elaborado pelo autor. Análise realizada pelo SOMP (“Site of Metabolism Prediction”), NERDD (Terceira geração do FAME - “FAst METabolizer”), pela plataforma GLORYx e pela plataforma BioTransformer 3.0.

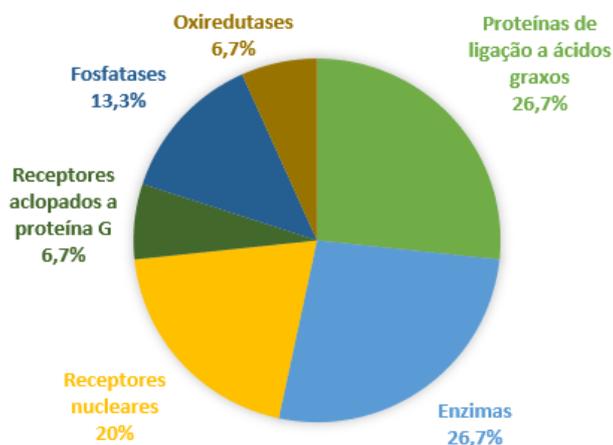
Figura 12: Predição das transformações metabólicas sofridas pelo ácido beénico, terceiro componente majoritário presente no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



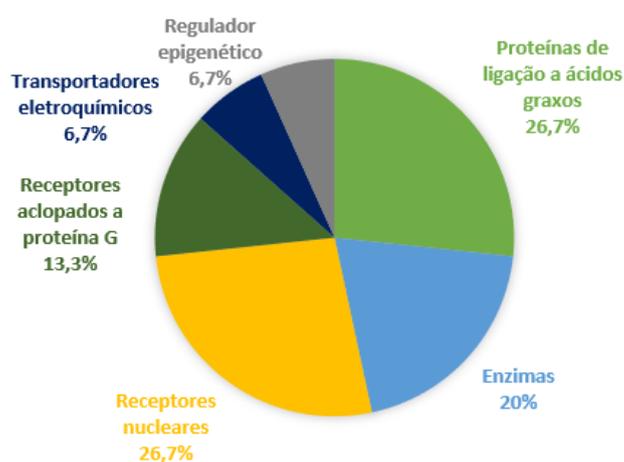
FONTE: Elaborado pelo autor. Análise realizada pelo SOMP (“Site of Metabolism Prediction”), NERDD (Terceira geração do FAME - “FASt METabolizer”), pela plataforma GLORYx e pela plataforma BioTransformer 3.0

Figura 13: Classes de alvos identificados *in silico* para cada um dos componentes majoritários presentes no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE). (A) Ácido oleico. (B) Ácido palmítico. (C) Ácido beénico.

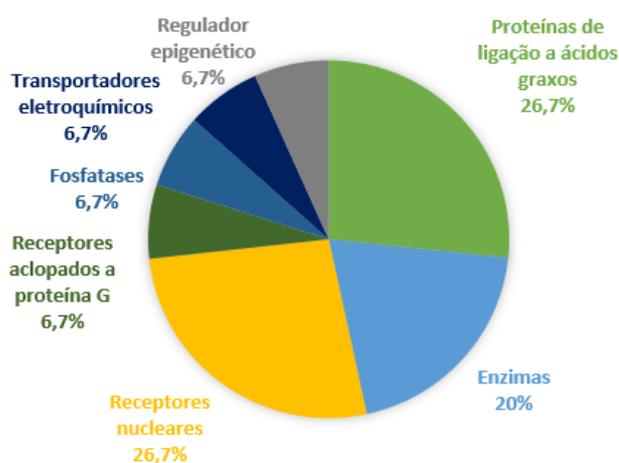
(A)



(B)



(C)



FONTE: Elaborado pelo autor. Predição para as quinze principais classes de alvos moleculares. Análise realizada pela plataforma “Swiss Target Prediction” (SIB, Lausanne, Suíça).

Tabela 8: Descrição dos alvos identificados *in silico* para cada um dos componentes majoritários identificados no extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).

Compostos	Alvos ligante padrão	Nome usual
Ácido oleico	Proteína de ligação a ácidos graxos, adipócito	FABP4
	Amida hidrolase de ácido graxo	FAAH
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo gama	PPAR γ
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo alfa	PPAR α
	Proteína de ligação a ácidos graxos, epidérmica	FABP5
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo delta	PPAR δ
	Proteína de ligação a ácidos graxos, fígado	FABP1
Ácido palmítico	Proteína de ligação a ácidos graxos, adipócito	FABP4
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo alfa	PPAR α
	Proteína de ligação a ácidos graxos, muscular	FABP3
	Proteína de ligação a ácidos graxos, epidérmica	FABP5
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo delta	PPAR δ
	Proteína de ligação a ácidos graxos, intestinal	FABP2
Ácido beénico	Receptor de ácido graxo livre tipo 1	FFAR1
	Receptor de ácido graxo livre tipo 1	FFAR1
	Proteína de ligação a ácidos graxos, adipócito	FABP4
	Proteína de ligação a ácidos graxos, muscular	FABP3
	Proteína de ligação a ácidos graxos, epidérmica	FABP5
	Proteína de ligação a ácidos graxos, intestinal	FABP2
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo alfa	PPAR α
	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo delta	PPAR δ

FONTE: Elaborado pelo autor. Foram selecionados os alvos com 100% de probabilidade de ligação. Análise realizada pela plataforma “Swiss Target Prediction” (SIB, Lausanne, Suíça).

7.3 Toxicidade aguda do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em camundongos

O ensaio de toxicidade oral aguda é rotineiramente utilizado para avaliar a capacidade de uma substância ou mistura de substâncias produzir efeitos tóxicos agudos. Após administração por via oral de LsHE dose única (2.000 mg/ kg), nenhuma morte foi registrada ou qualquer sinal de intoxicação foi observado durante os 14 dias de experimento (n=3 animais/grupo). Não ocorreu nenhuma alteração seja ela de comportamento, física ou qualquer outro sinal que indique toxicidade. Além disso, após a necropsia, não foram observadas alterações macroscópicas na morfologia do coração, pulmão, estômago, baço, fígado ou rins.

7.4 Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato de *Lonchocarpus sericeus* em camundongos

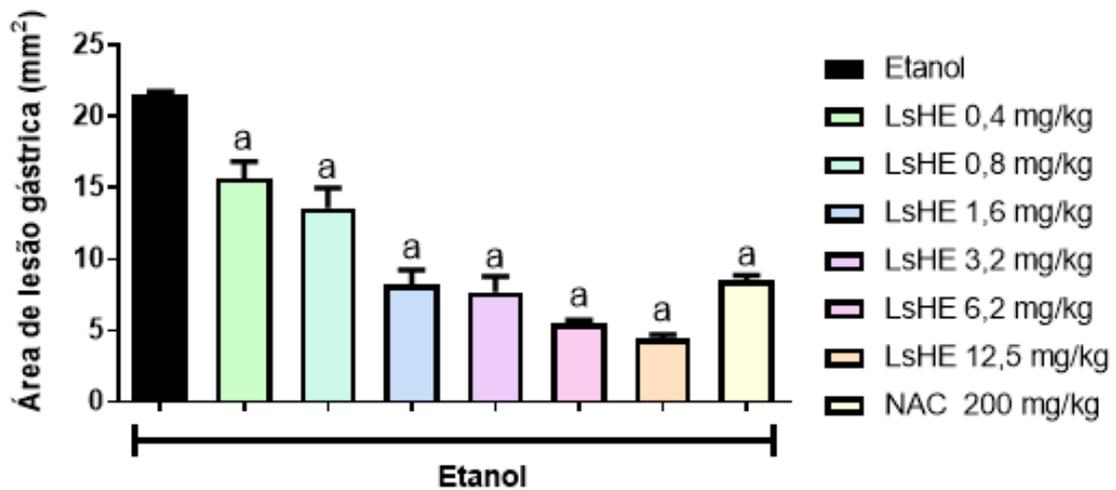
7.4.1 Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por etanol absoluto

O efeito gastroprotetor de LsHE foi demonstrado pela redução do dano causado pelo etanol absoluto à mucosa do estômago, conforme podemos visualizar no gráfico 1. Os camundongos do grupo etanol, que receberam apenas veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) e etanol absoluto, apresentaram lesões gástricas hemorrágicas com uma área total de $21,51 \pm 0,26 \text{ mm}^2$. Enquanto isso, o tratamento com LsHE nas doses de 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,2 e 12,5 mg/kg reduziu significativamente a área das lesões para $15,66 \pm 1,19$; $13,62 \pm 1,39$; $8,22 \pm 1,04$; $7,7 \pm 1,08$; $5,45 \pm 0,29$ e $4,48 \pm 0,24 \text{ mm}^2$, respectivamente. Reduções essas de 27,20; 36,68; 61,78; 64,20; 74,67 e 79,18% respectivamente, em relação ao grupo etanol. Os animais que receberam NAC (200 mg/kg), também apresentaram redução significativa da área de lesão gástrica, apresentando uma área de lesão de apenas $8,48 \pm 0,39 \text{ mm}^2$. Uma redução de 60,57 % quando comparada a área da lesão apresentada por animais do grupo etanol.

A figura 14 apresenta imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico de animais dos grupos controle (Não submetidos ao protocolo de lesão gástrica), etanol, LsHE nas doses de 0,8; 1,6; 3,2 mg/kg e NAC na dose de 200 mg/kg. Podemos visualizar no estômago que representa o grupo controle um aspecto normal da mucosa gástrica. No estômago que representa o grupo etanol podemos observar lesões hemorrágicas com aspecto estriado por toda a região da mucosa gástrica. Nos estômagos que representam os grupos pré-tratados com LsHE, nas três doses, ou com NAC podemos visualizar que ocorreu redução da área lesionada.

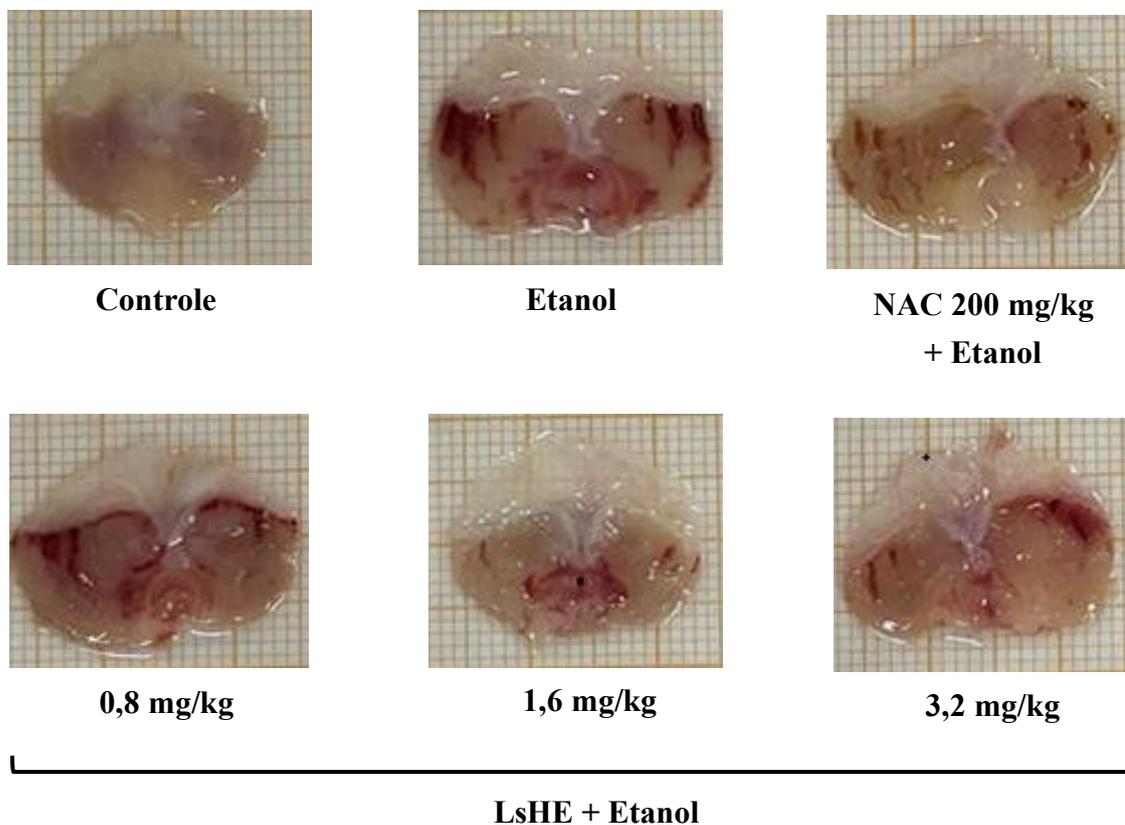
O pré-tratamento com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg e com NAC apresentou resultados semelhantes. Desta forma, a dose de LsHE de 1,6 mg/kg foi escolhida como a menor dose efetiva na proteção da mucosa gástrica contra os danos causados pelo etanol, causando proteção de mais de 60% em relação a animais que não receberam o pré-tratamento. Esta dose foi, portanto, escolhida para os experimentos de investigação do volume de secreção, acidez e pH e das vias envolvidas na gastroproteção.

Gráfico 1: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.



FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A área de lesão gástrica (mm²) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,001 em relação ao grupo etanol.

Figura 14: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.



FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). O grupo controle representa animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol.

7.4.2 Efeito de LsHE sobre as alterações histológicas induzidas por etanol absoluto

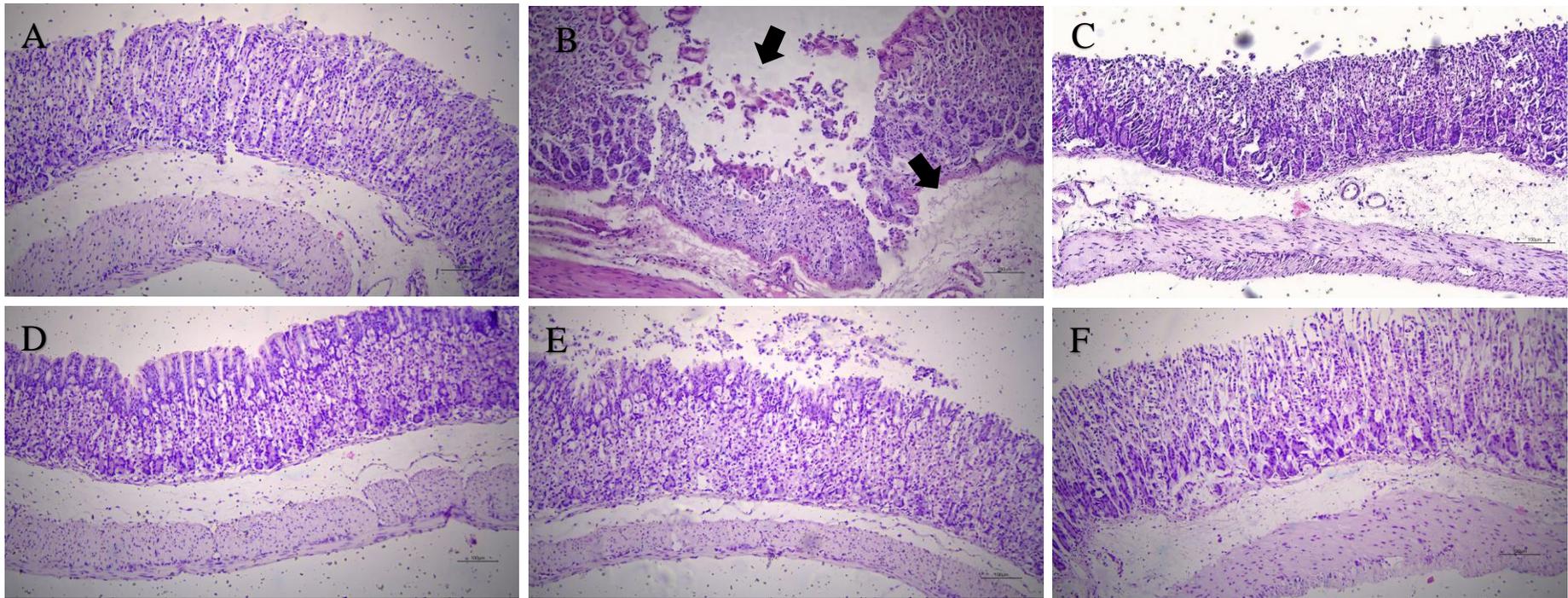
A figura 15 e a tabela 9 mostram as alterações histopatológicas presentes nas amostras de estômago dos diferentes grupos experimentais. Os estômagos dos camundongos do grupo controle, que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol, apresentaram aparência histológica sem alterações morfológicas estruturais. As áreas de mucosa e submucosa gástrica apresentaram células e criptas com a estrutura preservada, sem evidência de hiperemia ou de inflamação. Também não ocorreu a presença de nenhuma alteração circulatória, degenerativa ou neoplásica nos tecidos (Figura 15A).

Os animais do grupo etanol apresentaram danos gástricos graves evidenciados por lesões microscópicas com grande erosão de células epiteliais superficiais. Neste grupo, também ocorreu moderado edema entre a região mucosa e submucosa gástrica, presença de hiperemia e hemorragia e presença de infiltrado de células inflamatórias (Figura 15B). Os animais que receberam o pré-tratamento com LsHE nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg ou com NAC (200 mg/kg) tiveram a mucosa gástrica protegida dos efeitos deletérios do etanol. Os pré-tratamentos preveniram a erosão da barreira epitelial e das criptas gástricas. Além disso, não ocorreu a presença de edema e nem evidências de hemorragia ou de infiltrado inflamatório. Os estômagos desses grupos apresentaram aspecto histológico normal, semelhante ao grupo controle (Figura 15C-15F).

7.4.3 Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por indometacina

O efeito gastroprotetor de LsHE também foi demonstrado pela redução do dano causado à mucosa do estômago no modelo de lesão gástrica induzida por indometacina, conforme podemos visualizar no gráfico 2. Os camundongos do grupo indometacina, apresentaram lesões gástricas com uma área total de $13,00 \pm 0,57 \text{ mm}^2$. Enquanto isso, os animais pré-tratados com LsHE nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg demonstraram uma redução significativa da área das lesões gástricas para $9,39 \pm 0,88$, $4,96 \pm 0,57$ e $3,01 \pm 0,53 \text{ mm}^2$, respectivamente. Reduções essas de 27,76; 61,84 e 76,84 % respectivamente, em relação ao grupo indometacina.

Figura 15: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por etanol absoluto em camundongos. Fotomicrografias representativas dos estômagos após diferentes tratamentos.



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo, LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/animal) (n= 4 animais/grupo). (A) Camundongos que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol, grupo controle; (B) Camundongos pré-tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%); (C-E) Camundongos pré-tratados com LsHE doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg; (F) Camundongos pré-tratados com N-acetilcisteína (NAC, 200 mg/kg). As pontas de seta indicam a presença de edema e perda de células epiteliais. As secções de tecido gástrico foram analisadas por coloração H&E (Ampliação $\times 100$).

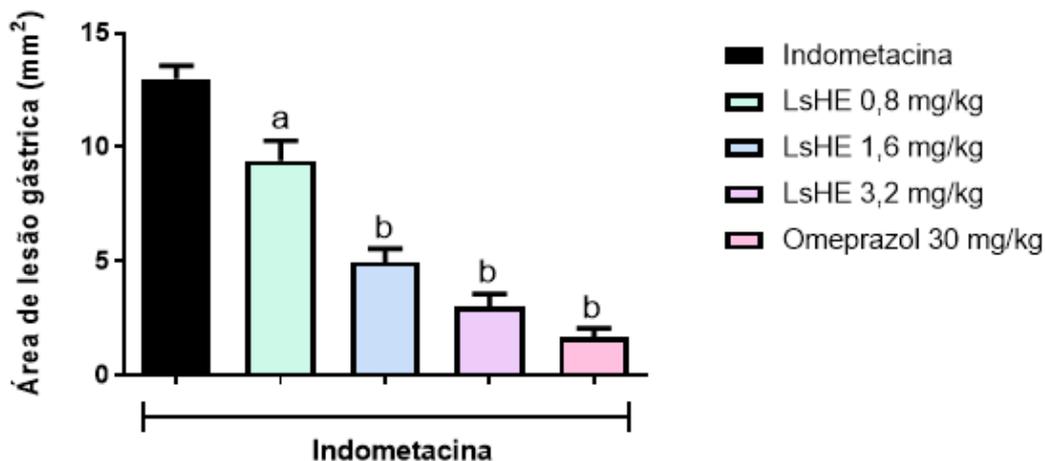
Os animais que receberam omeprazol (30 mg/kg), também apresentaram redução significativa da área de lesão gástrica, apresentando uma área de lesão de apenas $1,65 \pm 0,40$ mm². Uma redução de 93,21 % quando comparada a lesão apresentada por animais do grupo indometacina. A figura 16 apresenta imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico de animais dos grupos veículo, tratados com LsHE nas doses de 0,8; 1,6; 3,2 mg/kg e tratados com omeprazol na dose de 30 mg/kg.

Tabela 9: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por etanol absoluto em camundongos.

	Erosão na mucosa	Edema na submucosa	Hemorragia na mucosa	Infiltrado de células inflamatórias na submucosa
Controle	-	-	-	-
Etanol	+++	++	+	+
LsHE 0,8 mg/kg	-	-	-	-
LsHE 1,6 mg/kg	-	-	-	-
LsHE 3,2 mg/kg	-	-	-	-
NAC 200 mg/kg	-	-	-	-

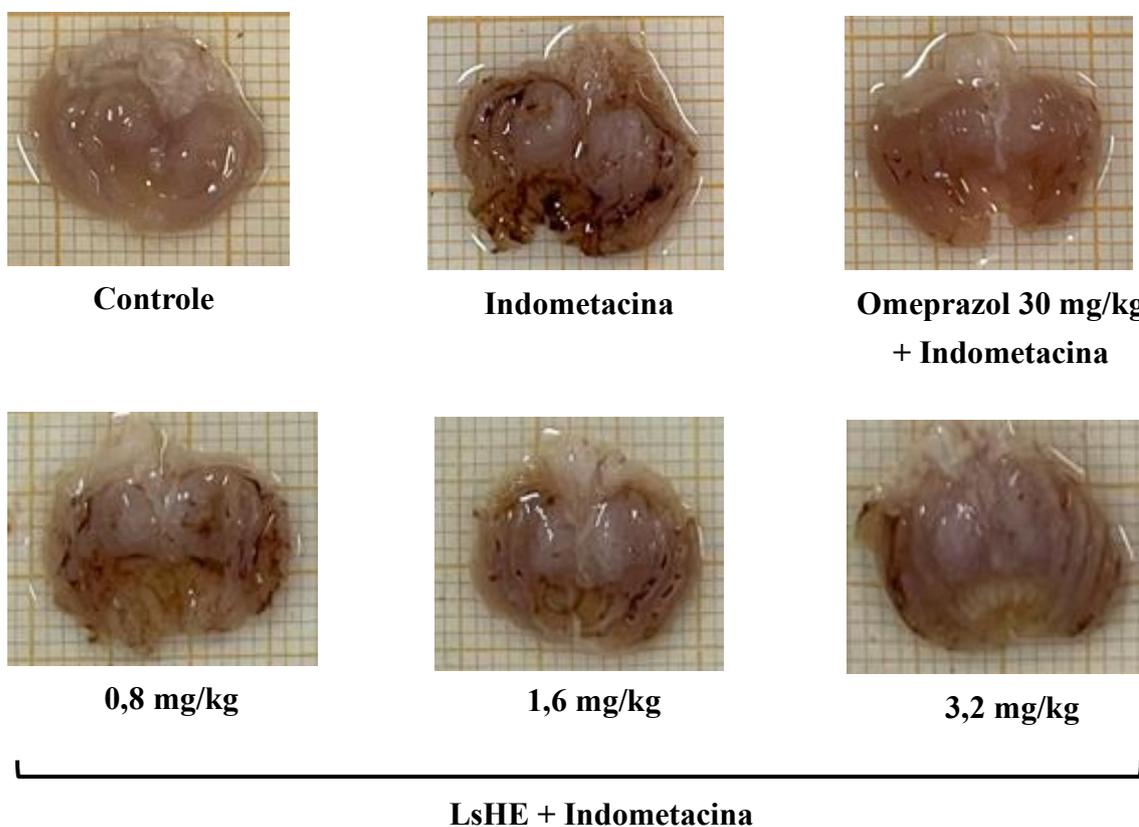
Fonte: Elaborada pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/animal) (n= 4 animais/grupo). O grupo controle representa animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem o etanol. As secções de tecido gástrico foram analisadas por coloração H&E (Ampliação $\times 100$). (+++) alterações severas, (++) alterações moderadas, (+) alterações médias, (-) sem alterações.

Gráfico 2: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). A área de lesão gástrica (mm²) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,01$ em relação ao grupo indometacina. ^b $p < 0,001$ em relação ao grupo indometacina.

Figura 16: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.

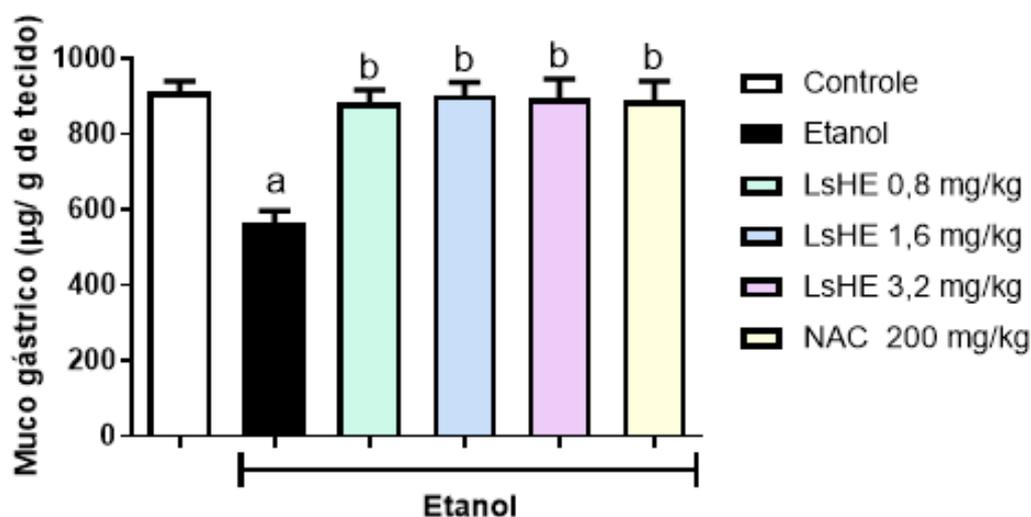


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE (0,8; 1,6 ou 3,2 mg/kg) ou omeprazol (30 mg/kg) e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). O grupo controle representa animais que não receberam nem o pré-tratamento e nem a indometacina.

7.5 Efeito de LsHE sobre o conteúdo de muco após o protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Conforme podemos observar no gráfico 3, os camundongos do grupo etanol apresentaram redução significativa de 38,26 % do conteúdo de muco presente na mucosa gástrica ($563,7 \pm 32,58 \mu\text{g/g}$ de tecido) quando comparados aos animais do grupo controle ($912,1 \pm 27,39 \mu\text{g/g}$ de tecido). Os animais pré-tratados com LsHE nas três doses (0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg) ou com NAC (200 mg/kg) não apresentaram essa redução, mantendo os valores de conteúdo de muco sem diferença estatística em relação aos observados no grupo controle. Os grupos pré-tratados com LsHE apresentaram conteúdo de muco de $885,0 \pm 32,10$; $903,1 \pm 34,01$ e $895,7 \pm 49,53 \mu\text{g/g}$ de tecido, nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg, respectivamente. O grupo pré-tratado com NAC apresentou conteúdo de muco de $890,5 \pm 49,2 \mu\text{g/g}$ de tecido.

Gráfico 3: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o conteúdo de muco na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.



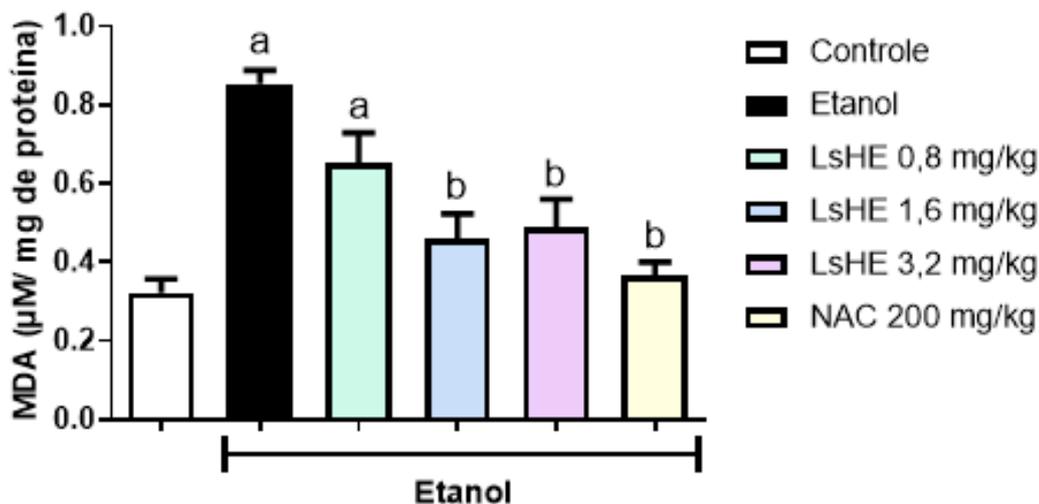
FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). O conteúdo de muco foi determinado segundo Corne; Morrissey; Woods (1974). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,001$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,001$ em relação ao grupo etanol.

7.6 Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

7.6.1 Níveis de malondialdeído

Os camundongos do grupo etanol apresentaram níveis de malondialdeído (MDA) no tecido gástrico mais de duas vezes maiores ($0,85 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) do que os níveis apresentados por animais do grupo controle ($0,32 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína), conforme podemos visualizar no gráfico 4. Os animais pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou NAC na dose de 200 mg/kg apresentaram redução significativa dos níveis de MDA quando comparados aos animais do grupo etanol. Os valores encontrados foram de $0,46 \pm 0,06$; $0,49 \pm 0,07$ e $0,36 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína para LsHE nas doses de 1,6; 3,2 e para NAC, respectivamente. O pré-tratamento com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($0,65 \pm 0,07 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) não diminuiu os níveis de MDA em relação aos níveis apresentados pelo grupo etanol.

Gráfico 4: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.

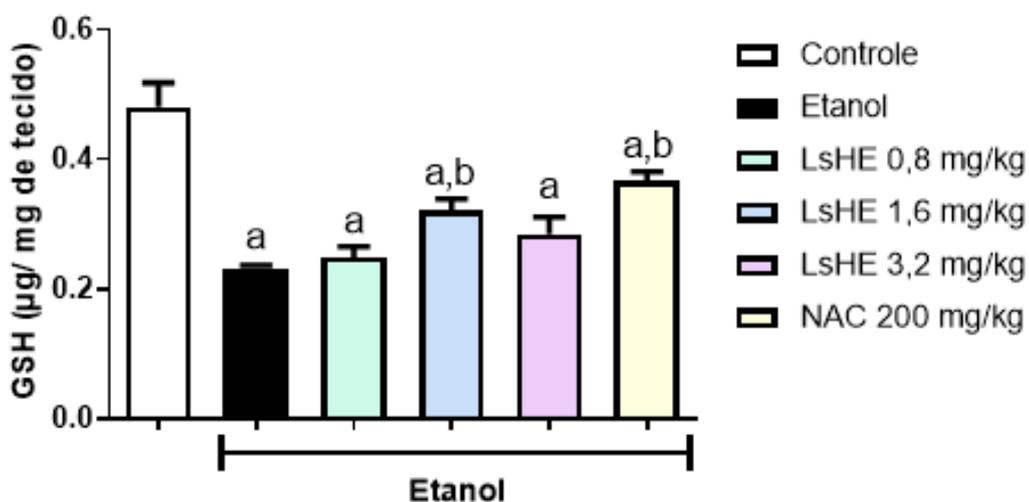


FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). Os níveis de MDA foram determinados segundo Agar *et al.* (1999). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol.

7.6.2 Níveis de glutathiona reduzida

Os camundongos do grupo etanol apresentaram níveis de glutathiona (GSH) reduzidos em 52,08% ($0,23 \pm 0,004 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) quando comparado aos níveis apresentados por animais do grupo controle ($0,48 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido), conforme podemos visualizar no gráfico 5. Nos animais tratados com LsHE na dose de 1,6 mg/kg ou NAC na dose de 200 mg/kg os níveis de GSH foram significativamente aumentados quando comparados aos animais do grupo etanol. Os valores encontrados foram de $0,24 \pm 0,01$; $0,32 \pm 0,01$; $0,28 \pm 0,02$ e $0,36 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido para LsHE nas doses de 0,8; 1,6; 3,2 e para NAC, respectivamente.

Gráfico 5: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.

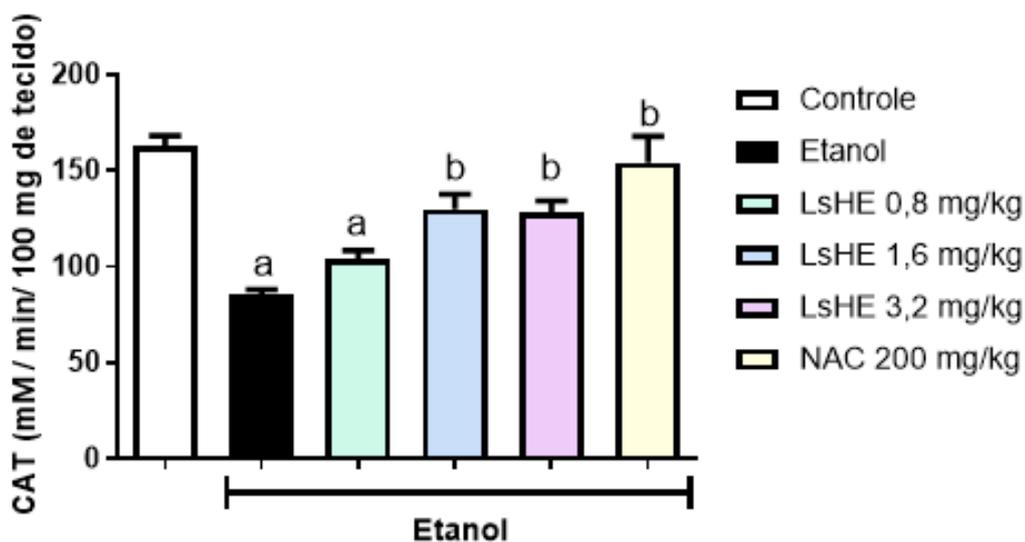


FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). Os níveis de GSH foram determinados segundo Sedlak e Lindsay (1968). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo controle. ^b p < 0,05 em relação ao grupo etanol.

7.6.3 Estimativa da atividade da catalase

A atividade da enzima catalase (CAT) nos camundongos do grupo etanol foi de $85,28 \pm 2,78$ mM / min/ 100 mg de tecido. Essa atividade foi reduzida em 47,52% se compararmos a atividade da mesma enzima encontrada no tecido gástrico dos animais do grupo controle ($162,5 \pm 5,67$ mM / min/ 100 mg de tecido), conforme podemos visualizar no gráfico 6. Nos animais pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou NAC na dose de 200 mg/kg, os níveis de CAT foram significativamente maiores. Os valores encontrados foram de $129,9 \pm 7,84$; $128,2 \pm 6,06$ e $154,3 \pm 13,61$ mM / min/ 100 mg de tecido para LsHE nas doses de 1,6; 3,2 e para NAC, respectivamente. O grupo pré-tratado com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($103,8 \pm 4,61$ mM / min/ 100 mg de tecido) não apresentou resultado significativamente diferente em relação ao valor apresentado pelo grupo etanol.

Gráfico 6: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.

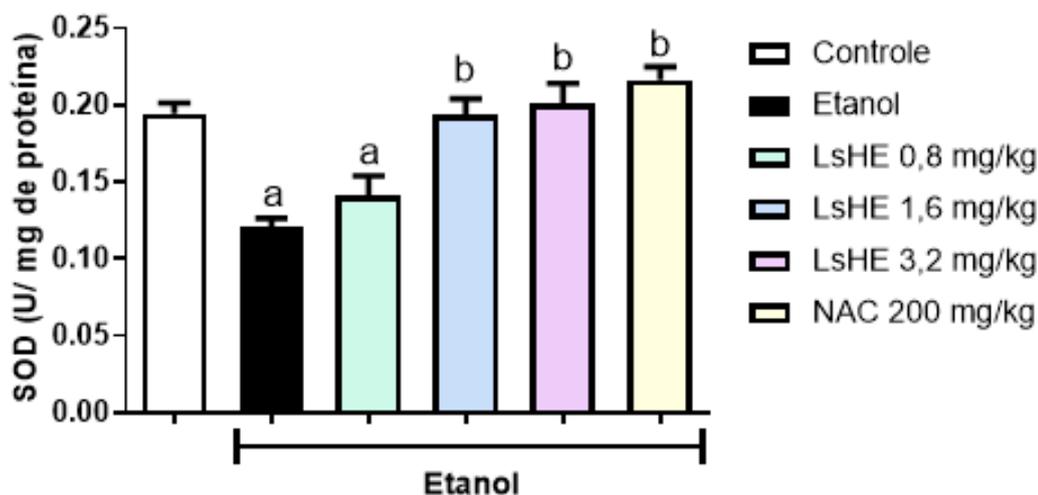


FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A atividade de CAT foi determinada segundo Beers e Sizer (1952). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,05 em relação ao grupo controle. ^bp < 0,05 em relação ao grupo etanol.

7.6.4 Estimativa da atividade da superóxido dismutase

A enzima superóxido dismutase (SOD) teve seus níveis reduzidos nos camundongos do grupo etanol ($0,12 \pm 0,005$ U/ mg de proteína), conforme podemos visualizar no gráfico 7. Essa redução foi de 36,85% se compararmos a presença da mesma enzima no tecido gástrico dos animais do grupo controle ($0,19 \pm 0,007$ U/ mg de proteína). O pré-tratamento com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou NAC na dose de 200 mg/kg impediu a redução da atividade enzimática de SOD e os grupos de animais pré-tratados apresentaram valores semelhantes ($0,19 \pm 0,01$; $0,20 \pm 0,01$ e $0,21 \pm 0,008$ U/ mg de proteína, respectivamente) ao grupo controle. O grupo pré-tratado com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($0,14 \pm 0,01$ U/ mg de proteína) não apresentou resultado significativamente diferente em relação as unidades de enzima encontradas no grupo etanol.

Gráfico 7: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.

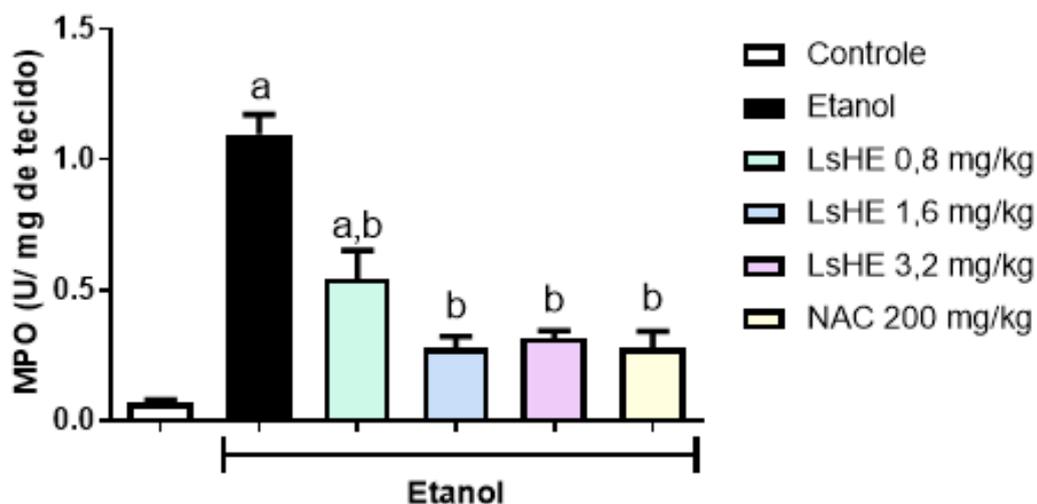


FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A atividade de SOD foi determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA "one way", seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol.

7.6.5 Estimativa da atividade da mieloperoxidase

Os camundongos do grupo etanol apresentaram atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO) aumentada em mais de dez vezes em relação aos níveis apresentados por animais do grupo controle, conforme podemos visualizar no gráfico 8. Nos animais do grupo etanol a média de unidades de MPO foi de $1,09 \pm 0,07$ U/ mg de tecido, enquanto nos animais do grupo controle os resultados encontrados foram de $0,06 \pm 0,01$ U/ mg de tecido. Nos animais que receberam pré-tratamento com LsHE nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg os valores encontrados foram de $0,54 \pm 0,10$; $0,27 \pm 0,04$ e $0,31 \pm 0,06$ U/ mg de tecido, valores estatisticamente menores em relação aos valores encontrados no grupo etanol. Animais pré-tratados com NAC (200 mg/ kg) também apresentaram resultados estatisticamente reduzidos em relação aos apresentados pelo grupo etanol ($0,27 \pm 0,06$ U/ mg de tecido).

Gráfico 8: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por etanol.

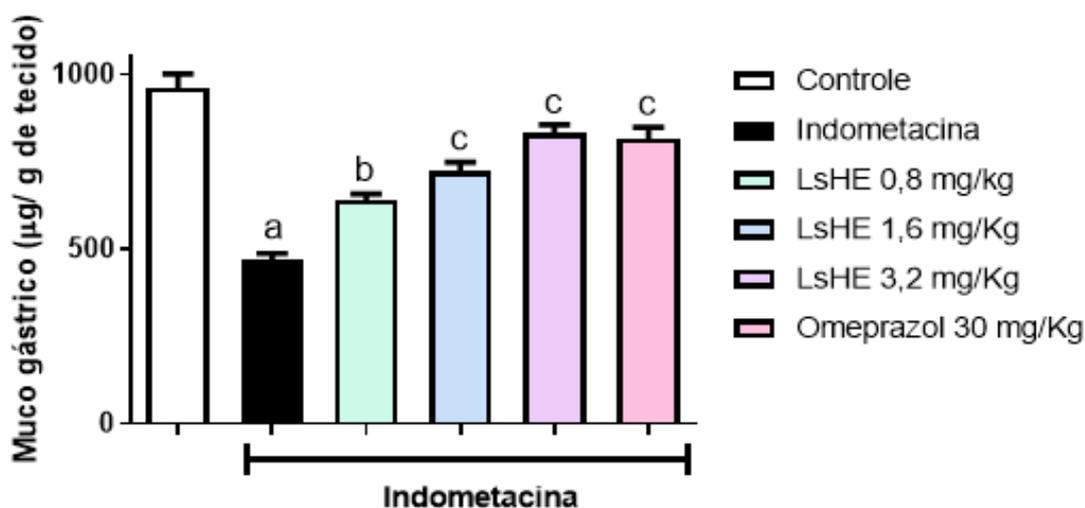


FONTE: Elaborado pelo autor. NAC, N-acetilcisteína. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A atividade de MPO foi determinada segundo Bradley *et al.* (1982). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo controle. ^b p < 0,05 em relação ao grupo etanol.

7.7 Efeito de LsHE sobre o conteúdo de muco após o protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos

Os camundongos do grupo indometacina apresentaram redução significativa de 50,99% do conteúdo de muco presente na mucosa gástrica ($470,80 \pm 15,78 \mu\text{g/ g}$ de tecido) quando comparados aos animais do grupo controle ($960,80 \pm 40,31 \mu\text{g/ g}$ de tecido), conforme podemos visualizar no gráfico 9. Os animais pré-tratados com LsHE nas três doses (0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg) ou com omeprazol (30 mg/kg) aumentaram de forma significativa a quantidade de muco em relação ao grupo indometacina. Os grupos pré-tratados com LsHE apresentaram conteúdo de muco de $639,6 \pm 18,24$; $722,7 \pm 25,70$ e $831,9 \pm 24,62 \mu\text{g/ g}$ de tecido, nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg, respectivamente. O grupo pré-tratado com omeprazol apresentou conteúdo de muco de $815,8 \pm 32,11 \mu\text{g/ g}$ de tecido.

Gráfico 9: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o conteúdo de muco na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.



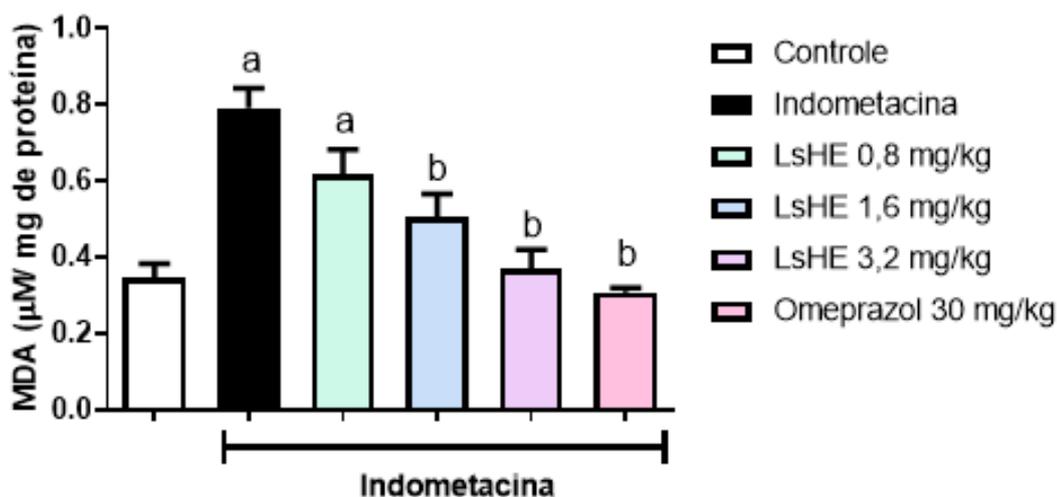
FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). O conteúdo de muco foi determinado segundo Corne; Morrissey; Woods (1974). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA "one way", seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,001$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,01$ em relação ao grupo indometacina. ^c $p < 0,001$ em relação ao grupo indometacina.

7.8 Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos

7.8.1 Níveis de malondialdeído

Conforme podemos visualizar no gráfico 10, os camundongos do grupo indometacina apresentaram níveis de malondialdeído (MDA) mais de duas vezes maiores ($0,79 \pm 0,05 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) do que os níveis apresentados por animais do grupo controle ($0,34 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína). Os animais pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou omeprazol na dose de 30 mg/kg apresentaram redução significativa destes níveis quando comparados aos animais do grupo indometacina. Os valores encontrados foram de $0,50 \pm 0,06$; $0,36 \pm 0,05$ e $0,30 \pm 0,01 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína para LsHE nas doses de 1,6; 3,2 e para omeprazol, respectivamente. O grupo pré-tratado com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($0,61 \pm 0,06 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) não apresentou redução significativa nos níveis de MDA em relação aos níveis apresentados por animais do grupo indometacina.

Gráfico 10: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.

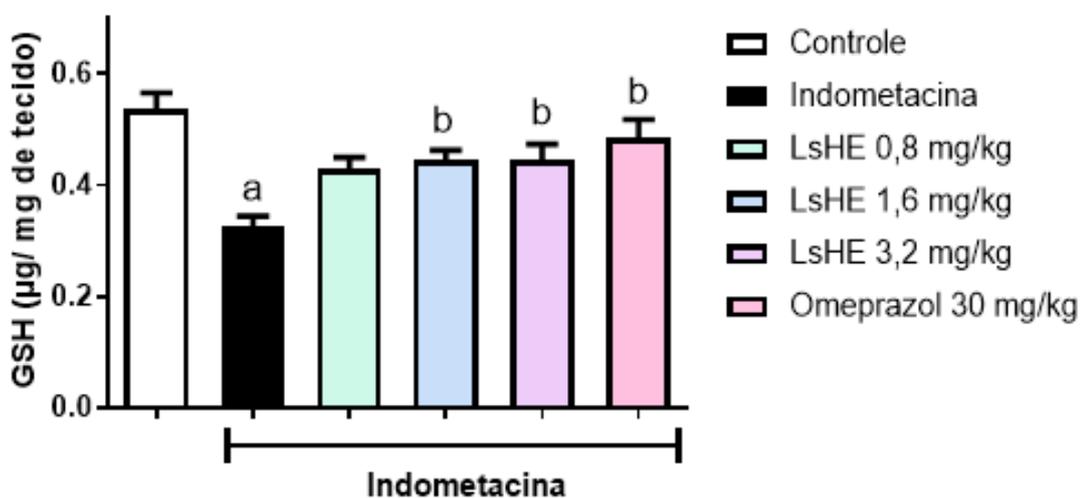


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). Os níveis de MDA foram determinados segundo Agar *et al.* (1999). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo indometacina.

7.8.2 Níveis de glutathiona reduzida

Os camundongos do grupo indometacina apresentaram níveis de glutathiona (GSH) reduzidos em 39,62% ($0,32 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) quando comparado aos níveis apresentados por animais do grupo controle ($0,53 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido), conforme podemos visualizar no gráfico 11. Nos animais tratados com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou omeprazol na dose de 30 mg/kg os níveis de GSH foram significativamente maiores em relação aos animais do grupo indometacina. Os valores encontrados foram de $0,44 \pm 0,01$; $0,44 \pm 0,02$ e $0,48 \pm 0,03 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido para grupos pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6; 3,2 e para omeprazol, respectivamente. Os animais pré-tratados com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($0,42 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) não apresentaram resultados significativamente diferentes nem em relação aos animais do grupo controle, nem em relação aos animais do grupo indometacina.

Gráfico 11: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.

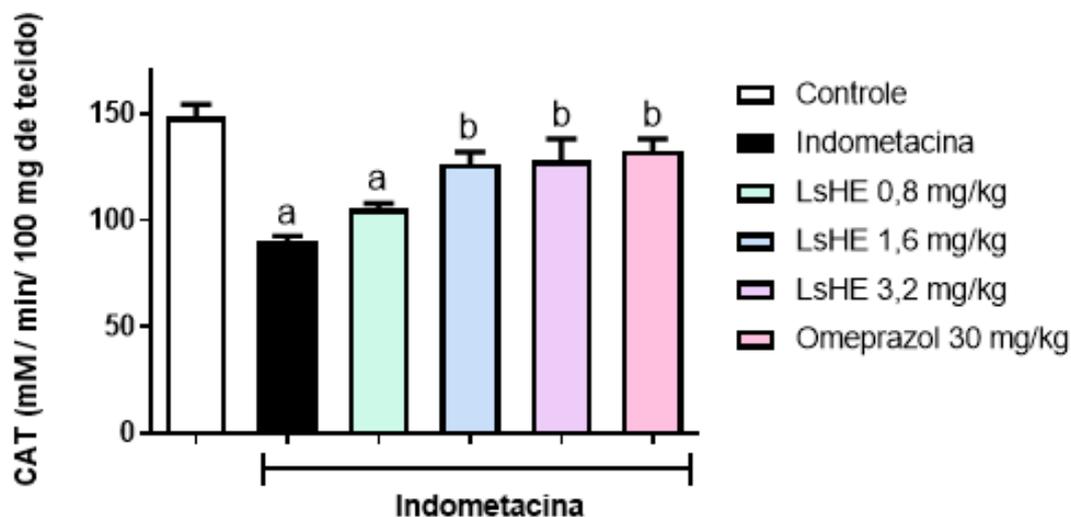


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). Os níveis de GSH foram determinados segundo Sedlak e Lindsay (1968). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo indometacina.

7.8.3 Estimativa da atividade da catalase

A atividade da enzima catalase (CAT) foi reduzida em 39,40% nos camundongos do grupo indometacina ($89,98 \pm 2,55$ mM / min/ 100 mg de tecido) se compararmos a atividade da mesma enzima encontrada no tecido gástrico dos animais do grupo controle ($148,5 \pm 5,80$ mM / min/ 100 mg de tecido). Conforme podemos visualizar no gráfico 12, os animais pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou omeprazol na dose de 30 mg/kg, tiveram níveis de CAT significativamente maiores do que os apresentados pelo grupo indometacina. Os valores encontrados foram de $126,2 \pm 5,68$; $127,9 \pm 10,05$ e $132,5 \pm 5,59$ mM / min/ 100 mg de tecido para grupos pré-tratados com LsHE nas doses de 1,6; 3,2 ou omeprazol, respectivamente. O grupo pré-tratado com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($105,02 \pm 2,57$ mM / min/ 100 mg de tecido) não apresentou resultado significativamente diferente em relação a atividade da enzima encontrada no grupo indometacina.

Gráfico 12: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.

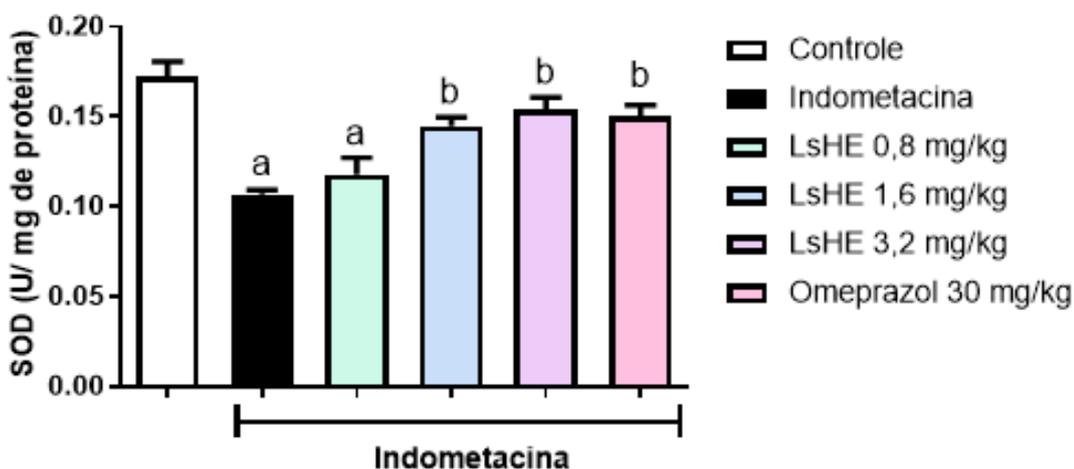


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). A atividade de CAT foi determinada segundo Beers e Sizer (1952). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo controle. ^b p < 0,05 em relação ao grupo indometacina.

7.8.4 Estimativa da atividade da superóxido dismutase

Conforme podemos visualizar no gráfico 13, a enzima superóxido dismutase (SOD) teve seus níveis reduzidos em 41,17% nos camundongos do grupo indometacina ($0,10 \pm 0,002$ U/ mg de proteína) se compararmos aos valores presentes nos animais do grupo controle ($0,17 \pm 0,008$ U/ mg de proteína). O pré-tratamento com LsHE nas doses de 1,6 e 3,2 mg/kg ou omeprazol na dose de 30 mg/kg impediu a redução da atividade de SOD, e os grupos de animais pré-tratados apresentaram valores de unidades da enzima semelhantes aos do grupo controle ($0,14 \pm 0,004$; $0,15 \pm 0,007$ e $0,15 \pm 0,006$ U/ mg de proteína, respectivamente). O grupo pré-tratado com LsHE na dose de 0,8 mg/kg ($0,11 \pm 0,009$ U/ mg de proteína) não apresentou resultado significativamente diferente do apresentado pelo grupo indometacina.

Gráfico 13: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.

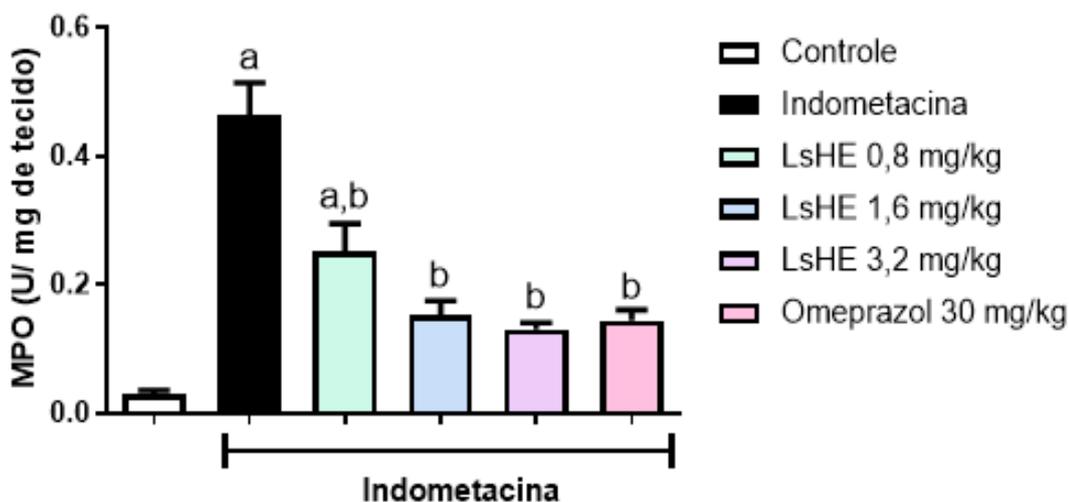


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). A atividade de SOD foi determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo indometacina.

7.8.5 Estimativa da atividade da mieloperoxidase

Os camundongos do grupo indometacina apresentaram atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO) aumentada em mais de dez vezes em relação aos níveis apresentados por animais do grupo controle, conforme podemos visualizar no gráfico 14. Nos animais do grupo indometacina a média de unidades de MPO foi de $0,46 \pm 0,04$ U/ mg de tecido, enquanto nos animais do grupo controle, a média encontrada foi de $0,02 \pm 0,006$ U/ mg de tecido. Os animais que receberam pré-tratamento com LsHE nas doses de 0,8; 1,6 e 3,2 mg/kg mostraram valores estatisticamente menores de unidades de enzima em relação aos valores encontrados no grupo indometacina ($0,25 \pm 0,04$; $0,15 \pm 0,02$ e $0,13 \pm 0,01$ U/ mg de tecido, respectivamente). Os animais pré-tratados com omeprazol (30 mg/ kg) também apresentaram resultados estatisticamente reduzidos em relação aos apresentados pelo grupo indometacina ($0,14 \pm 0,01$ U/ mg de tecido).

Gráfico 14: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por indometacina.



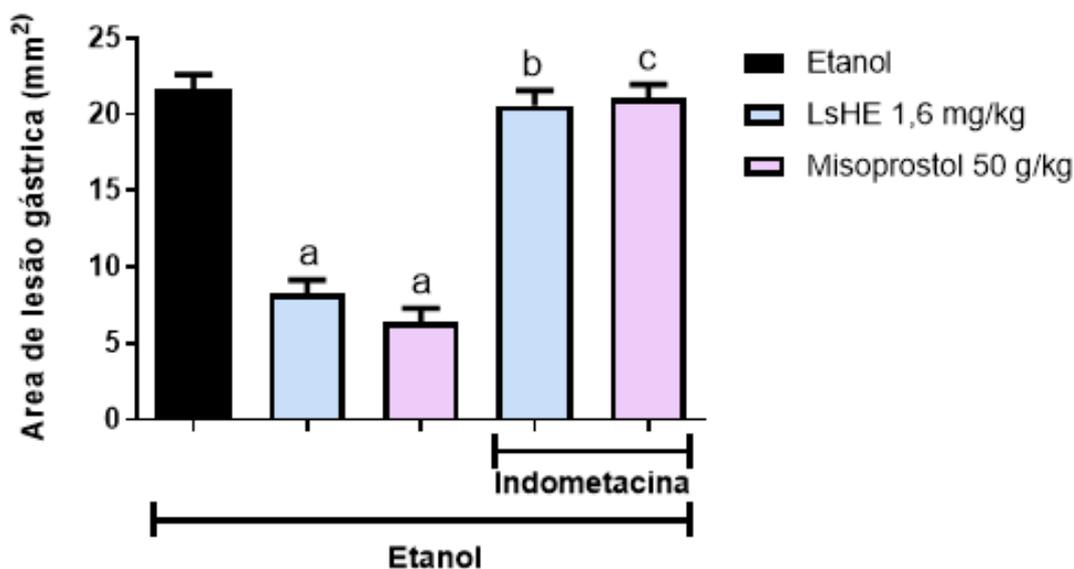
FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com veículo (Grupo indometacina, NaCl 0,9%), LsHE ou NAC e uma hora depois a lesão foi induzida pela indometacina (30 mg/kg). A atividade de MPO foi determinada segundo Bradley *et al.* (1982). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo controle. ^b p < 0,05 em relação ao grupo indometacina.

7.9 Possíveis mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor de LsHE em camundongos

7.9.1 Participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor de LsHE

Conforme podemos observar no gráfico 15, os camundongos do grupo etanol, que receberam apenas veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) e etanol absoluto, apresentaram lesões gástricas com uma área total de $21,63 \pm 0,98 \text{ mm}^2$. Essa área de lesão foi significativamente reduzida para $8,24 \pm 0,98 \text{ mm}^2$ em animais pré-tratados com LsHE na dose de 1,6 mg/kg e para $6,42 \pm 0,87 \text{ mm}^2$ em animais pré tratados com misoprostol na dose de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. O efeito gastroprotetor promovido por ambos os pré-tratamentos foi inibido completamente quando os animais foram pré-tratados com indometacina (10 mg/kg). Neste caso, a área da lesão gástrica apresentada foi de $20,6 \pm 0,97$ e $21,11 \pm 0,86 \text{ mm}^2$ mesmo em camundongos pré-tratados também com LsHE e com misoprostol, respectivamente.

Gráfico 15: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.

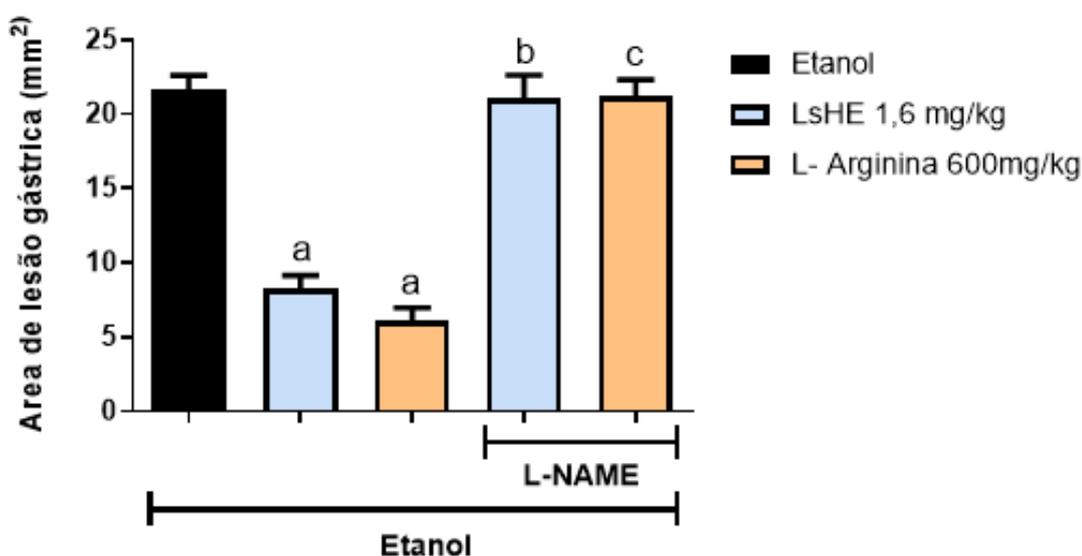


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com indometacina (10 mg/kg), 30 minutos após receberam veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou misoprostol e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A área de lesão gástrica (mm²) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,05 em relação ao grupo etanol. ^bp < 0,05 em relação ao grupo LsHE + etanol. ^cp < 0,05 em relação ao grupo misoprostol + etanol.

7.9.2 Participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor de LsHE

Conforme podemos observar no gráfico 16, os camundongos do grupo etanol apresentaram lesões gástricas com uma área total de $21,63 \pm 0,98 \text{ mm}^2$ e essa área foi significativamente reduzida para $8,24 \pm 0,98 \text{ mm}^2$ em animais pré-tratados com LsHE na dose de 1,6 mg/kg e para $6,07 \pm 0,91 \text{ mm}^2$ em animais pré tratados com L- arginina na dose de 600 mg/kg. O efeito gastroprotetor promovido tanto por LsHE como por L- arginina foi inibido completamente quando os animais foram pré-tratados com L-NAME (20 mg/kg). A área da lesão gástrica apresentada foi de $21,09 \pm 1,54 \text{ mm}^2$, no caso do pré-tratamento com LsHE, e $21,19 \pm 1,12 \text{ mm}^2$, no caso do pré-tratamento com L- arginina, ambos valores semelhantes aos apresentados pelos animais do grupo etanol.

Gráfico 16: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.

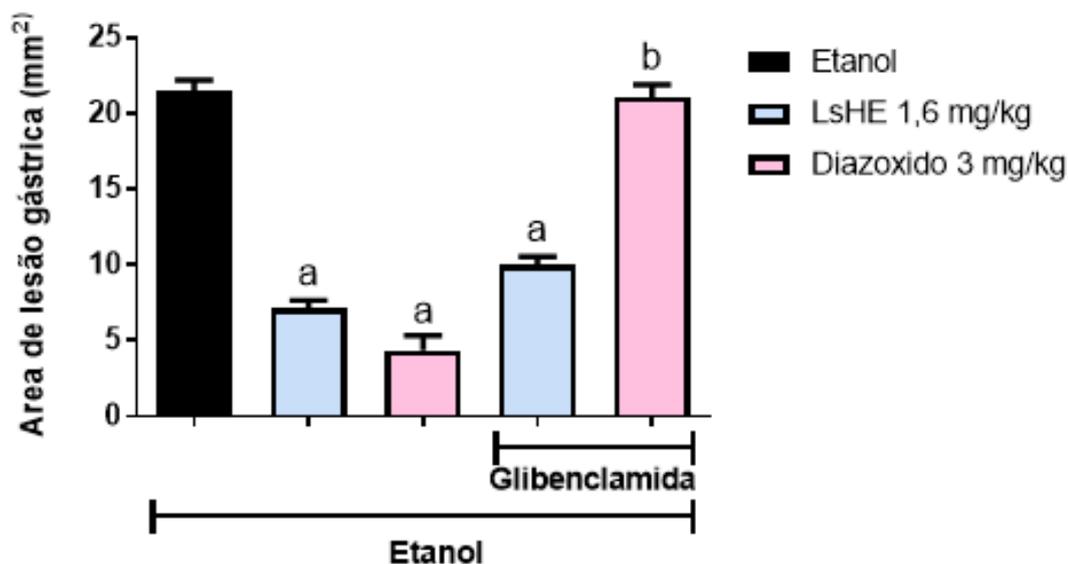


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com L-NAME (20 mg/kg), 30 minutos após receberam veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou L-arginina e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A área de lesão gástrica (mm^2) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo LsHE + etanol. ^c $p < 0,05$ em relação ao grupo L-arginina + etanol.

7.9.3 Participação dos Canais de Potássio Sensíveis ao ATP no efeito gastroprotetor de LsHE

Os camundongos do grupo etanol apresentaram lesões gástricas com uma área total de $21,43 \pm 0,76 \text{ mm}^2$ e essa área de lesão foi significativamente reduzida para $7,10 \pm 0,54 \text{ mm}^2$ em animais pré-tratados com LsHE na dose de 1,6 mg/kg (gráfico 17). Os animais pré tratados com diazóxido (3 mg/kg) também apresentaram uma redução da área de lesão ($4,35 \pm 0,98 \text{ mm}^2$) se comparados ao grupo etanol. O efeito gastroprotetor promovido pelo diazóxido foi inibido completamente ($21,05 \pm 0,85 \text{ mm}^2$) na presença de glibenclamida (3 mg/kg). De forma oposta, o efeito gastroprotetor apresentado por LsHE não foi inibido completamente quando os animais foram pré-tratados com glibenclamida. Os animais pré tratados com glibenclamida e que também receberam LsHE continuaram a apresentar uma redução significativa da área de lesão ($9,96 \pm 0,59 \text{ mm}^2$) se comprarmos aos resultados apresentados por animais do grupo etanol.

Gráfico 17: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.

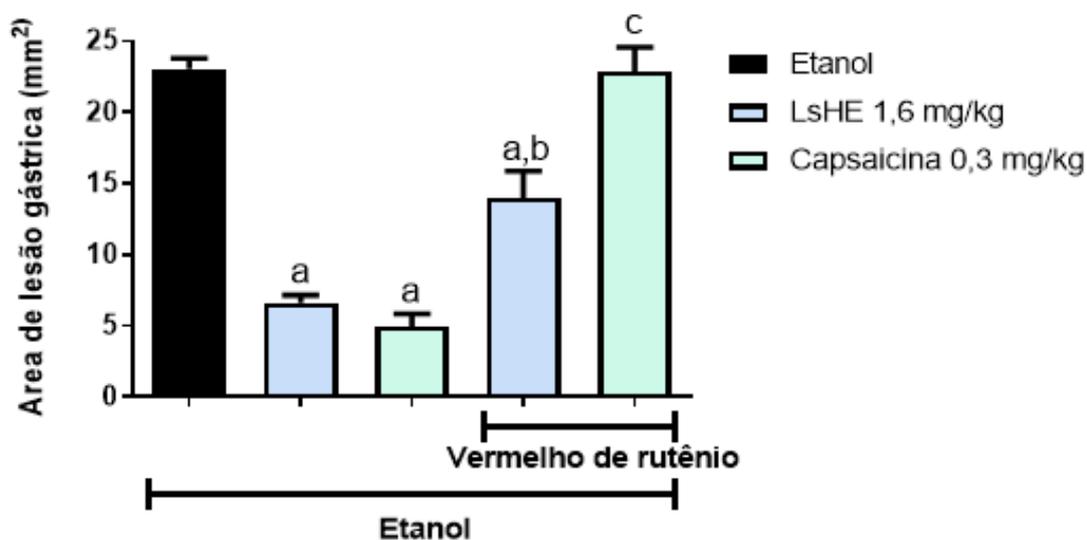


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com glibenclamida (3 mg/kg), 30 minutos após receberam veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou diazóxido e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A área de lesão gástrica (mm²) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,05 em relação ao grupo etanol. ^bp < 0,05 em relação ao grupo diazóxido + etanol.

7.9.4 Participação dos receptores TRPV no efeito gastroprotetor de LsHE

Conforme podemos observar no gráfico 18, os camundongos do grupo etanol apresentaram lesões gástricas com uma área total de $23,04 \pm 0,76 \text{ mm}^2$. Essa área de lesão foi significativamente reduzida para $6,61 \pm 0,54 \text{ mm}^2$ em animais pré-tratados com LsHE na dose de 1,6 mg/kg e para $4,96 \pm 0,87 \text{ mm}^2$ em animais pré tratados com capsaicina na dose de 0,3 mg/kg. O efeito gastroprotetor promovido pela capsaicina foi inibido completamente ($22,86 \pm 1,73 \text{ mm}^2$) na presença de vermelho de rutênio (3,5 mg/kg). O efeito gastroprotetor apresentado por LsHE não foi inibido de forma completa quando os animais foram pré-tratados com vermelho de rutênio. No entanto, animais pré tratados com vermelho de rutênio e que também receberam LsHE continuaram a apresentar uma redução significativa da área de lesão ($14,00 \pm 1,87 \text{ mm}^2$) se comprarmos aos resultados apresentados por animais do grupo etanol.

Gráfico 18: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com vermelho de rutênio.

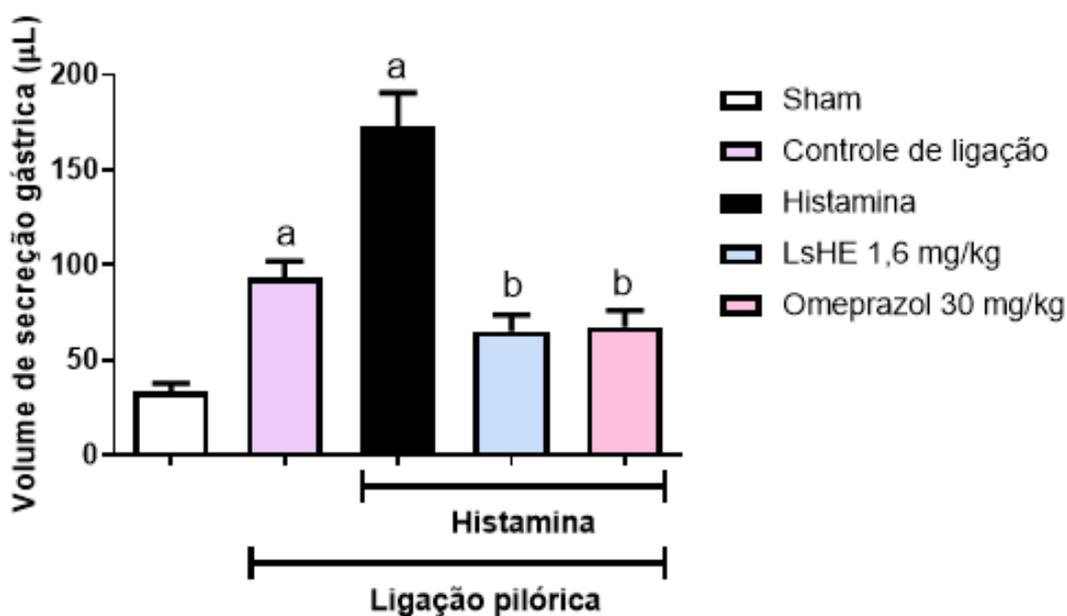


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram pré tratados com vermelho de rutênio (3,5 mg/kg), 30 minutos após receberam veículo (Grupo etanol, NaCl 0,9%), LsHE ou capsaicina e uma hora depois a lesão foi induzida pelo etanol (0,2 mL/ animal). A área de lesão gástrica (mm^2) foi mensurada através de planimetria computadorizada, usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo LsHE + etanol. ^c $p < 0,05$ em relação ao grupo capsaicina + etanol.

7.10 Efeito de LsHE sobre o volume gástrico, a acidez e o pH em camundongos

O efeito de LsHE sobre o volume de secreção gástrica pode ser visualizado no gráfico 19. O protocolo de ligação pilórica resultou em um aumento de mais de duas vezes ($93,33 \pm 8,81 \mu\text{L}$) no volume de secreção gástrica em relação ao grupo controle falsamente operado (Sham) ($33,38 \pm 4,39 \mu\text{L}$). Os animais do grupo histamina, que além da ligação pilórica receberam veículo (NaCl, 0,9%, 10 mL/kg) e a injeção intraperitoneal de histamina (5 mg/kg), tiveram um aumento de mais de cinco vezes ($172,90 \pm 17,69 \mu\text{L}$) no volume de secreção gástrica em relação ao grupo controle sham. O tratamento com LsHE (1,6 mg/kg) ou omeprazol (30 mg/kg) foi capaz de reduzir o volume gástrico em 62,41 e 60,97%, respectivamente, em comparação com o grupo histamina. Os animais tratados com LsHE apresentaram volume de secreção gástrica de $65,00 \pm 8,85 \mu\text{L}$ e os animais tratados com omeprazol apresentaram volume de secreção gástrica de $67,50 \pm 8,63 \mu\text{L}$.

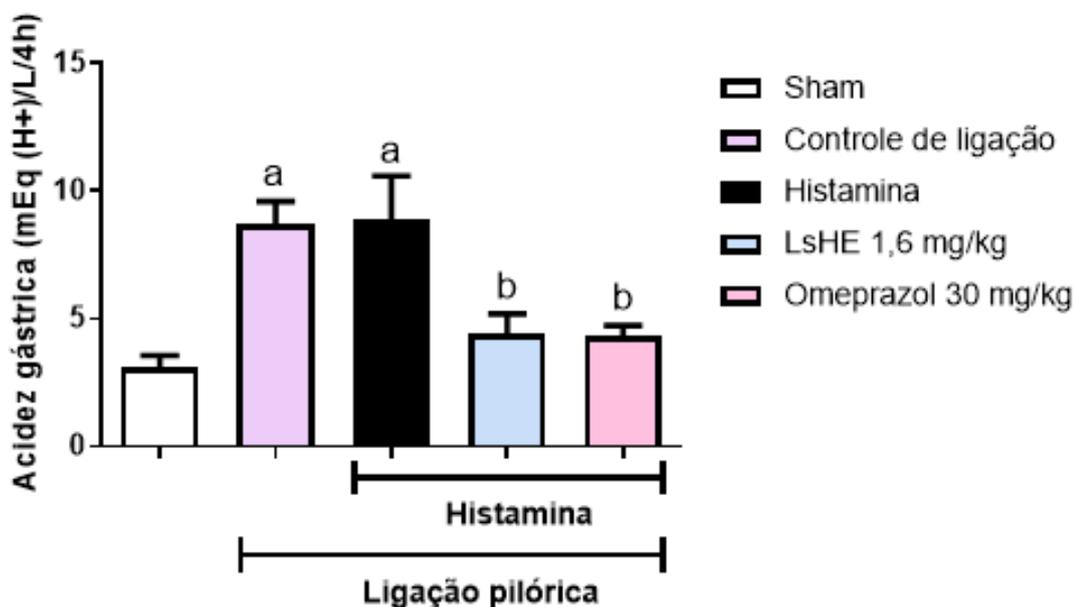
Gráfico 19: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o volume de secreção gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.



FONTE: Elaborado pelo autor. A avaliação do volume gástrico foi realizada em modelo de ligação pilórica, 4 horas após a ligação, segundo descrito por Monteiro *et al.* (2019). Histamina (5 mg/kg). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo sham. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo histamina.

O efeito de LsHE sobre a acidez gástrica pode ser visualizado no gráfico 20. O protocolo de ligação pilórica aumentou de forma significativa a acidez ($8,67 \pm 0,92$ mEq (H^+) /L /4h) se compararmos aos valores apresentados por animais do grupo controle falsamente operado (Sham) ($3,07 \pm 0,49$ mEq (H^+) /L /4h). Da mesma maneira, animais do grupo histamina, também apresentaram aumento significativo da acidez gástrica ($8,85 \pm 1,74$ mEq (H^+) /L /4h) em relação ao grupo controle sham. O tratamento com LsHE (1,6 mg/kg) foi capaz de reduzir em 50,40% ($4,39 \pm 0,79$ mEq (H^+) /L /4h) a acidez apresentada pelos animais se compararmos aos valores de acidez apresentados pelos animais do grupo histamina. O tratamento com omeprazol (30 mg/kg) também foi capaz de reduzir em 51,19% ($4,32 \pm 0,41$ mEq (H^+) /L /4h) a acidez gástrica dos animais se compararmos aos animais do grupo histamina.

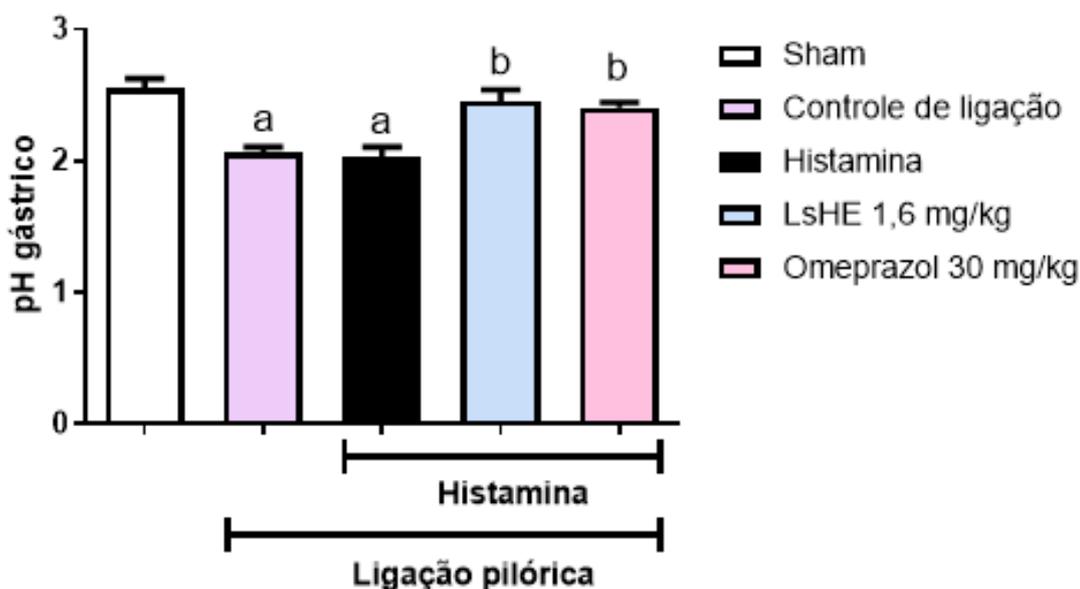
Gráfico 20: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre a acidez gástrica de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.



FONTE: Elaborado pelo autor. A avaliação da acidez gástrica foi realizada em modelo de ligação pilórica, 4 horas após a ligação, segundo descrito por Monteiro *et al.* (2019). A acidez foi determinada através de titulação com fenolftaleína 1%, onde acidez (mEq (H^+) /L /4h) = Volume de NaOH x Normalidade do NaOH x 100. Histamina (5 mg/kg). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo sham. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo histamina.

O efeito de LsHE sobre o pH gástrico pode ser visualizado no gráfico 21. O protocolo de ligação pilórica ocasionou uma redução significativa do pH gástrico ($2,06 \pm 0,04$) em relação ao grupo controle falsamente operado (Sham) ($2,55 \pm 0,07$). Os animais do grupo histamina, que além da ligação pilórica receberam veículo (NaCl, 0,9%, 10 mL/kg) e a injeção de histamina, também apresentaram uma redução significativa do pH gástrico ($2,03 \pm 0,07$) em relação aos valores apresentados por animais do grupo sham. O tratamento com LsHE (1,6 mg/kg) ou omeprazol (30 mg/kg) foi capaz de aumentar os valores de pH em 20,68 e 18,22%, respectivamente, em relação aos valores apresentados por animais do grupo histamina. Os animais tratados com LsHE apresentaram pH gástrico de $2,45 \pm 0,08$ e os animais tratados com omeprazol apresentaram pH gástrico de $2,40 \pm 0,03$.

Gráfico 21: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o pH gástrico de camundongos submetidos ao protocolo de ligação pilórica e tratados com histamina.



FONTE: Elaborado pelo autor. A avaliação do pH gástrico foi realizada em modelo de ligação pilórica, 4 horas após a ligação, segundo descrito por Monteiro *et al.* (2019). O pH foi determinada através de titulação com fenolftaleína 1%, onde $\text{pH} = -\log [\text{Concentração de } \text{H}^+]$. Histamina (5 mg/kg). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo sham. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo histamina.

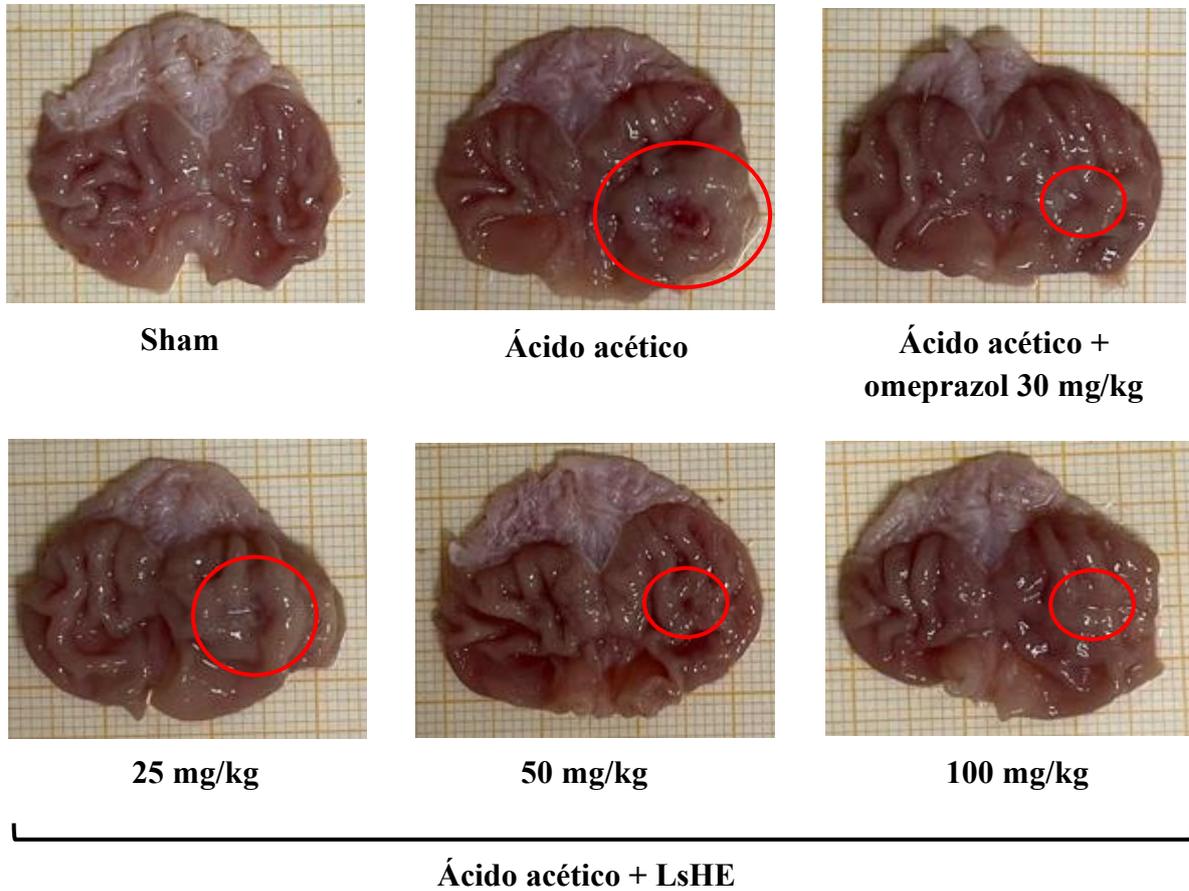
7.11 Avaliação da atividade cicatrizante do extrato de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em ratos

7.11.1 Efeito de LsHE sobre lesões gástricas induzidas por ácido acético

O efeito de LsHE sobre a área da lesão gástrica induzida por ácido acético pode ser visualizado na figura 17 que apresenta imagens representativas dos tecidos gástricos de ratos submetidos ao protocolo. Os animais do grupo ácido acético, que receberam apenas veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) durante os sete dias de tratamento, apresentaram área de lesão gástrica de $52,65 \pm 5,92 \text{ mm}^2$ (Gráfico 22 A). Esta área foi reduzida para $26,78 \pm 2,86$; $13,34 \pm 1,91$ e $12,44 \pm 1,72 \text{ mm}^2$ quando os animais foram tratados com o LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente. O tratamento com o omeprazol (30 mg/kg) também foi capaz de reduzir a área de lesão gástrica para $11,03 \pm 1,68 \text{ mm}^2$.

Com relação ao volume da lesão gástrica (Gráfico 22 B), tanto o LsHE como o omeprazol foram capazes de reduzir o volume da lesão apresentada pelos animais tratados em relação ao volume da lesão do grupo ácido acético. O volume da lesão foi de $317,20 \pm 46,66 \text{ mm}^2$ no grupo ácido acético e de $125,20 \pm 15,80$; $47,65 \pm 7,30$; $45,62 \pm 9,28$ e $39,85 \pm 7,09 \text{ mm}^2$, nos grupos tratados com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg e omeprazol respectivamente. A taxa de cicatrização da lesão gástrica também aumentou de forma significativa nos animais que receberam o tratamento com LsHE nas três doses em relação aos animais do grupo ácido acético (Gráfico 23). Nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg a taxa de cicatrização foi de $49,50 \pm 5,50$; $74,63 \pm 3,65$ e $76,25 \pm 3,31\%$ respectivamente. O tratamento com omeprazol também aumentou a taxa de cicatrização em $79,00 \pm 3,19\%$ em relação ao grupo ácido acético.

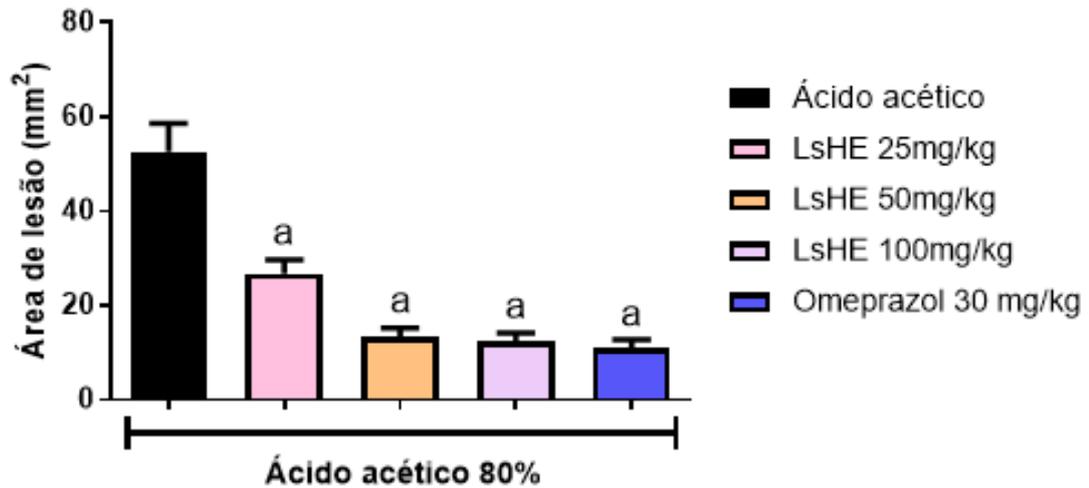
Figura 17: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos. Imagens macroscópicas representativas do tecido gástrico.



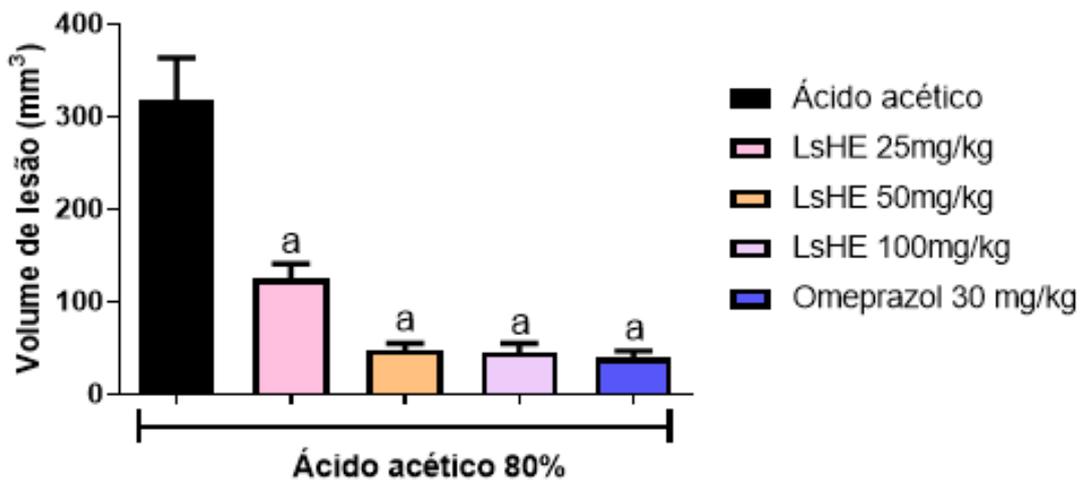
FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos ao protocolo de indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento.

Gráfico 22: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) na área (A) e volume (B) de lesões gástricas induzidas por ácido acético, em ratos, após sete dias de tratamento

(A)

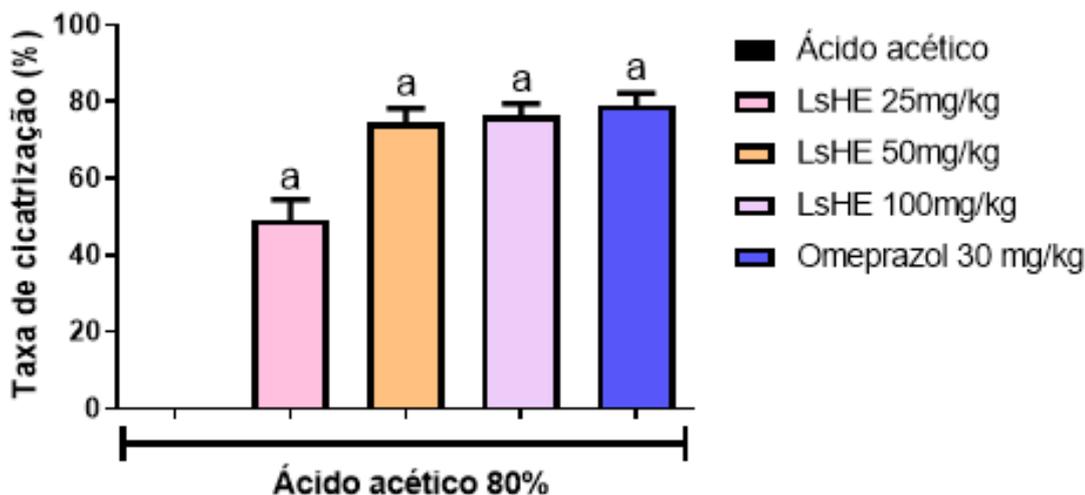


(B)



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. A área e o volume da lesão gástrica (mm²) foram mensuradas através de paquímetro digital (Digmess, 100.174B). Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,001 em relação ao grupo ácido acético.

Gráfico 23: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre a taxa de cicatrização de lesões gástricas induzidas por ácido acético, em ratos, após sete dias de tratamento



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. A taxa de cicatrização do grupo ácido acético foi utilizada como controle representando 0%. Taxa de cicatrização = [(Área de lesão do grupo ácido acético – Área de lesão do grupo teste) / Área de lesão do grupo ácido acético] x 100. Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^ap < 0,001 em relação ao grupo ácido acético.

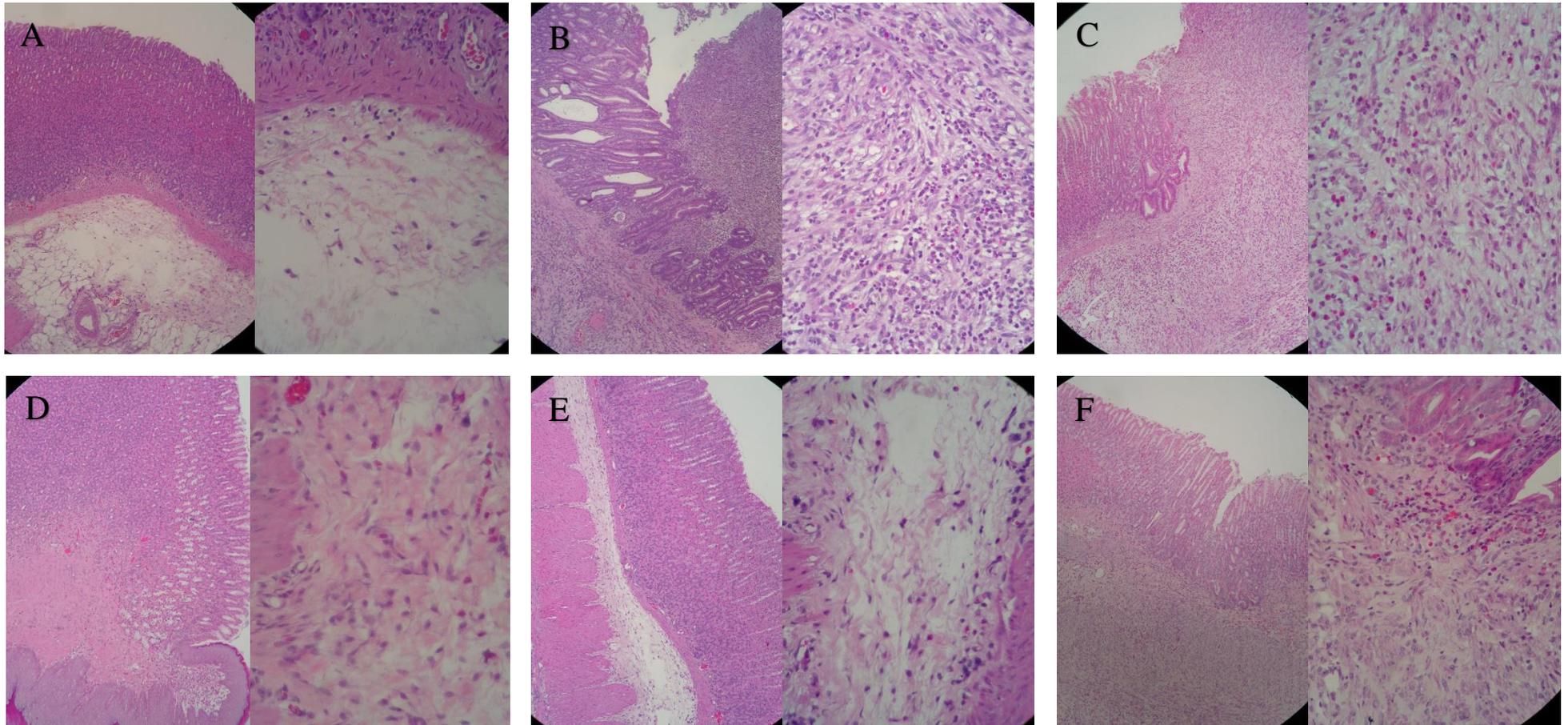
7.11.2 Efeito de LsHE sobre as alterações histológicas induzidas por ácido acético

A figura 18 e a tabela 10 mostram as alterações histopatológicas presentes nas amostras de estômago dos diferentes grupos experimentais. Os ratos do grupo Sham não foram submetidos ao procedimento de lesão gástrica com o ácido acético, mas foram submetidos ao processo cirúrgico da mesma maneira que os demais animais. Os estômagos desses animais apresentaram aparência histológica preservada, tanto das células principais e parietais como das glândulas mucosas. Neste grupo ocorreu a presença de hiperplasia nas células da mucosa e a presença de vasos ectásicos, mas sem a ocorrência de hemorragia. Além disso, foram encontrados leves/moderados focos de infiltrado inflamatório, com presença de neutrófilos esparsos acima da camada basal do epitélio (Figura 18A).

A análise histológica dos animais pertencentes ao grupo ácido acético, que foi submetido a lesão gástrica e recebeu tratamento apenas com veículo (NaCl 0,9%), apresentou reparo mínimo da mucosa gástrica. Ocorreu a presença de erosão e a perda de trechos do epitélio da mucosa em todos os animais do grupo. Além disso, também ocorreu a presença de metaplasia intestinal, de congestão vascular, de vasos ectásicos e de hemorragia em todos os animais presentes neste grupo. O tecido gástrico ficou caracterizado por intensos exsudatos inflamatórios na submucosa (agudos e crônicos), com grande quantidade de neutrófilos presentes acima da camada basal do epitélio. Ocorreu a presença de queratinização no epitélio em apenas um dos animais do grupo (Figura 18B).

Os animais que receberam o tratamento com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg ou com omeprazol (30 mg/kg) apresentaram redução nas alterações histopatológicas presentes em relação ao grupo ácido acético (Figura 18C-18F). Os animais destes grupos apresentaram menor erosão e menor perda de trechos do epitélio, sendo o aspecto histológico da mucosa preservado em alguns animais. Além disso, apesar da presença de vasos ectásicos e de congestão vascular em todos os grupos, ocorreu menor presença de hemorragia nos grupos que receberam LsHE nas doses de 50 e 100 mg/kg ou omeprazol. Também ocorreu uma menor presença de infiltrado inflamatório na submucosa de animais tratados com LsHE nas doses de 50 e 100 mg/kg.

Figura 18: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por ácido acético em ratos. Fotomicrografias representativas dos estômagos após diferentes tratamentos



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo, LsHE ou omeprazol. (A) Ratos que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento (Grupo sham); (B) Ratos tratados com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%); (C-E) Ratos tratados com LsHE doses de 25, 50 e 100 mg/kg; (F) Ratos tratados com omeprazol (30 mg/kg). As secções de tecido gástrico foram analisadas por coloração H&E (Ampliação $\times 100$, $\times 400$).

Tabela 10: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre as alterações histológicas do tecido gástrico, induzidas por ácido acético em ratos

Grupo	Epitélio de revestimento queratinizado	Presença de erosão e perda de trechos do epitélio	Presença de vasos ectásicos e hemorragia	Presença de focos inflamatórios
Sham	-	-	+	+
Ácido acético	-	+++	+++	+++
Ácido acético + LsHE 25 mg/ kg	-	++	+++	+++
Ácido acético + LsHE 50 mg/ kg	-	+	++	++
Ácido acético + LsHE 100 mg/ kg	-	+	++	++
Ácido acético + Omeprazol 30 mg/ Kg	-	+	++	+++

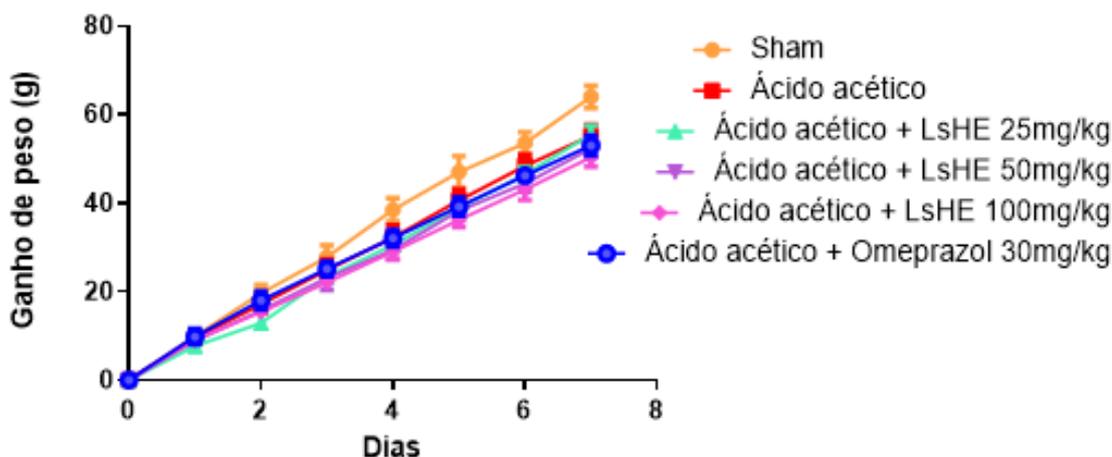
FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento. As secções de tecido gástrico foram analisadas por coloração H&E (Ampliação $\times 100$, $\times 400$). (+++) alterações severas, (++) alterações moderadas, (+) alterações médias, (-) sem alterações.

7.12 Avaliação do efeito de LsHE sobre parâmetros indicativos de toxicidade após o protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos

7.12.1 Efeito de LsHE sobre o peso dos animais, consumo de água e de ração

Durante o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético os animais receberam tratamento diário com o LsHE nas três doses avaliadas. A administração por via oral do LsHE (25, 50 e 100 mg/kg) ou do omeprazol (30 mg/kg) durante os sete dias de tratamento não promoveu alterações significativas no ganho de peso dos animais quando comparados com os animais do grupo ácido acético, que receberam apenas veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg) (Gráfico 24). O protocolo de indução de lesão gástrica por ácido acético também não afetou o ganho de peso dos animais. Não foram encontradas diferenças significativas relacionadas ao ganho de peso dos animais do grupo sham e dos animais dos demais grupos experimentais que apresentavam a lesão induzida por ácido acético. Também não foram encontradas diferenças significativas entre o consumo de água ou o consumo de ração de nenhum dos grupos, sham, veículo, LsHE nas três doses ou omeprazol (Gráfico 25 A-B).

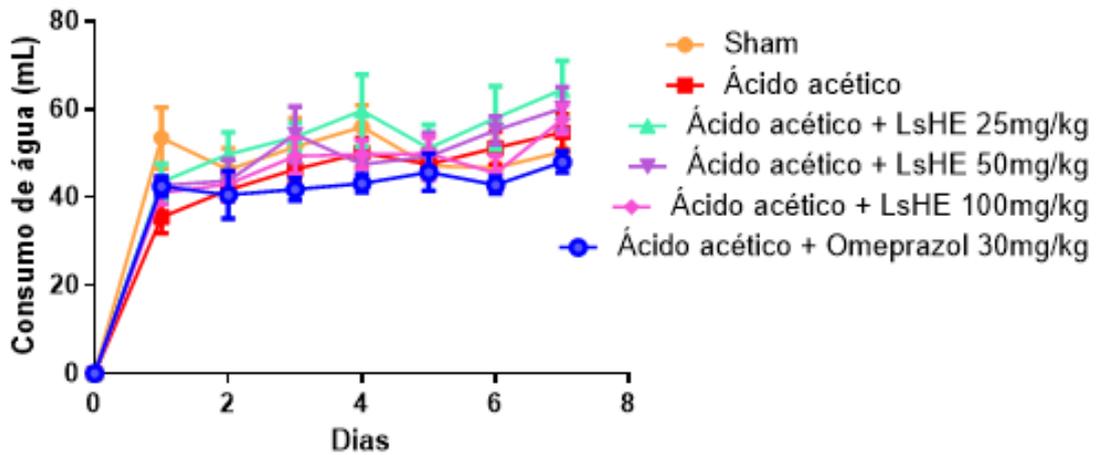
Gráfico 24: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o ganho de peso de animais tratados durante o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.



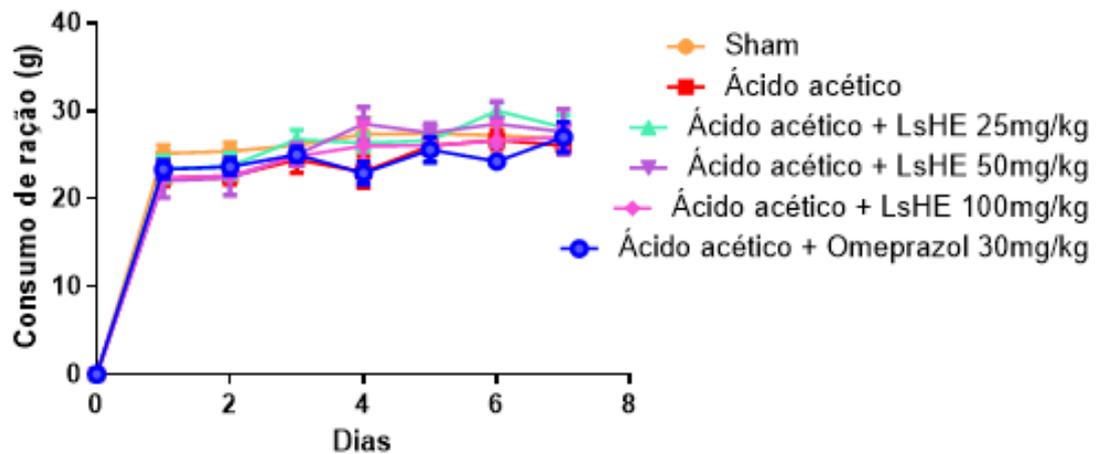
FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento. Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferroni.

Gráfico 25: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre o consumo de água (A) e sobre o consumo de ração (B) de animais tratados durante o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.

(A)



(B)



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento. Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferroni.

7.12.2 Efeito de LsHE sobre o peso relativo dos órgãos

Durante a avaliação de indicativos de toxicidade foi realizada a análise do peso relativo dos órgãos e conforme podemos observar na tabela 11. Não foram encontradas diferenças estatísticas relacionadas ao peso relativo do fígado, baço, rins, coração e pulmão em nenhum dos grupos experimentais avaliados.

7.12.3 Efeito de LsHE sobre parâmetros bioquímicos indicativos de toxicidade

A tabela 12 mostra os parâmetros bioquímicos séricos avaliados após o tratamento dos animais durante sete dias com o veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%, 10 mL/kg), LsHE (25, 50 e 100 mg/kg) ou omeprazol (30 mg/kg). Não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre os grupos para os valores de glicose, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, colesterol ou triglicérides.

Tabela 11: Peso relativo dos órgãos de ratos tratados com o extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético.

Grupo	Fígado	Baço	Rins	Coração	Pulmão
Sham	4,94 ± 0,15	0,53 ± 0,03	1,22 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,62 ± 0,02
Ácido acético	4,66 ± 0,20	0,58 ± 0,06	1,17 ± 0,02	0,45 ± 0,00	0,64 ± 0,03
Ácido acético + LsHE 25 mg/ kg	4,47 ± 0,21	0,43 ± 0,02	1,19 ± 0,02	0,41 ± 0,01	0,55 ± 0,01
Ácido acético + LsHE 50 mg/ kg	4,69 ± 0,24	0,44 ± 0,01	1,10 ± 0,04	0,43 ± 0,00	0,57 ± 0,03
Ácido acético + LsHE 100 mg/ kg	4,61 ± 0,13	0,62 ± 0,08	1,10 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,58 ± 0,01
Ácido acético + Omeprazol 30 mg/ Kg	4,70 ± 0,20	0,47 ± 0,01	1,16 ± 0,04	0,41 ± 0,02	0,60 ± 0,02

FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento. Peso relativo definido para cada 100 gramas de massa corporal do animal. Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferroni.

Tabela 12: Parâmetros bioquímicos séricos de ratos tratados com o extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) em protocolo de lesão gástrica induzida por ácido acético.

Grupo	Glicose (mg/ dL)	ALT (U/ L)	AST (U/ L)	Úreia (mg/ dL)	Creatinina (mg/ dL)	Colesterol (mg/ dL)	Triglicérides (mg/ dL)
Sham	112,10 ± 10,73	43,43 ± 3,60	117,90 ± 12,12	33,27 ± 1,08	0,53 ± 0,01	103,00 ± 12,78	88,50 ± 6,15
Ácido acético	121,10 ± 14,47	44,75 ± 3,26	125,80 ± 12,32	33,75 ± 0,97	0,55 ± 0,03	96,00 ± 3,67	100,90 ± 12,14
Ácido acético + LsHE 25 mg/ kg	120,80 ± 6,00	41,25 ± 2,42	116,40 ± 8,49	33,13 ± 1,94	0,60 ± 0,02	101,6 ± 05,45	98,00 ± 12,24
Ácido acético + LsHE 50 mg/ kg	117,30 ± 6,33	40,00 ± 3,88	112,10 ± 8,32	35,88 ± 2,19	0,58 ± 0,01	98,75 ± 6,84	96,63 ± 12,92
Ácido acético + LsHE 100 mg/ kg	117,90 ± 11,42	42,00 ± 3,98	114,00 ± 9,29	37,63 ± 2,16	0,58 ± 0,02	94,38 ± 6,17	89,13 ± 6,72
Ácido acético + Omeprazol 30 mg/ Kg	115,10 ± 7,85	43,71 ± 5,25	128,30 ± 0,52	33,43 ± 3,60	0,62 ± 0,02	95,43 ± 4,88	91,71 ± 6,00

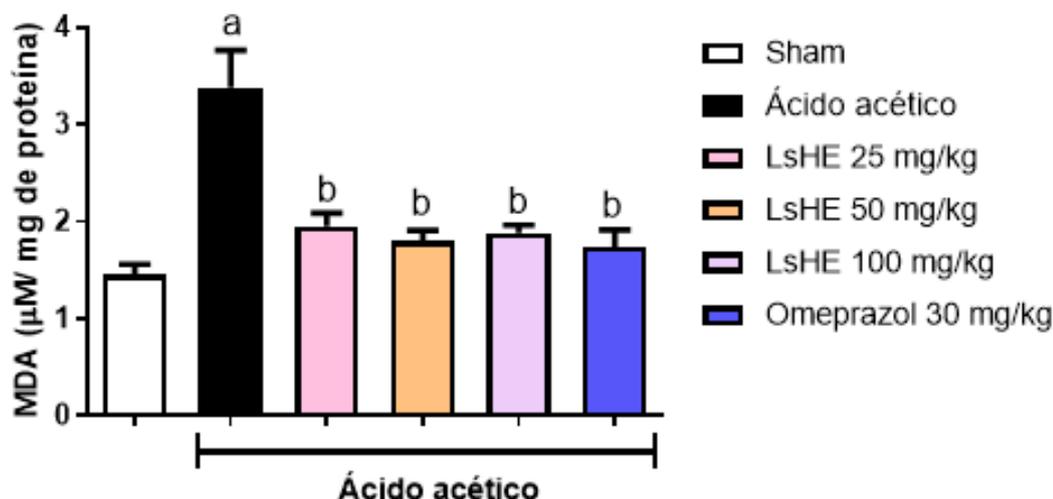
FONTE: Elaborado pelo autor. ALT, alanina aminotransferase; AST, aspartato aminotransferase. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. O grupo sham representa animais que não foram submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético e nem a nenhum tipo de tratamento. As análises foram realizadas utilizando aparelho do tipo LabQuest. Os resultados estão representados como média ± E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “two way”, seguida do pós-teste de Bonferroni.

7.13 Efeito de LsHE sobre marcadores do estresse oxidativo e da inflamação após o protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos

7.13.1 Níveis de malondialdeído

Ratos pertencentes ao grupo ácido acético apresentaram níveis de malondialdeído (MDA) mais de duas vezes maiores ($3,38 \pm 0,37 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) do que os animais do grupo controle sham ($1,45 \pm 0,10 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) (Gráfico 26). Animais pré-tratados com LsHE, nas três doses testadas, ou com omeprazol (30 mg/ kg) apresentaram uma redução significativa destes níveis quando comparados aos animais do grupo ácido acético. Os níveis de MDA nos grupos tratados por sete dias com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/ kg foram de $1,95 \pm 0,13$; $1,79 \pm 0,11$ e $1,88 \pm 0,07 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína, respectivamente. O tratamento com omeprazol também foi capaz de reduzir a presença de MDA no tecido gástrico dos animais e os níveis apresentados pelos animais deste grupo foram de $1,74 \pm 0,17 \mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína.

Gráfico 26: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de malondialdeído (MDA) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.

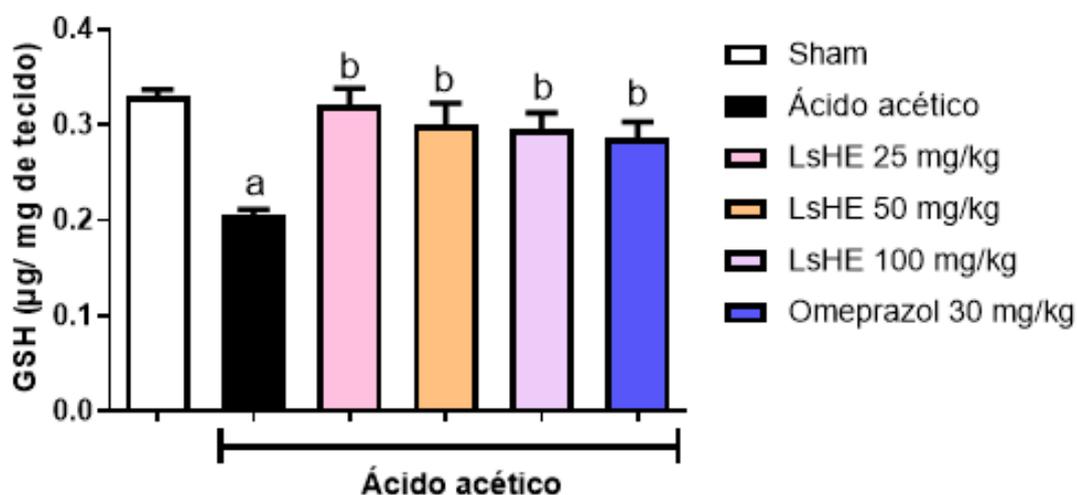


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. Os níveis de MDA foram determinados segundo Agar *et al.* (1999). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo sham. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo ácido acético.

7.13.2 Níveis de glutathiona reduzida

Conforme podemos visualizar no gráfico 27, ratos pertencentes ao grupo ácido acético apresentaram níveis de glutathiona (GSH) reduzidos ($0,20 \pm 0,006 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) em relação aos animais pertencentes ao grupo sham ($0,33 \pm 0,006 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) que não participaram do procedimento de indução de lesão gástrica pelo ácido. Isto representa uma redução de 39,39% nos níveis da enzima presentes nos animais do grupo ácido acético em relação aos animais do grupo sham. Nos animais tratados com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg ou com omeprazol na dose de 30 mg/kg os níveis de GSH foram significativamente maiores quando comparados aos valores apresentados por animais do grupo ácido acético. Os valores encontrados foram de $0,32 \pm 0,01$; $0,30 \pm 0,02$; $0,29 \pm 0,01$ e $0,28 \pm 0,01 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido para LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg e para omeprazol respectivamente.

Gráfico 27: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.

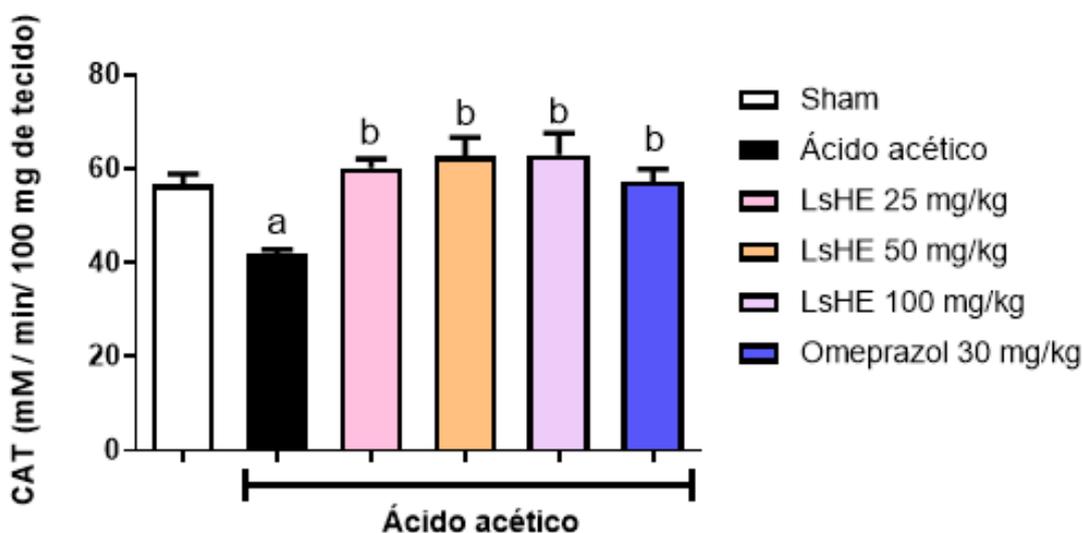


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. Os níveis de GSH foram determinados segundo Sedlak e Lindsay (1968). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo sham. ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo ácido acético.

7.13.3 Estimativa da atividade da catalase

A atividade da enzima catalase (CAT) em ratos do grupo ácido acético foi reduzida em 26,35% se compararmos a atividade da mesma enzima encontrada no tecido gástrico dos animais do grupo sham (Gráfico 28). O grupo sham apresentou atividade de CAT de $56,77 \pm 2,10$ mM / min/ 100 mg de tecido enquanto o grupo ácido acético apresentou atividade de $41,84 \pm 0,99$ mM / min/ 100 mg de tecido para a mesma enzima. Nos animais tratados por sete dias com LsHE nas doses de 25, 50 ou 100 mg/kg, os níveis de CAT foram significativamente maiores se compararmos aos níveis apresentados pelos animais do grupo ácido acético. Os valores encontrados foram de $60,14 \pm 1,94$; $62,76 \pm 3,93$ e $62,95 \pm 4,62$ mM / min/ 100 mg de tecido para LsHE nas doses de 25, 50 ou 100 mg/kg, respectivamente. O tratamento com omeprazol também foi capaz de aumentar a atividade de CAT no tecido gástrico dos animais e os níveis apresentados pelos animais deste grupo foram de $57,32 \pm 2,63$ mM / min/ 100 mg de tecido

Gráfico 28: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os níveis de atividade da catalase (CAT) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.

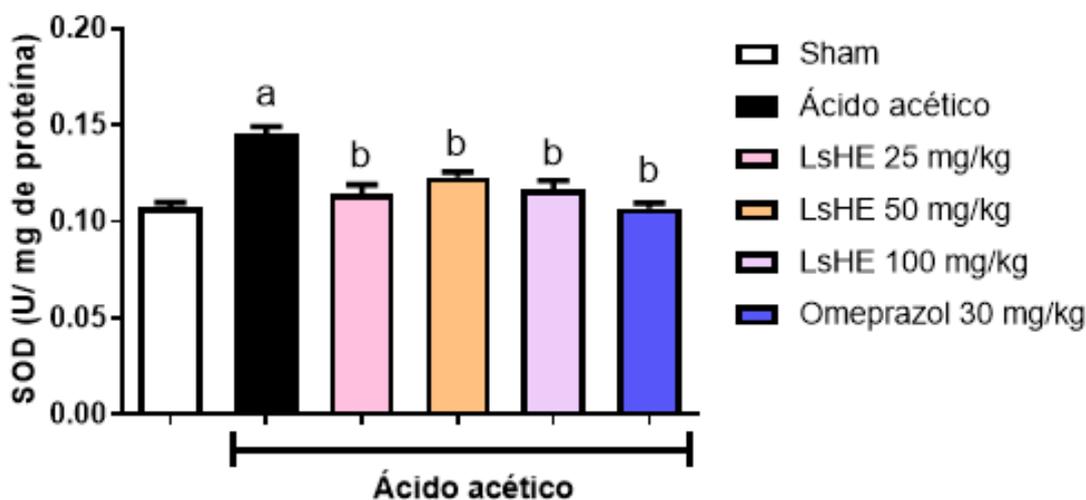


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. A atividade de CAT foi determinada segundo Beers e Sizer (1952). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo sham. ^b p < 0,05 em relação ao grupo ácido acético.

7.13.4 Estimativa da atividade da superóxido dismutase

A enzima superóxido dismutase (SOD) teve seus níveis elevados em ratos submetidos ao protocolo de indução de lesão por ácido acético ($0,14 \pm 0,004$ U/ mg de proteína), se compararmos ao animais pertencentes ao grupo controle sham ($0,10 \pm 0,002$ U/ mg de proteína). Conforme podemos visualizar no gráfico 29, o tratamento com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/ kg ou com omeprazol na dose de 30 mg/ kg reduziu a atividade enzimática de SOD de forma significativa para níveis semelhantes aos encontrados no grupo controle sham. Os animais tratados por sete dias com LsHE tiveram atividade de SOD de $0,11 \pm 0,004$; $0,12 \pm 0,002$ e $0,11 \pm 0,004$ U/ mg de proteína para as doses de 25, 50 e 100 mg/ kg, respectivamente. Os animais tratados por sete dias com omeprazol tiveram atividade de SOD de $0,10 \pm 0,002$ U/ mg de proteína

Gráfico 29: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre a atividade da superóxido dismutase (SOD) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.

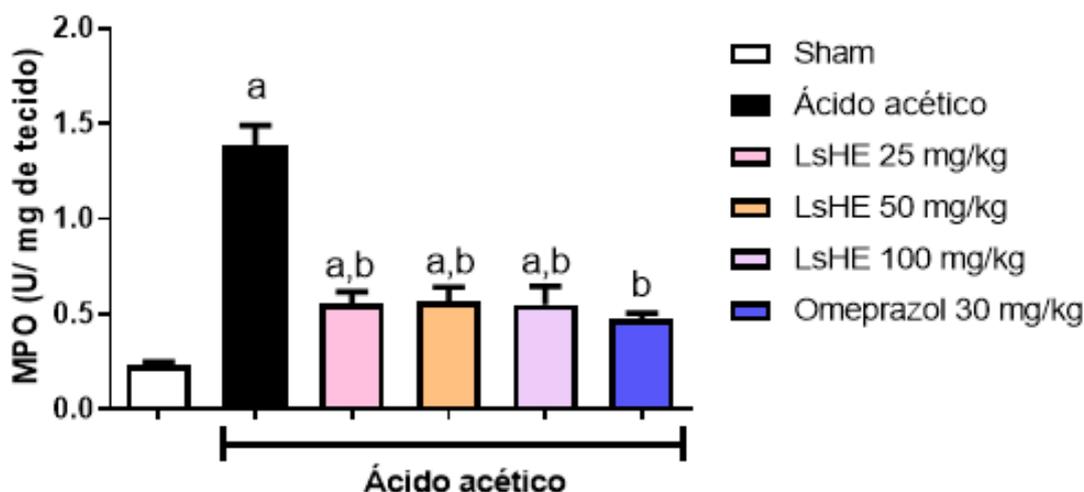


FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. A atividade de SOD foi determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo sham. ^b p < 0,05 em relação ao grupo ácido acético.

7.13.5 Estimativa da atividade da mieloperoxidase

Conforme podemos visualizar no gráfico 30, ratos do grupo ácido acético apresentaram atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO) aumentada em relação aos níveis apresentados por animais do grupo controle sham, que não foram submetidos ao processo de indução de lesão gástrica. Os animais do grupo ácido acético apresentaram média de unidades de MPO de $1,38 \pm 0,10$ U/ mg de tecido, enquanto nos animais do grupo sham os resultados encontrados foram de $0,23 \pm 0,01$ U/ mg de tecido. O tratamento com LsHE nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg durante sete dias foi capaz de reduzir a atividade de MPO para $0,55 \pm 0,06$; $0,56 \pm 0,07$ e $0,54 \pm 0,09$ U/ mg de tecido, respectivamente, em relação aos animais do grupo ácido acético. Os animais tratados com omeprazol na dose de 30 mg/ kg também apresentaram resultados reduzidos ($0,47 \pm 0,03$ U/ mg de tecido) em relação aos resultados apresentados pelo grupo ácido acético.

Gráfico 30: Efeitos do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) sobre os a atividade da mieloperoxidase (MPO) em ratos submetidos ao protocolo de lesões gástricas induzidas por ácido acético.



FONTE: Elaborado pelo autor. Os animais foram submetidos a indução de lesão gástrica por ácido acético 80% e tratados por 7 dias com veículo (Grupo ácido acético, NaCl 0,9%), LsHE ou omeprazol. A atividade de MPO foi determinada segundo Bradley *et al.* (1982). Os resultados estão representados como média \pm E.P.M. de oito animais/grupo. ANOVA “one way”, seguida do pós-teste de Tukey. ^a p < 0,05 em relação ao grupo sham. ^b p < 0,05 em relação ao grupo ácido acético.

8 DISCUSSÃO

Nosso estudo mostra pela primeira vez que o extrato hexânico de sementes de *L. sericeus* (LsHE) proporciona gastroproteção contra lesões gástricas induzidas por etanol absoluto e indometacina em camundongos. Também mostramos que LsHE possui atividade cicatrizante ao aumentar a cicatrização em modelo de lesão gástrica induzida por ácido acético em ratos. Durante a análise da composição química de LsHE, o ácido oleico foi o principal constituinte encontrado, seguido pelo ácido palmítico e pelo ácido behênico. Nossos resultados para essa composição química corroboram com o encontrado por Adewuyi *et al.* (2012) e por Oyedeji *et al.* (2020), que também estudaram um óleo de sementes de *L. sericeus* e encontraram um perfil de ácidos graxos de cadeia longa semelhante, com predominância de ácido elaídico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico e ácido behênico.

Na literatura, encontramos algumas atividades que já foram descritas e atribuídas a esses ácidos graxos presentes de forma majoritária na composição de LsHE. O ácido oleico é o ácido graxo monoinsaturado mais abundante na natureza e sozinho é responsável por mais de 67% da composição de LsHE. Esse ácido graxo tem sido associado a diversas atividades biológicas, como ser um fator neurotrófico, antibacteriano, antioxidante, inibir a propagação do câncer, reduzir a inflamação, aliviar a dor e reverter os riscos de obesidade e diabetes mellitus do tipo 2 (ALASMARY *et al.*, 2020; HAEIWA *et al.* 2013; MORALES-LÁZARO *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2021). Na indústria farmacêutica, o ácido oleico é usado como um intensificador de solubilidade para formulações orais, um emulsificante para formulações tópicas e um intensificador de penetração para formulações transdérmicas. Por conta disso, este composto é listado como um importante excipiente nas farmacopeias Europeia, dos Estados Unidos, Britânica e Indiana (JIANG *et al.*, 2018; STADEN; PLESSIS; VILJOEN, 2020; ZHENG *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2021).

O ácido palmítico, segundo componente majoritário de LsHE, também possui algumas atividades já relatadas na literatura. O ácido palmítico foi descrito negativamente por um longo período de tempo devido a seus efeitos adversos para a saúde e isso acabou obscurecendo suas atividades biológicas cruciais. Atualmente, sabemos que o ácido palmítico é responsável por importantes atividades fisiológicas, como a palmitilação de proteínas e a manutenção das propriedades físicas das membranas celulares (CARTA *et al.*, 2017). Esse ácido graxo saturado também possui atividades antimicrobianas e antitumorais que foram relatadas anteriormente na literatura (ALASMARY *et al.*, 2020; NAGATA *et al.*, 2015).

O ácido behênico, terceiro componente majoritário de LsHE, é um ácido graxo saturado de cadeia longa que também possui atividade antimicrobiana já relatada na literatura (XIE *et al.*, 2021). Recentemente, esse ácido graxo mostrou potencial *in silico* como alimento médico para o controle do diabetes tipo 2 (NATH *et al.*, 2022). Bockus *et al.* (2021) estudaram os níveis plasmáticos de ácido behênico em humanos e associaram altos níveis deste ácido a um envelhecimento mais saudável, um menor risco de doenças cardiovasculares, de câncer e uma menor diminuição da função física e da cognição durante o envelhecimento.

Ao iniciarmos os experimentos neste trabalho, primeiramente a toxicidade aguda de LsHE foi investigada. Não foram observados sinais de toxicidade, indicando que a DL50 deste extrato para camundongos está acima de 2000 mg/kg. Neste trabalho, as doses de LsHE utilizadas foram de 0,8; 1,6; 3,2; 25; 50 e no máximo 100 mg/kg. Estas doses são bem mais baixas do que a dose testada de forma aguda. A ausência de toxicidade aguda presente em LsHE também pode ser verificada pelos resultados de Mota (2008), que estudou lectinas das sementes de *L. sericeus* e não encontrou sinais de toxicidade após sete dias de administração intravenosa em camundongos. Emmanuel; Onyekachi; Uchenna (2020) também estudaram a mesma espécie e encontraram uma DL50 de 3100 mg/kg quando um extrato da casca de *L. sericeus* foi administrado por via intraperitoneal a camundongos.

Para corroborarmos com os resultados *in vivo* de ausência de toxicidade em LsHE, a toxicidade de seus componentes majoritários também foi investigada *in silico*. Nas últimas décadas, a bioinformática e a utilização de ferramentas computacionais, matemáticas e estatísticas tem ajudado a melhorar de forma simples a caracterização de diversas moléculas (HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ *et al.*, 2020). Analisamos, portanto, a previsão de múltiplos “endpoints” toxicológicos relacionados a estrutura química dos ácidos oleico, palmítico e beênico. As previsões de toxicidade *in silico* são uma alternativa rápida e barata, sendo muito interessantes para serem utilizadas durante o processo de seleção de compostos ou de confirmação de resultados obtidos *in vitro* e *in vivo* (BAI; ABERNETHY, 2013; BANERJEE *et al.*, 2018).

O ácido oleico se apresentou na classe de toxicidade 2 e os ácidos palmítico e beênico se apresentaram na classe de toxicidade 4. Essa escala varia de 1-6, onde 1 significa que o componente possui similaridade estrutural com produtos extremamente tóxicos e 6 significa que ele não possui esses “endpoints”. As classes de toxicidade também utilizam um sistema de classificação que usa os limites de previsão de dose letal (DL50) de 5, 50, 300, 2.000 e 5.000 mg/kg de peso corporal. Compostos pertencentes a classe 1 possuem predição de DL50 inferior

a 5 mg/kg e compostos pertencentes a classe 6 possuem predição de DL50 acima de 5.000 mg/kg (BANERJEE *et al.*, 2018; DRWAL *et al.*, 2014).

Esse resultado *in silico* corrobora com o observado *in vivo* para os ácidos palmítico e beénico que se apresentaram na classe de toxicidade 4 (DL50 até 2.000 mg/kg), mas não com a classe de toxicidade apresentada pelo ácido oleico (DL50 até 50 mg/kg). No entanto, vale ressaltar que nenhum dos componentes majoritários de LsHE apresentaram semelhança na estrutura química com compostos que pudessem ocasionar efeitos tóxicos indesejados nos demais parâmetros avaliados. Nem o ácido oleico, nem os ácidos palmítico e beénico apresentaram predição de possuírem potencial efeito mutagênico, tumorigênico, irritante, hepatóxico, efeito na reprodução ou imunotoxicidade, corroborando com os resultados de toxicidade aguda e de segurança encontrados até agora neste trabalho.

Para avaliação da atividade gastroprotetora de LsHE foram utilizados os modelos de lesão gástrica induzida por etanol e de lesão gástrica induzida por indometacina, um anti-inflamatório não esteroidal (AINE). Os dois modelos são muito bem descritos na literatura, eles envolvem diferentes agentes indutores, bem como diferentes mecanismos de indução, mas ambos possuem efeitos lesivos à mucosa gástrica muito bem estabelecidos. Além da presença de atividade citoprotetora gástrica, o modelo de lesão gástrica induzida por etanol é indicado durante a avaliação de compostos que podem apresentar características antioxidantes, e o modelo de lesão gástrica induzida por indometacina é indicado durante a avaliação de compostos que podem apresentar características moduladoras da secreção gástrica (ADINORTEY *et al.*, 2013).

O etanol é o principal, e mais utilizado, agente indutor de úlceras gástricas em modelos animais, causando necrose das células e lesão vascular com conseqüente ulceração do tecido (BEIRANVAND, 2022). A administração aguda do etanol altera a permeabilidade celular e depleta o muco gástrico, deixando as células da mucosa gástrica mais vulneráveis aos radicais livres produzidos, incluindo aqueles que são resultantes do próprio metabolismo do etanol no organismo (ZHOU *et al.*, 2020). A lesão gástrica oriunda deste agente é de origem multifatorial e envolve um aumento de vários fatores agressores da mucosa tais como, um aumento da secreção ácida gástrica, um aumento da permeabilidade vascular causando vasoconstrição, um aumento da presença de mediadores pró-inflamatórios e um aumento na produção de espécies reativas do oxigênio no sítio da lesão. Além disso, a lesão promovida pelo etanol se caracteriza também pela perda de fatores protetores importantes presentes no estômago, ocasionando a

diminuição de defesas antioxidantes, a diminuição na produção de prostaglandinas e a diminuição do muco gástrico (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2015; BOLTIN; NIV, 2014).

Os resultados do presente estudo indicam que a administração oral de LsHE em camundongos, confere proteção de forma significativa contra danos gástricos induzidos por etanol em comparação a animais que não receberam o pré-tratamento. A curva dose resposta obtida indicou que doses à partir de 1,6 mg/kg de LsHE são suficientes para reduzir a lesão gástrica de forma semelhante a redução que ocorre com o pré-tratamento com N- acetilcisteína (NAC). NAC é um agente gastroprotetor padrão que apresenta propriedades mucolíticas e antioxidantes, sendo bastante utilizado como controle positivo no modelo de lesão gástrica induzida por etanol (JACCOB, 2015). O resultado apresentado por LsHE, mesmo em dose tão baixa, sendo semelhante a NAC é bastante promissor. Esses resultados corroboram com o encontrado na literatura, onde Oyedeji *et al.* (2015) afirmam que a espécie *L. sericeus* é popularmente utilizada para tratar distúrbios estomacais na África. Essas propriedades gastroprotetoras também devem estar presentes em LsHE.

A gastroproteção oferecida por LsHE, contra os danos gástricos induzidos pelo etanol, foi confirmada através da análise histológica da parte glandular dos estômagos. O grupo de animais pré-tratados apenas com veículo, apresentou várias evidências de dano gástrico, como perda de células epiteliais, edema grave na superfície da mucosa, hiperemia, hemorragia e infiltrado de células inflamatórias. A perda de células epiteliais é uma etapa crítica no desenvolvimento de câncer gástrico. Essa erosão das células reduz a camada de proteção física da mucosa estomacal e provoca a perda de células parietais, reduzindo a produção de ácido clorídrico (YUAN; PADOL; HUNT, 2006). O pré-tratamento com LsHE foi capaz de prevenir de forma significativa tanto esta perda de células como os demais danos causados pelo etanol na mucosa e submucosa gástrica.

A ação gastroprotetora de LsHE no modelo de lesão gástrica induzida por etanol, mostra que este extrato pode estar agindo através de um efeito antioxidante. No entanto, para entendermos melhor sobre esses mecanismos relacionados a gastroproteção também avaliamos o modelo de lesão gástrica induzida por indometacina que pode estimar um potencial de LsHE também na modulação da secreção gástrica (ADINORTEY *et al.*, 2013). Da mesma forma que o etanol, a indometacina também tem um alto potencial para induzir lesões gástricas em modelos animais experimentais. A utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) em excesso é a segunda causa mais comum de úlceras gástricas em humanos, atrás apenas da infecção por *H. pylori* (SANTANA *et al.*, 2015). Este fármaco é um inibidor não seletivo de

ciclooxigenases (COX). Estas enzimas são responsáveis pela produção de prostaglandinas que estão fisiologicamente envolvidas na regulação de diversos fatores protetores da mucosa gástrica. As prostaglandinas regulam a produção de muco, a secreção de bicarbonato, a motilidade gástrica, a secreção ácida e a manutenção do fluxo sanguíneo (JUNIOR *et al.*, 2015). A utilização de indometacina em modelos animais altera a síntese de prostaglandinas, reduz os fatores gastroprotetores da mucosa e conseqüentemente induz a ulceração do tecido (GOMAA; EL-MOTTALEB; AAMER, 2018).

Neste trabalho, a administração oral de LsHE proporcionou proteção significativa da mucosa gástrica contra os danos causados pela indometacina em camundongos. Doses a partir de 1,6 mg/kg de LsHE foram suficientes para reduzir a lesão gástrica causada pela indometacina. Agentes gastroprotetores derivados de extratos de plantas geralmente atuam aumentando fatores protetores da mucosa gástrica, aumentando a síntese de prostaglandinas, de compostos antioxidantes, estimulando a secreção de muco e bicarbonato, dentre outros (KUNA *et al.*, 2019). Desta forma, é comum estes agentes agirem de forma eficiente em mais de um modelo diferente de indução de lesão gástrica.

Martins *et al.* (2022) investigaram o potencial do ácido linoleico, componente presente na composição do LSHE, e demonstraram seu potencial gastroprotetor em lesões gástricas induzidas por etanol acidificado, por indometacina, por estresse por contenção hipotérmica e por ligação de piloro em ratos, mostrando sua eficiência em todos estes modelos. Os autores também investigaram, além do efeito gastroprotetor, o efeito modulador da secreção ácida. Eles avaliaram volume, pH e acidez total da secreção gástrica e encontraram resultados promissores. O efeito de LsHE na lesão gástrica induzida por indometacina é um indicativo de que este, de forma semelhante ao seu componente ácido linoleico, também pode estar atuando na modulação da secreção ácida e vamos discutir melhor esse potencial um pouco na frente.

Para buscarmos compreender melhor os achados relacionados ao efeito gastroprotetor apresentado por LsHE, também realizamos mais algumas análises *in silico* de seus componentes majoritários, ácidos oleico, palmítico e bécnico. A associação de uso na medicina popular, resultados em experimentos *in vivo* e ferramentas computacionais validadas tem se tornado muito importante para o desenvolvimento de potenciais medicamentos de origem vegetal, como os fitoterápicos (BARBOSA *et al.*, 2020).

As propriedades físico-químicas dos compostos, por exemplo, podem nos ajudar a entender a natureza físico-química das interfaces e das possíveis interações entre as moléculas e de seus componentes com o organismo (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). Ao

avaliarmos as propriedades físico-químicas dos ácidos oleico, palmítico e beénico, encontramos parâmetros que apontam para a facilidade física e química de absorção dos componentes de LsHE pelo trato gastrointestinal. Segundo Barbosa *et al.* (2020), as propriedades físico-químicas adequadas para um composto ser absorvido pelo trato gastrointestinal são uma massa molecular de 150 a 500 g/mol, número de recebimento de ligações com o hidrogênio menor que 10, um coeficiente de partição logaritmo entre octanol e água (cLogP) de até 5 e um número de doadores de moléculas de hidrogênio abaixo de 5. Analisando os três componentes majoritários de LsHE, a exceção de cLogP, todos os demais parâmetros encontrados apontaram para facilidade na absorção dos componentes pelo trato gastrointestinal.

As características físicas e químicas adequadas para absorção gastrointestinal dos compostos foram confirmadas pela previsão da capacidade de absorção. Tanto o ácido oleico, como o ácido palmítico apresentaram alto potencial de capacidade de absorção gastrointestinal. Esse resultado é bastante interessante pois nos leva a sugerir que os efeitos gastroprotetores apresentados por LsHE podem estar relacionados, não apenas a uma ação na superfície das células, e sim a efeitos gerados pela absorção dos componentes na mucosa. Além disso, para o desenvolvimento de medicamentos é sempre muito interessante compostos com características compatíveis com a absorção gastrointestinal e com a administração por via oral. Essa via de administração facilita o tratamento, evita desconfortos e aumenta a adesão do paciente (GLEESON; MCCARTNEY, 2019).

Outra via muito importante durante o estudo de potenciais compostos para atuar como medicamentos e a via de absorção cutânea. Ao avaliarmos *in silico* o coeficiente de penetração na pele dos três componentes majoritários presentes em LsHE, tanto o ácido oleico, como o ácido palmítico e o ácido beénico apresentaram boa probabilidade de penetração epitelial. Esse resultado corrobora com os dados que encontramos previamente na literatura, onde o ácido oleico é utilizado pela indústria farmacêutica como um intensificador de penetração para formulações transdérmicas (JIANG *et al.*, 2018). Como o ácido oleico é o componente majoritário presente em LsHE, e os demais componentes também apresentam a mesma boa probabilidade de penetração epitelial, é provável que esta característica também esteja presente em LsHE.

O coeficiente de permeabilidade (Log K_p cm/s) é um parâmetro que leva em consideração o tamanho do permeante e o coeficiente de partição octanol/água. Quanto mais negativo o log K_p, menos permeante na pele é a molécula. Os ácidos oleico, palmítico e beénico apresentaram log K_p em torno de -2 e -1 e se compararmos ao diclofenaco, que é um

bom anti-inflamatório de uso tópico, este apresenta um log K_p de -4,96, sendo considerado um bom agente permeante. Esta propriedade é muito importante na indústria farmacêutica, principalmente quando se trata de formulações de uso tópico como agentes anti-inflamatórios (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; POTTS; GUY, 1992).

Outros parâmetros *in silico* que foram avaliados durante a análise dos componentes majoritários presentes LsHE foram a acessibilidade sintética, o “Drug Likeness” e a biodisponibilidade. Essas análises são interessantes quando se vai estudar compostos que tem o potencial para se tornarem medicamentos. A acessibilidade sintética, por exemplo, é uma pontuação baseada na análise das estruturas de milhões de compostos com a suposição de que quanto mais um fragmento molecular é frequente, mais fácil seria a síntese dessa molécula. A pontuação 1 prevê síntese fácil, a pontuação 10 prevê síntese muito difícil e os três componentes majoritários presentes em LsHE se aproximaram mais do que seria uma síntese fácil (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

O “Drug Likeness” se baseia em uma relação de semelhança do composto com outras drogas conhecidas. Um valor positivo neste parâmetro indica que o composto contém predominantemente fragmentos que estão frequentemente presentes em outros medicamentos comerciais (THOMAS SANDER, 2022). Isto não ocorreu em nenhum dos três componentes majoritários presentes em LsHE e podemos relacionar esse resultado a natureza química dos ácidos oleico, palmítico e beénico que são ácidos graxos de cadeia longa, não sendo componentes comuns em medicamentos.

Com relação a biodisponibilidade, esta prevê a probabilidade de um composto ter pelo menos 10% de biodisponibilidade oral. Essa pontuação é semiquantitativa e define quatro classes de compostos com probabilidades de 11%, 17%, 56% ou 85% (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). Os três componentes majoritários presentes em LsHE apresentaram a maior probabilidade de biodisponibilidade (85%) e isso corrobora com os resultados encontrados anteriormente para o alto potencial de absorção gastrointestinal dos ácidos oleico e palmítico. Além disso, isso também pode ser relacionado ao porquê de pequenas doses já serem tão efetivas na proteção gástrica. Os dados de biodisponibilidade são muito importantes durante a avaliação de interesse por um determinado composto, pois um percentual baixo mostra que este poderia ser incompatível com um perfil farmacocinético aceitável na prática (PRICE; PATEL, 2022).

Para avaliarmos possíveis interações metabólicas entre os componentes majoritários presentes LsHE e outros fármacos ou moléculas, também avaliamos o seu potencial de inibição

das citocromos P450 (CYP). As CYP P450 são uma superfamília de isoenzimas que participam da eliminação de drogas e agentes xenobióticos por meio de biotransformações metabólicas. Estas isoenzimas estão presentes no retículo endoplasmático liso dos hepatócitos e de alguns outros tipos celulares (DI, 2014). A inibição dessas isoenzimas é uma das principais causas de interações medicamentosas relacionadas à farmacocinética e pode levar a efeitos adversos indesejados ou efeitos tóxicos devido ao acúmulo da droga ou de seus metabólitos no organismo (HUANG *et al.*, 2008).

No caso dos componentes majoritários presentes em LsHE ocorreu a inibição de duas isoenzimas CYPP450 pelo ácido oleico e pelo ácido palmítico e de apenas uma das isoenzimas pelo ácido beénico. As CYPP450 inibidas foram a CYP 1A2 e a CYP 2C9. Apesar desta inibição para algumas CYPP450 isso não necessariamente indica que o composto causará efeitos adversos ou tóxicos que impossibilitariam sua utilização. Diversos medicamentos amplamente utilizados são inibidores de uma ou de várias dessas isoenzimas como o omeprazol, fluconazol, ciprofloxacino, contraceptivos orais, dentre outros (SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS, 2022).

Tanto a CYP 1A2 como a CYP 2C9 são isoformas muito importantes no processo de metabolização de drogas no corpo humano. A CYP 1A2 responde por até 15% das enzimas CYP hepáticas, metabolizando muitos medicamentos, como por exemplo: fenacetina, paracetamol, cafeína, clozapina, propranolol, mexiletina e certos pré-carcinógenos, como aflatoxinas, micotoxinas e nitrosaminas (GUO *et al.*, 2021; NOVOTARSKYI *et al.*, 2010). A CYP 2C9 também desempenha um papel muito importante, sendo responsável pela depuração metabólica de até 20% de todas as substâncias metabolizadas, incluindo mais de 100 medicamentos terapêuticos prescritos rotineiramente, como AINES, anticoagulantes e hipoglicemiantes, dentre eles: losartana, diclofenaco, ibuprofeno, meloxicam, naproxeno, ciclofosfamida, varfarina, dentre outros (BOOVEN *et al.*, 2010).

Tanto a CYP1A2, como a CYP2C9 também metabolizam ácidos graxos de cadeia longa em várias classes de metabólitos oxigenados que possuem atividades fisiológicas ou que formam produtos potencialmente tóxicos. O substrato mais estudado dessas epoxigenases CYP é o ácido araquidônico, sendo transformado em prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina. Vale ressaltar, no entanto, que essa metabolização ocorre em nove isoformas diferentes de CYP em humanos e não somente nas duas potencialmente inibidas pelos componentes majoritários de LsHE. O ácido linoleico, componente presente em LsHE, também é um ácido graxo metabolizado pela CYP2C9. Neste caso, ocorre a transformação em produtos tóxicos que

causam desconforto respiratório em modelos animais. Desta forma, a inibição dessa isoforma pelos próprios componentes majoritários presentes em LsHE pode acabar sendo benéfica, evitando a formação destes produtos (LUCAS *et al.*, 2010; SHAHABI *et al.*, 2014; SPECTOR; KIM, 2015).

Para entendermos melhor o processo de metabolização dos componentes de LsHE após a sua absorção pelo trato gastrointestinal, verificamos as predições para a ocorrência de biotransformações metabólicas no organismo. A biotransformação é um processo metabólico que ajuda a facilitar a excreção de diversas substâncias endógenas e exógenas, ocorrendo principalmente no fígado. Esse processo se baseia em uma série de reações que alteram as estruturas químicas das substâncias metabolizadas (ALMAZROO; MIAH; VENKATARAMANAN, 2017). As biotransformações podem ser divididas em fase I, fase II e fase III, mas estas fases não necessariamente seguem esta ordem, podem ocorrer inclusive de forma simultânea ou podem acabar nem chegando a ocorrer (PHANG; LLERENA, 2022).

As reações da fase I são catalisadas principalmente através das isoenzimas citocromo P450, onde a CYP3A4 é responsável por cerca de 50% de toda a atividade. Vale ressaltar que a CYP3A4 não foi inibida por nenhum dos componentes majoritários presentes em LsHE. As reações dessa fase consistem em reações de redução, oxidação ou hidrólise que convertem compostos lipofílicos, como os componentes presentes em LsHE, em moléculas mais polares. Ao observamos as biotransformações previstas para os ácidos oleico, palmítico e beênico, verificamos ser provável que os três componentes passem por reações de fase I e essas reações são muito importantes do ponto de vista biológico pois são elas que criam os metabólitos ativos dos compostos (PHANG; LLERENA, 2022).

As reações da fase II geralmente consistem na adição de grupos hidrofílicos ao composto ou a um intermediário formado na fase I. Essa fase inclui reações de conjugação, glucuronidação, acetilação e sulfatação. O objetivo final das reações de fase II seria formar produtos mais polares e menos tóxicos que possam ser excretados pelo organismo. Ao observamos as biotransformações dos três componentes majoritários presentes em LsHE é altamente provável a ocorrência de reações de fase II, e nos três com a adição de ácido glucurônico, um carboidrato bastante solúvel produzido através da oxidação da glicose (PHANG; LLERENA, 2022). A ocorrência destas reações de fase I e II, mostram que os três componentes majoritários presentes em LsHE são de fácil e provável metabolização e excreção pelo organismo após a sua absorção, sendo essas características muito importantes.

Mapear os alvos de compostos bioativos também é um passo muito importante para compreender melhor os mecanismos relacionados à sua bioatividade, prevendo inclusive possíveis reatividades cruzadas ou efeitos colaterais indesejados (GFELLER *et al.*, 2014). A triagem de compostos químicos contra alvos específicos tornou-se, portanto, parte importante durante a descoberta de compostos promissores, fornecendo informações úteis sobre a especificidade de cada um (ZIEGLER *et al.*, 2013). Geralmente, drogas hidrofóbicas pequenas são conhecidas por interagir principalmente com receptores acoplados a proteínas G, enquanto a maioria das grandes drogas hidrofílicas interagem com enzimas (SANTOS *et al.*, 2017). Desta forma, também realizamos esta análise para os componentes majoritários presentes em LsHE, buscando compreender um pouco melhor seu modo de ação no organismo.

A maioria dos compostos atua em diversos alvos moleculares distintos e um estudo *in silico* realizado por Mestres *et al.* (2009) investigou os alvos de diversas drogas. Os autores nomearam quatro famílias-alvo principais como sendo de relevância terapêutica: enzimas, receptores nucleares, receptores acoplados a proteínas G e canais/transportadores. No caso, as principais classes de alvos moleculares encontradas para os componentes majoritários de LsHE foram proteínas de ligação a ácidos graxos, enzimas e receptores nucleares. Em menor proporção estes componentes também se ligam a receptores acoplados a proteínas G.

A ligação dos componentes majoritários de LsHE a proteínas de ligação a ácidos graxos já era esperada. Essas proteínas são abundantes na maioria dos tecidos de mamíferos e essa ligação aumenta a solubilidade dos ácidos graxos, facilitando o seu transporte através dos compartimentos intracelulares. A ligação a essas proteínas também ajuda na interação das moléculas hidrofóbicas com membranas, enzimas, canais iônicos, receptores ou genes e influencia vários processos celulares (HELMSTÄDTER *et al.*, 2022; XU *et al.*, 2022). Quando observamos os alvos com 100% de probabilidade de se ligarem aos componentes majoritários de LsHE, vemos proteínas de ligação a ácidos graxos (FAB) com localização epidérmica, muscular, no adipócito, no fígado e no intestino. Isso mostra que esses componentes podem agir em diferentes localizações e podem ser transportados com facilidade por todo o organismo.

Compostos que se ligam a enzimas geralmente agem através da inibição da atividade enzimática, sendo essa a base de muitos medicamentos. Mais de 60 enzimas humanas são alvos de medicamentos utilizados rotineiramente. A inibição de uma enzima adequada leva a um aumento na concentração de determinado substrato ou a uma diminuição na concentração de determinado metabólito, levando a uma resposta clínica útil (LANDRY; GIES, 2008). Ocorreu a predição de ligação com 100% de probabilidade a enzima FAAH (amida hidrolase de ácido

graxo) pelo ácido oleico. Essa enzima degrada a anandamida canabidomimética em ácido araquidônico, um precursor de prostaglandinas (UEDA; YAMAMOTO, 2000). A FAAH tem sido estudada como alvo para o desenvolvimento de inibidores com potenciais no tratamento da dor, inflamação e distúrbios alimentares. Alguns anti-inflamatórios não esteroidais, que inibem a atividade da COX, também são inibidores da FAAH, levantando a possibilidade de que esta seja alvo de alguns agentes clinicamente relevantes (ALEXANDER, 2009).

Os receptores nucleares modulam a expressão gênica celular. Seus ligantes são geralmente moléculas lipofílicas, justamente como os componentes de LsHE, que contornam a membrana plasmática para atingir seus alvos intracelulares. Os seres humanos possuem mais de 40 receptores nucleares diferentes e a maioria pode ser ativada ou inativada por ligação a pequenas moléculas (FRIGO; BONDESSON; WILLIAMS, 2021). Quando observamos os alvos com 100% de probabilidade de se ligarem a LsHE, vemos os três subtipos (α , γ , δ) de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs). Estes são fatores de transcrição que regulam o metabolismo energético, influenciando no transporte, no armazenamento, na esterificação e na oxidação de ácidos graxos. Além disso, podem influenciar no sistema imunológico regulando o destino e a função de vários tipos de células como macrófagos, inibindo uma resposta inflamatória excessiva (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021).

Apesar da ligação a receptores acoplados à proteína G ter sido menos expressiva do que a ligação a outras classes de receptores, esta é a maior classe de receptores onde atuam quase 30% de todos os medicamentos comercializados. A diversidade da sinalização induzida por estes alvos é muito importante pois direciona moléculas, podendo levar à regulação farmacológica órgão-específica e, por conta disso, esses receptores são amplamente estudados (LANDRY; GIES, 2008). Ocorreu a predição de ligação com 100% de probabilidade ao receptor de ácido graxo livre (FFAR1) pelos ácidos palmítico e beénico. O FFAR1 é um receptor acoplado à proteína G ativado por ácidos graxos que desempenha um papel importante na homeostase da glicose. A ligação a este receptor aumenta a secreção de insulina e de peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1), sendo este um alvo antidiabético promissor durante o estudo de fármacos (LI *et al.*, 2017).

O mapeamento dos alvos moleculares dos componentes majoritários de LsHE nos abriu algumas possibilidades para tentarmos entender melhor os mecanismos pelos quais este composto age. Geralmente, compostos bioativos se ligam a proteínas ou outros alvos macromoleculares como uma forma de modular sua atividade e esse tipo de ligação resulta nos efeitos observados para aquele composto (GFELLER *et al.*, 2014). Desta forma, os alvos

encontrados para LsHE nos levam a pensar que seus componentes são facilmente transportados e metabolizados pelo organismo, podem atuar como agentes anti-inflamatórios e até influenciar no metabolismo da glicose. No entanto, mais estudos são necessários para entendermos melhor estas possibilidades.

Voltando mais especificamente aos mecanismos relacionados a efetiva proteção gástrica oferecida por LsHE no modelo de lesão induzida por etanol ou por indometacina, investigamos as alterações na quantidade de muco gástrico nos animais. O muco é um importante fator protetor da mucosa, e a barreira muco-bicarbonato forma a primeira linha de defesa contra ácido e pepsina, mantendo o pH luminal estável (DA LUZ *et al.*, 2019). Tanto o etanol como a indometacina diminuem significativamente o conteúdo de muco da parede gástrica, mas essa depleção foi bastante reduzida em animais pré-tratados com LsHE. No modelo de lesão gástrica induzida por etanol, LsHE impediu a redução do teor de muco de forma semelhante ao NAC, um conhecido agente mucolítico. NAC é amplamente descrito na literatura como uma substância que aumenta de forma efetiva o teor de muco gástrico, sem causar efeitos tóxicos, quando administrado por via oral em doses superiores a 100 mg/kg (JACCOB, 2015).

O resultado observado para o conteúdo de muco gástrico com o pré-tratamento com LsHE foi bem importante, mas para fornecer evidências concretas da participação de outros agentes citoprotetores, além do muco, também investigamos o comportamento de LsHE sobre o estresse oxidativo. Dentre os efeitos deletérios de agentes indutores de úlcera gástrica, como etanol e indometacina, podemos citar alterações na produção de enzimas antioxidantes e um desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BARKA *et al.*, 2017). Desta forma, foram analisados os níveis de marcadores do estresse oxidativo e inflamatório como GSH, MDA e MPO, e de enzimas antioxidantes como CAT e SOD.

Estudos têm demonstrado que as EROs e a peroxidação lipídica, desempenham um papel importante na patogênese da úlcera gástrica (BEN ALI *et al.*, 2015). O MDA é um produto de degradação resultante de interações entre EROs e a bicamada lipídica, sendo assim, um importante marcador de estresse oxidativo no tecido gástrico. O etanol e a indometacina causam danos a mucosa gástrica estimulando a peroxidação lipídica e conseqüentemente causando acúmulo de MDA nas células deste epitélio (ADINORTEY *et al.*, 2013). Neste trabalho, tanto no modelo de lesão gástrica induzida por etanol, como por indometacina, os camundongos que receberam apenas veículo mais que dobraram a quantidade de MDA presente no tecido, mas o pré-tratamento com LsHE diminuiu significativamente esse acúmulo de MDA e conseqüentemente o estresse oxidativo na região.

O pré-tratamento com NAC e com omeprazol também foram capazes de reduzir os níveis de peroxidação lipídica em animais que receberam etanol ou indometacina, respectivamente. NAC apresenta elevado efeito antioxidante já relatado, sendo capaz de erradicar neutrófilos reativos, radicais livres e assim impedir o desequilíbrio na concentração de EROs e o acúmulo de MDA (JACCOB, 2015). No caso do omeprazol, a indometacina reduziu os mecanismos de proteção da mucosa gástrica através da inibição da síntese de prostaglandinas. O pré-tratamento com omeprazol causou a inibição da bomba de prótons e reduziu a secreção de ácido gástrico que seria responsável por causar os danos a mucosa desprotegida. Isso evitou a degradação das membranas celulares através da peroxidação e o consequente acúmulo de MDA no tecido (AHMED; CLARKE, 2022).

Dentre as EROs, o radical superóxido (O_2^-) é um importante componente, sendo um dos primeiros radicais produzidos durante o processo de estresse oxidativo (LAZZARI *et al.*, 2018). Este radical é convertido em peróxido de hidrogênio pela enzima SOD, mas quando a expressão e a atividade da SOD estão reduzidas, observa-se um agravamento de danos teciduais e um aumento de peroxidação lipídica (QIU *et al.*, 2020). Desta forma, a atividade enzimática da SOD está correlacionada com a capacidade antioxidante intracelular e neste trabalho o pré-tratamento com LSHE manteve os níveis de atividade da SOD semelhante aos dos grupos controle, que não foram submetidos ao aumento do estresse oxidativo com etanol ou com indometacina (WANG *et al.*, 2015).

O peróxido de hidrogênio é produto da conversão do radical superóxido pela SOD. Este composto também é considerado tóxico devido à sua alta reatividade com diversos componentes celulares (KWIECIEN *et al.*, 2014). O peróxido de hidrogênio pode ser convertido em água de duas maneiras, através da ação da enzima catalase (CAT) ou da ação da enzima glutathione peroxidase (GPx). Na conversão do peróxido de hidrogênio pela enzima GPx, também ocorre a conversão de glutathione da forma reduzida (GSH) para a forma oxidada (GSSG) (JANKO *et al.*, 2014).

Neste trabalho, o pré-tratamento com LSHE foi capaz de manter os níveis de atividade da CAT e o nível do GSH semelhantes aos grupos controle, que não foram submetidos ao aumento do estresse oxidativo com etanol ou com indometacina. Esses resultados estão de acordo com o que encontramos na literatura, onde os extratos de plantas, geralmente exercem sua atividade gastroprotetora ao manter a atividade de enzimas e atuar como compostos antioxidantes, impedindo os danos causados pelo estresse oxidativo no tecido. Como exemplos de espécies muito estudadas como fontes de antioxidantes, temos o extrato de folhas de *Vitis*

vinífera e o extrato de casca de *Citrus sinensis* L. (SAADAOUI *et al.*, 2020; SELMI *et al.*, 2017).

Como os extratos de plantas geralmente são ricos em componentes antioxidantes, a utilização de antioxidantes vegetais no tratamento de úlceras gástricas está a cada dia mais presente na literatura (BEIRANVAND, 2022). Oyedeji *et al.* (2015) afirmam que as sementes da espécie *L. sericeus* possuem uma alta concentração de componentes antioxidantes como flavonóides. Esses são biologicamente muito ativos e possuem fortes propriedades antioxidantes com redução da peroxidação lipídica já relatadas na literatura (GUZELGUN; INCE; ORHAN, 2018; SCHOLTEN; SERGEEV, 2013; ZOU *et al.*, 2021). Agbonon e Gbbeassor (2009) estudaram um extrato etanólico das folhas de *L. sericeus* e demonstraram o potencial antioxidante por FRAP e DPPH. Além disso, o extrato foi capaz de reduzir os níveis de MDA no fígado de ratos tratados com CCl₄ e os autores associaram a redução do estresse oxidativo como a fonte do potencial hepatoprotetor encontrado.

Essa presença de atividade antioxidante também já foi relatada algumas vezes na literatura para alguns dos componentes presentes na composição de LsHE, corroborando mais ainda com os achados neste trabalho. Muitos ácidos graxos têm a capacidade de atuar como agentes antioxidantes ou pró-oxidantes (HENRY *et al.*, 2002). Kozłowska *et al.* (2016) estudaram óleos extraídos de diversas sementes de plantas e encontraram capacidade *in vitro* de eliminação de radicais livres em todas as amostras. Dentre a composição dos óleos estudados, os autores encontraram a predominância dos ácidos palmítico, oleico e linoleico, todos componentes presentes em LsHE. Henry *et al.* (2002) estudou o potencial antioxidante *in vitro* de alguns ácidos graxos presentes em alimentos e também encontraram a presença de boa atividade antioxidante para os ácidos oleico, palmítico e linoleico.

Haeiwa *et al.* (2013) estudaram oito ácidos graxos (oleico, palmítico, esteárico, elaidico, linoleico, α -linolênico, γ -linolênico e cervonico) em células 3T3-L1. Os autores consideraram o ácido oleico, principal componente de LsHE, como detentor do melhor potencial como agente citoprotetor e antioxidante em modelos de estresse oxidativo nessas células. Zhang *et al.* (2022) estudaram o potencial do ácido oleico na lesão renal aguda e também encontram a presença de atividade antioxidante em camundongos. Além disso, o ácido oleico melhorou significativamente as atividades de GPx e de SOD, além de reduzir os níveis de MDA no modelo estudado. Todos esses achados corroboram com o efeito antioxidante e a capacidade de eliminação de radicais livres que observamos em LsHE.

Diferente da SOD, CAT e GPx que são enzimas que reduzem o estresse oxidativo, a MPO é uma enzima que, na presença de peróxido de hidrogênio, catalisa a formação de intermediários que são EROs, incluindo ácido hipocloroso. Essa enzima desempenha um papel importante na morte microbiana induzida por neutrófilos e também é um mediador local do dano tecidual, já que marca a presença de neutrófilos no tecido inflamado (ARATANI, 2018). Uma vez instalado o estresse oxidativo, a MPO e as células inflamatórias presentes se comportam como uma fonte de espécies reativas de oxigênio no sítio de lesão. Esse processo gera um ciclo vicioso que aumenta cada vez mais o dano oxidativo e a resposta inflamatória concomitantemente (HUSSAIN *et al.*, 2016).

A formação de úlceras gástricas geralmente está associada com o aumento dos níveis de MPO, pois o dano tecidual causa a liberação de mediadores inflamatórios e induz a migração de neutrófilos para a mucosa (OYELEKE *et al.*, 2018). O pré-tratamento com LsHE promoveu uma redução significativa na atividade da enzima MPO tanto nos danos gástricos induzidos por etanol, como por indometacina. Essa redução da presença da enzima indica um potencial anti-inflamatório no tecido gástrico e corrobora com o uso popular relatado para *L. sericeus* e com outros trabalhos encontrados com essa planta na literatura (EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA; 2020; FONTENETE *et al.* 2009; MOTA 2008). Mais na frente abordaremos um pouco mais sobre esse possível potencial que também encontramos em LsHE.

Além da manutenção da barreira de muco e da diminuição do estresse oxidativo, existem outros mecanismos que podem ser associados a proteção gástrica. Para elucidar ainda mais os mecanismos farmacológicos envolvidos por trás da atividade gastroprotetora de LsHE, os camundongos também foram pré-tratados com indometacina, L-NAME, glibenclamida ou vermelho de rutênio. Os mecanismos de defesa promovidos pelas prostaglandinas, a liberação de óxido nítrico, a abertura de canais de potássio sensíveis ao ATP e os receptores TRPV estão diretamente relacionados à ocorrência de lesão gastrointestinal (KANGWAN *et al.*, 2014). Neste trabalho, ao investigarmos essas vias, o efeito gastroprotetor de LsHE pode ser associado à produção de prostaglandinas, a liberação de óxido nítrico e aos receptores TRPV, mas aparentemente não envolve canais de potássio.

Como vimos anteriormente, a indometacina é um inibidor não seletivo das ciclooxigenases. A COX-1 é a enzima responsável pela produção de prostaglandinas que atuam fisiologicamente na regulação de fatores protetores da mucosa gástrica. As prostaglandinas, principalmente as prostaglandinas E2 (PGE2), atuam estimulando a secreção de muco e bicarbonato, regulando o fluxo sanguíneo, regulando a mobilidade gástrica e limitando a

secreção ácida de forma direta ou indireta via receptores de histamina. Além disso, a PGE2 estimula a proliferação de células da mucosa gástrica e promove a renovação e reparo do epitélio da mucosa (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

Neste trabalho, a ação gastroprotetora de LsHE e do misoprostol, um análogo de prostaglandina (PGE1), foram significativamente anuladas com o pré-tratamento com indometacina. Esse resultado sugere que as ciclooxigenases e a liberação de prostaglandinas exercem um papel importante na gastroproteção apresentada por LsHE, pois a inibição de sua síntese reverteu completamente o efeito gastroprotetor antes apresentado. Araruna *et al.* (2021), Cerqueira *et al.* (2012), Neto *et al.* (2017), Sousa *et al.* (2018) e Viana *et al.* (2016), também encontraram a inibição/ redução do efeito gastroprotetor do misoprostol em animais pré tratados com inibidores da COX. Todos os autores usaram doses baixas desta prostaglandina sintética e consideraram que ocorreu a reversão da atividade gastroprotetora com a utilização do pré-tratamento, sempre de forma a corroborar com os resultados encontrados em seus experimentos.

Durante a avaliação do resultado obtido, vale chamar atenção, que o tratamento realizado apenas com indometacina também é capaz de induzir a ulceração da mucosa gástrica. No entanto, o experimento de avaliação de mecanismo de ação proposto por Matsuda; Li; Yoshikawa (1999) utiliza uma menor dose deste composto, uma via de administração diferente e um tempo para a ação reduzido. O mecanismo de ulceração induzido pela indometacina ocorre devido a redução da produção de prostaglandinas e consequente perda de fatores protetores da mucosa gástrica. Isso leva a ocorrência de lesões por conta do próprio ácido gástrico que causa danos a mucosa desprotegida (GOMAA; EL-MOTTALEB; AAMER, 2018). No protocolo de indução de úlceras por indometacina apresentado neste trabalho, o tempo entre a administração da indometacina e o sacrifício dos animais foi de sete horas, mas durante o protocolo de avaliação do mecanismo de ação esse tempo foi de apenas duas horas. Se somarmos o menor período de tempo para que o ácido gástrico causasse danos, a menor dose utilizada e as características visuais da lesão, que foram típicas de lesões causadas pelo etanol, podemos supor que os danos verificados na mucosa gástrica dos animais foram causados pelo etanol e não pelo pré-tratamento com indometacina.

Matsuda; Li; Yoshikawa (1999) quando elaboraram o protocolo encontraram em seus experimentos pouca diferença entre o escore das lesões induzidas apenas por etanol e o escore das lesões gástricas induzidas pela combinação do etanol com o pré-tratamento com indometacina. Areche *et al.* (2008), Cerqueira *et al.* (2012) e Júnior *et al.* (2014) encontraram resultados semelhantes na área ou nas porcentagens das lesões gástricas em animais tratados

apenas com etanol e em animais que receberam o pré-tratamento com indometacina mais o etanol. Areche *et al.* (2020) e Bento *et al.* (2018), encontraram pequena redução na área de lesão gástrica quando associaram o etanol ao pré-tratamento com indometacina, se comparado a área de lesão apresentada nos grupos que receberam apenas etanol.

Além das prostaglandinas, o óxido nítrico também desempenha um papel importante nos mecanismos de proteção gástrica. O óxido nítrico atua como um potente vasodilatador no trato gastrointestinal, modulando o fluxo sanguíneo, regulando a secreção de muco e bicarbonato, e também interagindo com prostaglandinas para regular a secreção de ácido gástrico ao suprimir a liberação de histamina pelas células enterocromafins (JUNIOR *et al.*, 2015; MARD *et al.*, 2014). Em modelos animais de lesão gástrica, o uso de inibidores da óxido nítrico sintase, como o L-NAME, pode promover um aumento das lesões gástricas sem alterar a síntese de prostaglandinas e isso permite avaliar a influência das vias separadamente no efeito gastroprotetor (HEEBA; HASSAN; AMIN, 2009).

Neste trabalho, o efeito gastroprotetor de LsHE e de L-arginina, precursora da síntese do óxido nítrico, foram completamente revertidos na presença de L-NAME. Esses resultados sugerem que LsHE também está envolvido na liberação de óxido nítrico e que isso está relacionado aos efeitos gastroprotetores apresentados. Novamente, ao somarmos todos os resultados obtidos até agora, LsHE estaria atuando estimulando a produção de óxido nítrico e isso pode ser relacionado a um aumento na produção de prostaglandinas endógenas, ao aumento da produção de muco e a redução da secreção ácida. Tudo isso pode estar sendo somado e resultando no efeito gastroprotetor apresentado. É comum que extratos vegetais exerceram seus efeitos gastroprotetores ativando múltiplas vias, e diversos trabalhos mostram a liberação de óxido nítrico e a estimulação da produção de prostaglandinas endógenas como os principais mecanismos de ação da atividade gastroprotetora (BENTO *et al.*, 2018; JUNIOR *et al.*, 2015; NETO *et al.*, 2017).

Da mesma forma que o óxido nítrico, os canais de potássio sensíveis ao ATP (KATP), presentes no endotélio dos vasos sanguíneos do tecido gástrico, também estão diretamente relacionados à modulação do fluxo sanguíneo e outros mecanismos gastroprotetores da mucosa. Além disso, tanto óxido nítrico como as prostaglandinas endógenas podem atuar como moduladores dos KATP e este mecanismo, pelo menos em parte, medeia a gastroproteção de diversos compostos. A abertura dos canais KATP aumenta a microcirculação gástrica, causa vasodilatação, inibe a ativação e migração de neutrófilos e inibe a produção do íon superóxido (ARUNACHALAM *et al.*, 2017).

O envolvimento dos canais KATP na gastroproteção contra lesões induzidas por etanol, pode estar ligado a um sistema de abertura dos canais e secreção de conteúdo intracelular, com consequente relaxamento endotelial e aumento do fluxo sanguíneo. A glibenclamida atua bloqueando os canais de KATP por reduzir a permeabilidade das células ao potássio. Os efeitos da glibenclamida incluem induzir a vasoconstrição gástrica na região afetada e desta forma promover a formação de úlceras (ARUNACHALAM *et al.*, 2017; BENTO *et al.*, 2018).

Ao analisarmos a influência dos canais de potássio na gastroproteção de LsHE contra a lesão gástrica induzida por etanol, é improvável sua participação. Embora as prostaglandinas e o óxido nítrico estejam envolvidos na estimulação dos canais de potássio os efeitos nem sempre são dependentes e, no caso de LsHE, o pré-tratamento dos animais com glibenclamida não conseguiu reverter de forma total a gastroproteção apresentada por LsHE. Isso sugere que a abertura dos canais de potássio não apresenta papel importante durante o mecanismo gastroprotetor neste caso. Achados semelhantes foram encontrados por Júnior *et al.* (2015) e Neto *et al.* (2017), onde os extratos de plantas estudados pelos autores também apresentaram efeito gastroprotetor com envolvimento de prostaglandinas e de óxido nítrico, mas independente da ativação dos canais KATP.

Os receptores vanilóides (TRPV) são receptores de membrana expressos por neurônios sensoriais nociceptivos, são seis (TRPV1-TRPV6). Quando ativados, eles atuam como um espécie de canal de cátions não-específico, permitindo o influxo de cálcio Ca^{2+} , e desencadeando a sensação de dor (MCCARTY; DINICOLANTONIO; O'KEEFE, 2015). Esses canais são amplamente expressos em todos os tecidos de mamíferos e desta forma, já foram vinculados a inúmeras funções fisiológicas. Eles também são amplamente expressos em todo o trato digestivo e TRPV1 e TRPV4 são associados a ocorrência de distúrbios gástricos e mecanismos gastroprotetores (CATERINA, 2015; PACHECO *et al.*, 2021).

Os receptores TRPV podem ser ativados por ativadores endógenos como calor, pH e alguns metabólitos e por ativadores exógenos como a capsaicina. A capsaicina promove a dessensibilização dos neurônios nociceptivos através da ativação de TRPV. Dependendo da concentração e da duração da exposição de TRPV ao influxo de cálcio, ocorre a dessensibilização dos canais e isso contribui para os efeitos analgésicos da capsaicina (VYKLIČKÝ *et al.*, 2008). A capsaicina também age na aceleração da cicatrização de úlceras gástricas, atuando através do aumento da secreção de muco, da inibição da secreção de ácido gástrico, estimulando a microcirculação gástrica e exercendo efeitos vasodilatadores, via estímulo da secreção de óxido nítrico (SHARMA; VIJ; SHARMA, 2013).

Ativadores dos canais TRPV parecem participar de mecanismos gastroprotetores de remédios tradicionais à base de plantas através de diversos mecanismos, dentre eles da alteração da motilidade e da secreção gástrica (POOLE *et al.*, 2015). O vermelho de rutênio é um antagonista que, embora não interfira com o sítio de ligação do receptor, bloqueia o canal iônico TRPV de forma não específica (SANTOS *et al.*, 2019). A ação gastroprotetora de LsHE foi parcialmente revertida na presença de vermelho de rutênio, nos fornecendo evidências de que possivelmente existe alguma participação dos receptores TRPV no mecanismo de ação de LsHE. No entanto, como o vermelho de rutênio é um bloqueador inespecífico destes canais iônicos e a reversão da gastroproteção não foi completa, mais estudos são necessários para comprovarmos esta participação. De outra maneira, o vermelho de rutênio inibiu totalmente a ação gastroprotetora da capsaicina, mostrando a participação já esperada dos canais TRPV na gastroproteção induzida por essa substância.

Outro mecanismo que pode ser relacionado a proteção gástrica, é a modulação da secreção ácida. Esta secreção é regulada por fatores hormonais, parácrinos e neurais representados por gastrina, histamina e acetilcolina, respectivamente (ARIN *et al.*, 2017). Os compostos que podem agir sobre ou inibir qualquer um desses fatores, podem reduzir significativamente a secreção gástrica e dessa forma produzir efeitos gastroprotetores. A regulação da secreção ácida ocorre por meio da estimulação da bomba de prótons. Dessa forma, compostos que possam inibir diretamente essa bomba (IBPs), também são bastante utilizados para controlar úlceras gástricas (YOUS *et al.*, 2018).

O modelo de ligação pilórica leva ao acúmulo de ácido no estômago dos camundongos. Esse acúmulo leva ao comprometimento da barreira da mucosa gástrica e ao desenvolvimento de úlceras no estômago (VIVEK; CHANDER; NARAYAN, 2014). Agentes que possam inibir a produção de ácido gástrico e/ou aumentar as secreções de muco, são consideradas potentes gastroprotetores contra úlceras induzidas pela ligação do piloro (CHOUDHARY; BODAKHE; GUPTA, 2013). O omeprazol, por exemplo, atua como um agente anti-úlceras inibindo a bomba de prótons e mostrando atividade antissecretora e de aumento do pH gástrico (BOUWKNEGT *et al.*, 2014).

A administração de LsHE foi capaz de diminuir o aumento da acidez e da secreção gástrica, causado pela ligação do piloro, e de aumentar o pH gástrico. Tudo isso de forma semelhante ao que ocorreu nos grupos tratados com omeprazol. Este resultado indica que LsHE pode estar atuando, durante sua atividade gastroprotetora, também por um mecanismo de modulação da secreção gástrica. Isso corrobora com os resultados encontrados de que LsHE é

um bom agente gastroprotetor contra úlceras gástricas induzidas por indometacina. Não podemos afirmar o mecanismo exato desta regulação da secreção pois, como dito anteriormente, ela envolve as secreções de gastrina, histamina e acetilcolina e também a ativação da bomba de prótons. LsHE pode estar atuando tanto na redução da liberação desses fatores estimuladores da secreção, como também por um mecanismo de inibição direta da bomba de prótons.

Esse resultado é bem interessante pois no mostra que o mecanismo gastroprotetor de LsHE também envolve a diminuição da secreção de ácido gástrico, e não somente o aumento de fatores protetores da mucosa estomacal. Jabri *et al.* (2017) também estudaram um extrato composto principalmente pelos ácidos linoleico, oleico e palmítico, componentes presentes na composição do LsHE, e encontraram resultados semelhantes, com diminuição significativa da acidez e do volume gástrico e aumento do pH. Martins *et al.* (2022) também investigaram o potencial do ácido linoleico e mostraram um efeito modulador da secreção ácida. Dessa forma, podemos supor que estes componentes presentes em LsHE, podem estar agindo/ influenciando durante essa regulação da secreção que observamos.

Todos os resultados obtidos até o presente momento podem ser somados influenciando nos mecanismos de gastroproteção apresentados por LsHE. Os resultados obtidos indicando a participação do óxido nítrico e das prostaglandinas no mecanismo gastroprotetor de LsHE confirmam os resultados observados na avaliação do muco gástrico, onde o pré-tratamento com LsHE preveniu a depleção do muco induzida pelo etanol ou pela indometacina. Esses resultados também confirmam o observado no volume e na acidez gástrica, onde o pré-tratamento com LsHE reduziu ambos os parâmetros. Ao somarmos todos os resultados obtidos até agora, descobrimos que LsHE possivelmente atua estimulando a produção de óxido nítrico, de prostaglandinas e dessa forma estimula a secreção de muco gástrico e limita a secreção ácida, o que está diretamente relacionado ao seu efeito gastroprotetor.

Após comprovarmos o efeito gastroprotetor de LsHE no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol e por indometacina em camundongos e tentarmos entender melhor os possíveis mecanismos envolvidos, investigamos o seu potencial efeito cicatrizante em modelo de lesão gástrica induzida por ácido acético 80% em ratos, após sete dias de tratamento. Nem todas as substâncias que apresentam efeito gastroprotetor necessariamente também irão apresentar efeito cicatrizante gástrico em úlceras já instaladas (SILVA, 2019). O ácido ascórbico é um exemplo disso, ele previne lesões gástricas induzidas por etanol ou indometacina, mas não é capaz de promover a cicatrização de úlceras gástricas induzidas

por ácido acético (DA SILVA *et al.*, 2013; KOC; IMIK; ODABASOGLU, 2008; POTRICH *et al.*, 2010).

No modelo de lesões gástrica induzida por ácido acético, o ácido induz uma lesão ao causar dano vascular e necrose isquêmica, com conseqüente destruição da barreira protetora gástrica, liberação de citocinas pro-inflamatórias, formação de espécies reativas de oxigênio e apoptose celular (OKABE; AMAGASE, 2005). Uma lesão gástrica induzida por ácido acético pode envolver alterações em vários fatores, incluindo secreção de prostaglandinas, liberação de óxido nítrico, fatores de crescimento, conteúdo de citocinas, mudanças no padrão de adesão do muco e alterações na microcirculação (SILVA, 2019).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o tratamento dos ratos com LsHE durante 7 dias consecutivos reduziu significativamente tanto a área lesionada como o volume da lesão gástrica induzida pelo ácido acético. Desta forma, LsHE mostrou que deve possuir atividade regenerativa/ cicatrizante da mucosa gástrica, já que foi capaz de promover o fechamento da lesão. Neste protocolo, foram utilizadas doses mais elevadas do que durante os protocolos de proteção gástrica. As doses utilizadas foram de 25, 50 e 100 mg/kg, enquanto nos protocolos de gastroproteção as doses utilizadas foram em torno de 1,6 mg/kg. O processo de cicatrização é um processo bem mais complexo do que o de fortalecimento da mucosa gástrica para evitar os danos causados pela indometacina ou pelo etanol. A lesão por ácido acético também envolve as camadas mais profundas do estômago, o que dificulta ainda mais esse processo de cicatrização do tecido (DA LUZ *et al.*, 2021).

A cicatrização da úlcera gástrica pode demorar semanas ou até meses para o total reestabelecimento tecidual. Essa cicatrização envolve várias etapas e vários mecanismos celulares, como proliferação, migração, diferenciação, regeneração, angiogênese ativa e deposição da matriz extracelular. Todas estas etapas levam a formação de uma cicatriz. Esse processo de cicatrização é modulado por diversos fatores de crescimento, por óxido nítrico, por prostaglandinas, por citocinas, por diversos hormônios e por fatores de transcrição (KANGWAN *et al.*, 2014; TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012). Cabe ressaltar que a qualidade da restauração da estrutura da mucosa é uma condição determinante para garantir que não ocorra recidiva da úlcera no mesmo local (TARNAWSKI, 2005).

Os resultados obtidos novamente corroboram com o encontrado na literatura, onde *L. sericeus* é utilizada popularmente para tratar distúrbios estomacais no continente Africano (OYEDEJI *et al.*, 2015). Na dose de 25 mg/kg, LsHE promoveu uma taxa de cicatrização da lesão de quase 50% em relação a animais não tratados. O aumento da dose até 100 mg/kg

também mostrou ser capaz de aumentar a taxa de cicatrização da lesão para mais de 75% após os setes dias de tratamento. Esses resultados sugerem um alto potencial na cicatrização das lesões gástricas pré-existentes pois se assemelham aos resultados encontrados em grupos tratados com omeprazol, fármaco de primeira escolha no tratamento de doenças gástricas (ALONSO *et al.*, 2015).

O omeprazol foi capaz de promover uma taxa de cicatrização da lesão induzida por ácido acético de quase 80% após os sete dias de tratamento. O omeprazol está entre os dez medicamentos mais prescritos nos Estados Unidos, sendo utilizado tanto na prevenção como no tratamento de úlceras já existentes (AHMED; CLARKE, 2022). Fármacos com a função de inibição e regulação da secreção ácida gástrica, como é o caso do omeprazol, são de suma importância no tratamento das úlceras pois propiciam um ambiente adequado que facilita a cicatrização (YUAN; PADOL; HUNT, 2006).

Os resultados encontrados na redução da área e do volume da lesão gástrica em animais tratados com LsHE ou omeprazol foram confirmados pela análise histológica dos tecidos gástricos. Animais tratados apenas com veículo apresentaram tecido caracterizado por diversos danos como erosão e perda de trechos do epitélio, metaplasia intestinal, congestão vascular, vasos ectásicos, hemorragia e intensos exsudatos inflamatórios. Animais tratados com LsHE ou omeprazol apresentaram redução desses danos, no entanto, é importante ressaltar que essa diferença histológica não foi tão grande como ocorreu no modelo de úlcera induzida por etanol também apresentado neste trabalho. Isso reforça que a úlcera já estabelecida é bem mais difícil de ser tratada (DA LUZ *et al.*, 2021). Em todos os animais submetidos a indução de úlcera pelo ácido acético também foram evidentes alguns sinais de dano gástrico, indicando que o período de sete dias não foi suficiente para a total cicatrização do tecido em nenhum dos grupos.

A terapia farmacológica para o tratamento crônico de úlceras gástricas geralmente envolve drogas que aumentam a proteção da mucosa ou que diminuem fatores considerados agressivos, como o suco gástrico (TANG; CHAN, 2012). Resultados encontrados previamente neste estudo mostraram que LsHE foi capaz de reduzir a secreção ácida e diminuir a acidez estomacal em camundongos submetidos ao processo de ligação de piloro. Desta forma, podemos sugerir que os mecanismos de redução na acidez e secreção presentes em LsHE devem ter contribuído para propiciar um ambiente favorável a cicatrização, de forma semelhante ao que acontece durante o tratamento com inibidores da bomba de prótons como o omeprazol. Esse resultado é importante pois a ação de LsHE foi comprovada não apenas durante a

gastroproteção, mas também na cura sobre a lesão pré-existente, mostrando mais uma vez que se trata de alternativa promissora no que diz respeito ao tratamento de úlceras gástricas.

Apesar da provável segurança detectada *in sílico* para os componentes majoritários presentes em LsHE, e da segurança detectada pela ingestão aguda por camundongos de LsHE na dose de 2000 mg/kg previamente relatadas neste trabalho, o tratamento com doses repetidas do extrato ao longo de sete dias também foi investigado. Em geral, os camundongos têm uma maior atividade metabólica para eliminação de substâncias químicas no corpo do que os ratos. A diferença entre as espécies ocorre, pelo menos em parte, devido a uma diferença na distribuição das isoenzimas do citocromo P450 que estão envolvidas na metabolização das substâncias. Essa diferença torna os ratos mais sensíveis e pode ocasionar resultados diferentes nos testes de toxicidade de uma substância (OECD GUIDELINES, 2022).

Os estudos de toxicidade com exposições contínuas são utilizados para mimetizar a forma mais comum de exposição humana: as exposições repetidas ao longo dos dias. Esses estudos têm por objetivo obter informações sobre efeitos hematológicos, bioquímicos, anatomopatológicos e histopatológicos (CAMPOS; AMARAL, 2009). Diversos autores associam o estudo da cicatrização de lesões gástricas induzidas por ácido acético com um estudo de toxicidade por exposições repetidas, aumentando ainda mais os dados de segurança relativos à substância em teste durante o tratamento (DA LUZ *et al.*, 2019; FORMIGA *et al.*, 2021, VIANA, 2017).

Neste trabalho, a ingestão por via oral de LsHE por ratos durante sete dias nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, não foi capaz de ocasionar quaisquer efeitos tóxicos indesejados. Nenhuma morte foi registrada e não ocorreu nenhuma alteração que pudesse indicar toxicidade. Também não ocorreram diferenças significativas na curva de evolução do peso corpóreo dos animais, na ingestão de água ou no consumo alimentar. Alguns estudos mostram que alterações nesses parâmetros podem indicar sinais iniciais de toxicidade do produto testado, uma vez que a ingestão hídrica, alimentar e o consequente ganho de peso podem estar relacionados a desconfortos gastrointestinais causados pela ingestão oral de substâncias (MORAES *et al.*, 2013; WOLFF CORDEIRO *et al.*, 2012).

O tratamento com LsHE nas doses pesquisadas também não ocasionou alterações significativas na análise macroscópica ou no peso relativo dos órgãos. Essa análise do peso relativo é considerada um importante indicador para avaliação do possível potencial de toxicidade de uma substância ou produto químico (DA SILVA *et al.*, 2013; HILALY; ISRAILI; LYOUSSEI, 2004).

Durante a avaliação de toxicidade também foram analisados parâmetros bioquímicos presentes no soro dos animais. Foram analisados os níveis de glicose, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatinina, ureia, colesterol total e triglicérides. Os níveis de glicose no sangue são um parâmetro muito importante que deve ser mantido em homeostase. Níveis excepcionalmente altos ou baixos podem potencialmente levar a condições agudas e/ou crônicas com risco de vida (GÜEMES; RAHMAN; HUSSAIN, 2015). Como vimos durante a análise *in silico*, um dos alvos moleculares dos ácidos palmítico e beénico, componentes de LsHE, é o receptor acoplado à proteína G ativado por ácidos graxos FFAR1. A ligação a este receptor aumenta a secreção de insulina e isso poderia causar alterações nos níveis sanguíneos de glicose dos animais. No entanto, a administração oral durante sete dias de LsHE até a dose de 100 mg/kg não causou alterações neste parâmetro.

As aminotransferases (AST e ALT) também são importantes marcadores, neste caso de lesão hepatocelular, onde a presença do dano ao fígado geralmente desencadeia a liberação dessas enzimas na circulação. Um aumento expressivo nos níveis séricos dessas enzimas está associado a diversas doenças hepáticas como cirrose e hepatite (LALA; ZUBAIR; MINTER, 2022). Já a ureia e a creatinina são os parâmetros mais amplamente aceitos para avaliar a função renal, sendo bons indicadores de um funcionamento normal dos rins. Quando os níveis séricos destes marcadores estão elevados, significa problemas na taxa de filtração glomerular. Se a filtração renal não está conseguindo remover esses componentes da circulação, indica danos no órgão (PANDYA, 2016; SALAZAR, 2014).

A administração oral durante sete dias de LsHE até a dose de 100 mg/kg não causou alterações significativas nos níveis séricos de ALT, AST, creatinina ou ureia se compararmos aos animais do grupo controle que não receberam o extrato. Como não houve efeito nos níveis de aminotransferases, de creatinina ou de ureia, que são importantes indicadores das funções hepáticas e renais, respectivamente, é razoável deduzir que LsHE não induziu qualquer dano ao fígado ou aos rins. Essa conclusão também pode ser associada ao fato de não terem sido observadas alterações anátomo-morfológicas ou alterações nos pesos relativos de nenhum dos órgãos avaliados.

Pelo fato de LsHE ser composto por ácidos graxos, principalmente ácido oleico, ácido palmítico e ácido beénico, também foram avaliados os níveis de colesterol total e de triglicérides nos animais. O colesterol é uma molécula importante para os seres humanos, mas tanto seu excesso quanto sua deficiência podem ocasionar doenças (SCHADE; SHEY; EATON, 2020). Os níveis de triglicérides também são um importante biomarcador para

doenças cardiovasculares e para pancreatite (LAUFS *et al.*, 2020). No entanto, a ingestão de LsHE durante sete dias até a dose de 100 mg/kg não foi suficiente para causar nenhum tipo de alteração nos níveis séricos de colesterol total ou de triglicerídeos em relação aos animais do grupo controle que não receberam o extrato.

Como discutimos anteriormente neste trabalho, a aplicação de ácido acético na mucosa gástrica induz o aparecimento da lesão, em parte, devido ao aumento do estresse oxidativo na região. Ocorre um grave aumento da concentração de espécies reativas do oxigênio (EROs) e isso estimula a peroxidação lipídica das membranas celulares, causando a destruição dos tecidos. A alta exposição as EROS também impede o organismo de reparar os danos na região. Por isso o aumento excessivo de radicais livres favorece o aparecimento de lesões crônicas, já que as úlceras formadas não conseguem se curar adequadamente (BARKA *et al.*, 2017; MEI *et al.*, 2013).

Úlceras agudas são menos complexas se compararmos a lesão induzida por ácido acético e isso também vale para os mecanismos de defesa relacionados (SILVA, 2019). Como vimos anteriormente, enzimas como SOD, CAT e GPx atuam na proteção da mucosa gástrica contra danos oxidativos. No entanto, uma vez que os danos já estão presentes e o estresse oxidativo já está evidente, essas enzimas também são úteis para restabelecer níveis normais de EROs, facilitando a cicatrização do tecido (ATALAY *et al.*, 2016). Dessa maneira, compostos com características antioxidantes são úteis tanto na proteção da mucosa gástrica como também por auxiliarem nos mecanismos de cicatrização dos tecidos, já que ajudam a neutralizar o dano oxidativo existente na região (KARAKOYUN *et al.*, 2009; MEI *et al.*, 2013).

Na ocorrência da úlcera, os lipídios oxidados pelos efeitos deletérios das EROS promovem disfunção celular e tecidual elevando os níveis de MDA (NEGRE-SALVAYRE *et al.*, 2010). Neste trabalho, ratos submetidos a indução de lesão gástrica através do ácido acético tiveram os níveis de MDA mais que duplicados em relação aos animais que não foram submetidos a lesão gástrica. Esses altos níveis de MDA podem ser associados a altos níveis de estresse oxidativo no tecido (BEN ALI *et al.*, 2015). O tratamento com LsHE reduziu o dano a mucosa gástrica e isso também foi acompanhado por uma redução nos níveis de MDA, mostrando que ocorreu diminuição do estresse oxidativo causado durante o processo ulcerôgenico e que isso certamente está relacionado a um melhor e mais rápido processo de cicatrização da mucosa.

A lesão gástrica induzida por ácido acético também aumentou os níveis da enzima SOD em relação aos animais que não foram submetidos a lesão gástrica. Esse resultado foi diferente

do apresentado durante os modelos de lesões gástricas induzidas por etanol ou por indometacina neste trabalho. Nos modelos de indução de lesão por etanol ou por indometacina, animais que não receberam o pré-tratamento com LsHE apresentaram níveis de SOD reduzidos. Os grupos que receberam o pré-tratamento, tiveram os níveis de SOD aumentados para valores semelhantes aos apresentados por animais controle, que não foram submetidos a lesão. Durante o modelo de indução de lesão por ácido acético isso se inverteu. Animais tratados com LsHE apresentaram redução nos níveis de SOD, no entanto, também se aproximando de valores encontrados nos animais do grupo controle, que não foram submetidos a lesão pelo ácido.

A enzima SOD está envolvida na primeira etapa de redução do dano oxidativo, já que converte o radical superóxido em peróxido de hidrogênio. Quando os níveis de SOD estão reduzidos normalmente se observa danos teciduais, já que ocorre uma diminuição de sua capacidade de eliminação destes radicais (QIU *et al.*, 2020). No entanto, no modelo crônico de lesão induzida por ácido acético apresentado neste trabalho, a atividade de SOD aumentou em animais não tratados que apresentavam alto nível de estresse oxidativo. Outros autores como Da Silva *et al.* (2019) e Da Luz *et al.* (2021) também encontraram resultados semelhantes durante a avaliação de enzimas do estresse oxidativo em modelo de lesão gástrica induzida por ácido acético.

Esse aumento na atividade de SOD após a exposição da mucosa gástrica ao ácido acético, pode refletir uma exigência do tecido em aumentar a atividade das enzimas antioxidantes como uma tentativa de combater a geração de EROS, principalmente do ânion superóxido (DA SILVA *et al.*, 2019). Então esse aumento da atividade de SOD na mucosa gástrica ulcerada de forma crônica é um recurso do próprio organismo, mas considerando o efeito antioxidante de LsHE, os níveis de estresse oxidativo foram reduzidos e a atividade da SOD pode ser normalizada ao longo dos dias em animais tratados. Esses resultados nos levam a sugerir que alguns mecanismos envolvidos no efeito ulcerogênico observado nos modelos agudos parecem diferir daqueles envolvidos no modelo crônico induzido pelo ácido acético.

Na lesão gástrica induzida por ácido acético, além dos aumentos nos níveis de MDA e na atividade de SOD também podemos observar uma redução na atividade de CAT e uma redução dos níveis de GSH em animais não tratados. A redução de CAT e de GSH no estômago ulcerado pode ser explicada, em parte, devido à excessiva atividade enzimática para remover os radicais livres ao longo dos dias, que nesse caso não foi compensada pelo próprio organismo da mesma forma que em SOD. É comum que o processo inflamatório ocasione à depleção das enzimas antioxidantes durante o modelo de úlcera crônica, o que de fato ocorreu (DA LUZ *et*

al., 2019; FORMIGA *et al.*, 2021). Nos grupos tratados com LsHE também ocorreu um aumento na atividade de CAT e nos níveis de GSH, restabelecendo níveis semelhantes ao encontrados em animais que não foram submetidos a lesão gástrica pelo ácido. Isso nos mostra mais uma vez, o potencial antioxidante deste extrato que além da eliminação de radicais livres, neste modelo, pode ser associado a um processo de cicatrização mais eficiente da mucosa.

Dando continuidade aos experimentos, verificamos se o efeito cicatrizante de LsHE estaria relacionado com alguma alteração no processo inflamatório gástrico causado pela exposição ao ácido acético. Na evolução deste modelo de úlcera experimental, a resposta inflamatória é de grande importância e promove várias alterações e mudanças associadas a presença de um infiltrado inflamatório celular. A presença da lesão ocasiona a ativação e a migração neutrófilos para a região e estes promovem a liberação de EROS, resultando em um aumento do dano tecidual. O processo inflamatório é uma das principais fontes de EROS no tecido lesionado pelo ácido (HUSSAIN *et al.*, 2016; OKABE; AMAGASE, 2005).

Na fase inflamatória da lesão gástrica a migração de neutrófilos, além de promover a liberação de EROs, também promove a liberação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e as interleucinas-1 (IL-1 α e IL-1 β) (TARNAWSKI; AHILUWALIA, 2021). Estas citocinas liberadas vão regular a resposta imune/ inflamatória do tecido. Estas moléculas são essenciais para o processo de cicatrização, ao induzir a proliferação e migração celular em conjunto com a liberação de fatores de crescimento, mas podem causar um aumento da destruição tecidual, ao superativar células imunes e induzir a produção de proteases (JIANG *et al.* 2014). A inflamação do tecido também vai causar um aumento nos níveis de COX-2, um aumento da produção de prostaglandinas e um aumento no fluxo sanguíneo e esses fatores também vão modular o rumo do processo de cicatrização da mucosa gástrica (TARNAWSKI; AHILUWALIA, 2012).

Levando em consideração que a MPO é uma enzima produzida principalmente por neutrófilos, a atividade desta enzima é considerada um importante índice de infiltração neutrofílica e conseqüentemente do andamento do processo inflamatório nos tecidos (DA SILVA *et al.*, 2013). Como esperado, no presente estudo, a lesão gástrica induzida por ácido acético promoveu um grande aumento na atividade de MPO, mas nos animais tratados com LsHE ocorreu uma diminuição desta atividade. A potencial atividade antiinflamatória presente em LsHE também pode ser vista durante a análise histológica do tecido gástrico. Animais tratados com LsHE nas doses de 50 e 100 mg/kg apresentaram uma menor presença de infiltrado inflamatório na submucosa se comparados a animais que receberam apenas veículo.

Os resultados obtidos indicam que LsHE, além de diminuir o estresse oxidativo no tecido, também pode estar atuando de forma a reduzir o processo inflamatório na mucosa gástrica. Todos os resultados que encontramos até agora podem ser somados em torno desse efeito. LsHE também atua modulando a secreção ácida, a produção de prostaglandinas e a liberação de óxido nítrico e todos esses efeitos devem estar ligados a diminuição do estresse oxidativo, a diminuição do processo inflamatório e o consequente ambiente ideal para o reparo tecidual, facilitando a cicatrização da mucosa.

A presença de atividade anti-inflamatória relacionada a componentes de *L. sericeus* já foi relatada popularmente e por alguns outros autores na literatura. Comunidades africanas utilizam uma decocção/ infusão das folhas da planta na medicina popular como remédio para dor e inflamação (EMMANUEL; ONYEKACHI; UCHENNA, 2020). Fontenele *et al.* (2009) estudaram uma fração hexânica das raízes de *L. sericeus* e mostraram a inibição do edema de pata induzido por carragenina e por levedura de cerveja. Os autores atribuíram o efeito anti-inflamatório nestes modelos a uma modulação na liberação de prostaglandinas e a uma redução na infiltração de células neutrofílicas promovidas pela fração.

Emmanuel; Onyekachi; Uchenna (2020) também estudaram extratos de *L. sericeus*, desta vez da casca. Os autores encontraram a presença de atividade anti-inflamatória em modelos de edema de pata induzido por albumina e de edema de orelha induzido por xileno. No estudo, eles associaram a atividade anti-inflamatória tópica a natureza lipofílica das frações estudadas. A observação dos autores é interessante pois LsHE também é composto por constituintes lipofílicos e segundo os resultados *in silico* apresentados neste trabalho apresenta alta capacidade de penetração epitelial. Ao associarmos estes resultados, é provável que LsHE também possa estar atuando como bom agente anti-inflamatório de uso tópico, sendo mais estudos necessários para avaliarmos a presença dessa atividade.

Mota (2008) estudou lectinas extraídas das sementes de *L. sericeus* e também encontrou uma atividade anti-inflamatória associada à inibição da migração de neutrófilos, induzida por carragenina ou ovalbumina. O autor associou essa inibição a uma redução do rolamento e da adesão de neutrófilos, a uma redução da síntese e/ou liberação de citocinas pro-inflamatórias (IL-1 e TNF- α) e de quimiocinas (CCL3 e CXCL1). Além disso, ele também observou um aumento sistêmico nos níveis de óxido nítrico no sangue dos animais tratados e relacionou isso com a redução da expressão das moléculas de adesão e com a consequente redução da migração de leucócitos para o sítio da inflamação.

O ácido oleico, componente principal presente em LsHE, também apresenta atividade anti-inflamatória descrita em alguns relatos na literatura, ressaltando ainda mais esse potencial de LsHE. Segundo Carrilo; Cavia; Alonso (2012), dietas ricas em ácido oleico têm potenciais efeitos benéficos sobre doenças inflamatórias. Os autores avaliaram uma ampla gama de estudos que avaliam o efeito do ácido oleico em diferentes funções celulares e relataram um mecanismo potencial para o efeito biológico na ativação de diferentes vias de imunocompetência das células. Esses resultados corroboram com os resultados *in silico* apresentados neste trabalho, que também mostraram que um dos alvos moleculares para o ácido oleico são os receptores nucleares PPARs cuja ativação justamente influencia na regulação do sistema imunológico e na resposta inflamatória (CHRISTOFIDES *et al.*, 2021).

Pegoraro *et al.* (2019) e Pegoraro *et al.* (2020) estudaram o potencial de preparações semissólidas a base de ácido oleico e encontraram bom desempenho anti-inflamatório *in vivo* em modelos de inflamação induzida por radiação UVB e por óleo de cróton em camundongos. As preparações demonstraram eficácia anti-inflamatória semelhante à dexametasona para tratar as condições inflamatórias da pele, reduzindo a infiltração de células inflamatórias (MPO), reduzindo os níveis de IL-1 β e atuando via receptores de glicocorticoides. Além disso, não foram observados efeitos adversos durante a análise de indicadores de alterações hepáticas, pancreáticas ou renais.

Santamarina *et al.* (2021) também estudaram o potencial anti-inflamatório do ácido oleico e encontraram elevada resposta anti-inflamatória, principalmente quando em associação com queracianina. Foi observada a redução de mRNA para I κ K α , I κ B α , NF κ B1, MCP-1, TNF- α , IL-6 e IL-1 β , além de um aumento no mRNA de IL-10. Zhang *et al.* (2022) também estudaram o potencial do ácido oleico e encontram a presença de atividade anti-inflamatória em modelo de lesão renal induzida por LPS em camundongos. O ácido oleico inibiu a geração de fatores inflamatórios, reduzindo as expressões de iNOS, COX-2, p-p65/p65, TNF- α , IL-6 e IFN- γ , além de aumentar os níveis de IL-10.

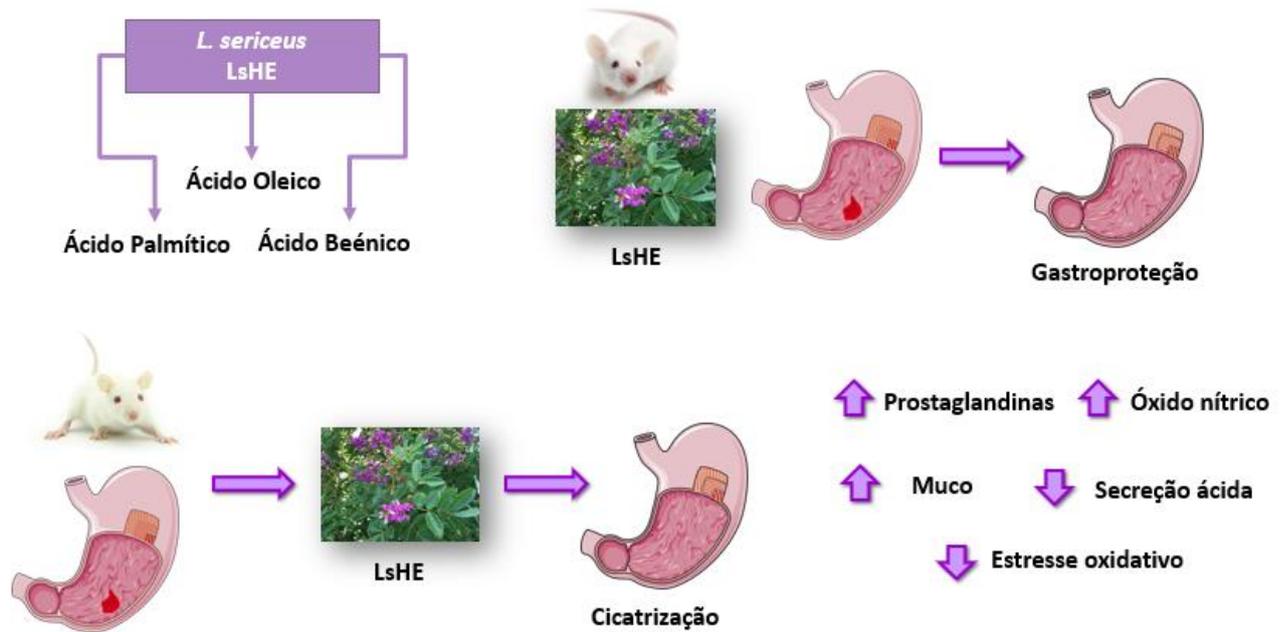
Apesar das evidências de efeito anti-inflamatório durante o processo de cicatrização da lesão gástrica induzida por ácido acético e do potencial relatado na literatura tanto para *L. sericeus* como para o ácido oleico, mais estudos são necessários para avaliarmos a presença desta atividade em LsHE. Uma das fragilidades existentes no trabalho foi não termos aprofundado os estudos relacionados aos mecanismos anti-inflamatórios, como não termos realizado a análise da presença de citocinas no sítio da lesão. No entanto, temos perspectivas de aprofundar esse estudo visto o elevado potencial encontrado em LsHE mesmo em

concentrações tão reduzidas para um extrato. LsHE se apresentou muito promissor durante a proteção e a cicatrização gástrica corroborando com o uso popular desta planta e esperamos que os resultados obtidos com esse trabalho possam incentivar ainda mais a busca de seu potencial. Quem sabe gerando uma abordagem alternativa para o futuro tratamento de distúrbios gástricos pela população.

9 CONCLUSÕES

Este estudo caracterizou um extrato hexânico de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE) e mostrou que ele é composto principalmente pelos ácidos oleico, palmítico e beénico. LsHE não apresentou indícios de toxicidade aguda, por doses repetidas ou durante a avaliação *in sílico* de seus componentes. LsHE mostrou atividade gastroprotetora contra lesões gástricas induzidas por etanol e por indometacina em camundongos e atividade cicatrizante contra lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos. A avaliação *in sílico* mostrou que os componentes de LsHE apresentam características favoráveis a absorção gastrointestinal, biodisponibilidade e fácil metabolização que possivelmente estão associadas aos efeitos apresentados. LsHE foi capaz de impedir a depleção de muco gástrico, diminuir o estresse oxidativo (MDA) e a inflamação nos tecidos (MPO), normalizar os níveis de componentes e enzimas antioxidantes (GSH, SOD e CAT), estimular a produção de prostaglandinas e a liberação de óxido nítrico, modular a secreção ácida e todos esses mecanismos foram associados ao seu efeito gastroprotetor e/ou cicatrizante. A espécie *L. sericeus* já é utilizada popularmente para tratar distúrbios estomacais no continente Africano e os resultados obtidos neste trabalho ressaltam ainda mais seu potencial na busca por tratamentos alternativos eficazes, seguros e economicamente mais viáveis para a população.

Figura 19: Esquema representativo e resumido das propriedades do extrato de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsHE).



FONTE: Elaborado pelo autor.

REFERÊNCIAS

- ABDULFATAI, U.; UZAIRU, A.; UBA, S. Quantitative structure-activity relationship and molecular docking studies of a series of quinazolinonyl analogues as inhibitors of gamma amino butyric acid aminotransferase. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 1, p. 33–43, jan. 2017.
- ABDULLAHI, S. M. *et al.* Anticonvulsant screening of chloroform soluble fraction of methanolic stem bark extract of *Lonchocarpus sericeus*, Poir (Papilionaceae). **Biological and Environmental Sciences Journal for the Tropics**, v. 9, n. 4, p. 8–12, 13 jul. 2021.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream, Illinois. v. 456. 2007.
- ADEWUYI, A. *et al.* Chemical composition and molecular speciation of the triacylglycerol of the oils of *Lonchocarpus sericeus* and *Lonchocarpus cyanescens*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 20, p. 1954–1956, out. 2012.
- ADINORTEY, M. B. *et al.* *In vivo* models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents. **Ulcers**, v. 2013, p. 1–12, 25 jun. 2013.
- AGAR, E. *et al.* The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat. **NeuroReport**, v. 10, n. 8, p. 1799–1800, jun. 1999.
- AGBONON, A.; GBEASSOR, M. Hepatoprotective Effect of *Lonchocarpus sericeus* Leaves in CCl₄ - Induced Liver Damage. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 15, n. 2, p. 216–226, 29 mai. 2009.
- AHMED, A.; CLARKE, J. O. **Proton Pump Inhibitors (PPI)**. Treasure Island : StatPearls Publishing LLC., 2022.
- ALASMARY, F. A. *et al.* Evaluation of the chemical constituents and potential biological activities of *Cunninghamella blakesleeana*. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 10, p. 1197–1202, out. 2020.
- ALBUQUERQUE, M. R. J. R. *et al.* **Chalcones isolated of Lonchocarpus sericeus root bark**, 2010. 33 Annual meeting of the Brazilian Chemical Society Chemistry making a better future. Disponível em: <https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:42052548>. Acesso em: 21 nov. 2022.
- ALENCAR, N. M. N. *et al.* Anti-inflammatory and antimicrobial effect of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds in an experimental rat model of infectious peritonitis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 7, p. 919–922, 18 fev. 2005.
- ALENCAR, N. M. N. *et al.* Leguminous lectins as tools for studying the role of sugar residues in leukocyte recruitment. **Mediators of Inflammation**, v. 8, n. 2, p. 107–113, 1999.

ALEXANDER, S. P. H. Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH). *xPharm: The Comprehensive, Pharmacology Reference*, p. 1–7, 2009.

ALMAZROO, O. A.; MIAH, M. K.; VENKATARAMANAN, R. Drug metabolism in the liver. *Clinics in Liver Disease*, v. 21, n. 1, p. 1–20, fev. 2017.

ALMEIDA, A. B. A. *et al.* Anti-ulcerogenic mechanisms of the sesquiterpene lactone onopordopicrin-enriched fraction from *Arctium lappa* L. (Asteraceae): role of somatostatin, gastrin, and endogenous sulfhydryls and nitric oxide. *Journal of Medicinal Food*, v. 15, n. 4, p. 378–383, abr. 2012.

ALONSO, N. *et al.* Physiological implications of biased signaling at histamine H2 receptors. *Frontiers in Pharmacology*, v. 6, 10 mar. 2015.

ALSARAF, S. *et al.* Chemical composition, *in vitro* antibacterial and antioxidant potential of Omani Thyme essential oil along with *in silico* studies of its major constituent. *Journal of King Saud University - Science*, v. 32, n. 1, p. 1021–1028, jan. 2020.

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, n. 1, p. 5–15, jan. 2015.

AMERICAN COLLEGE OF PHYSICIANS. **MKSAP 17 : medical knowledge self-assessment program**. 17. ed. Philadelphia: American College of Physicians, 2015.

AMIRSHAHROKHI, K.; KHALILI, A. R. The effect of thalidomide on ethanol-induced gastric mucosal damage in mice: Involvement of inflammatory cytokines and nitric oxide. *Chemico-Biological Interactions*, v. 225, p. 63–69, jan. 2015.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução-RE nº 3.259, de 26 de agosto de 2020. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/legis > Acessado em: 31 de janeiro 2022.

ARARUNA, M. E. *et al.* Tablet of *Spondias mombin* L. Developed from Nebulized Extract Prevents Gastric Ulcers in Mice via Cytoprotective and Antisecretory Effects. *Molecules*, v. 26, n. 6, 2021.

ARATANI, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 640, p. 47–52, fev. 2018.

ARECHE, C. *et al.* Gastroprotective activity of ferruginol in mice and rats: effects on gastric secretion, endogenous prostaglandins and non-protein sulfhydryls. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 60, n. 2, p. 245–251, feb. 2008.

ARECHE, C. *et al.* *Corryocactus brevistylus* (K. Schum. ex Vaupel) Britton & Rose (Cactaceae): Antioxidant, Gastroprotective Effects, and Metabolomic Profiling by Ultrahigh-Pressure Liquid Chromatography and Electrospray High Resolution Orbitrap Tandem Mass Spectrometry. *Frontiers Farmacology*, v. 417, n. 11, 8 abr. 2020.

ARIN, R. M. *et al.* Adenosine: Direct and indirect actions on gastric acid secretion. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 22 set. 2017.

ARUNACHALAM, K. *et al.* Chemical characterization, toxicology and mechanism of gastric antiulcer action of essential oil from *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms in the *in vitro* and *in vivo* experimental models. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 292–306, out. 2017.

ATALAY, F. *et al.* N -acetyl cysteine has both gastro-protective and anti-inflammatory effects in experimental rat models: its gastro-protective effect is related to its *in vivo* and *in vitro* antioxidant properties. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 117, n. 2, p. 308–319, fev. 2016.

ATCHISON, J. W.; HERNDON, C. M.; RUSIE, E. NSAIDs for musculoskeletal pain management: current perspectives and novel strategies to improve safety. **Journal of managed care pharmacy : JMCP**, v. 19, n. 9 Suppl A, p. S3-19, 2013.

AZEEZ, L. *et al.* Influence of microbial contamination on the antioxidant composition and free radical scavenging effects of fresh and decaying spices. **Fountain Journal of Natural and Applied Sciences**, v. 1, n. 1, 2012.

AZIZ, R. S. *et al.* Oxyresveratrol ameliorates ethanol-induced gastric ulcer via downregulation of IL-6, TNF- α , NF- κ B, and COX-2 levels, and upregulation of TFF-2 levels. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 110, p. 554–560, fev. 2019.

BAI, J. P. F.; ABERNETHY, D. R. Systems pharmacology to predict drug toxicity: integration across levels of biological organization. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 53, n. 1, p. 451–473, 6 jan. 2013.

BANCHROFT, J. D.; STEVENS, A.; TURNER, D. R. **Theory and Practice of Histological Techniques**, Fourth ed. Churchill Livingstone, New York/London/San Francisco/Tokyo. 1996.

BANERJEE, P. *et al.* ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. W1, p. W257–W263, 2 jul. 2018.

BARBOSA, D. C. DA S. *et al.* Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, *in silico*, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, set. 2020.

BARCHI, A. *et al.* A non-invasive method for the diagnosis of upper GI diseases. **Acta bio-medica: Atenei Parmensis**, v. 89, n. 8- S, p. 40–43, 17 dez. 2018.

BARKA, Z. BEN *et al.* Protective effects of edible *Rhus tripartita* (Ucria) stem extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 260–269, mar. 2017.

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, n. 1, p. 133–40, mar. 1952.

BEIRANVAND, M. A review of the most common in vivo models of stomach ulcers and natural and synthetic anti-ulcer compounds: A comparative systematic study. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 2, p. 100264, maio 2022.

BEIRANVAND, M.; BAHRAMIKIA, S. Ameliorating and protective effects mesalazine on ethanol-induced gastric ulcers in experimental rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 888, p. 173573, dez. 2020.

BEN ALI, M. J. *et al.* Investigation of antiulcer and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* L. (1753) Essential oil in an experimental rat model. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 11, p. 1738–1746, 2015.

BENTO, E. B. *et al.* Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Annona muricata* Linnaeus in mice. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 4, p. 609–621, maio 2018.

BENVENUTTI, R. C. *et al.* Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract of the leaves of *Urera baccifera* in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 250, p. 112473, mar. 2020.

BHALA, N. *et al.* Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials. **Lancet (London, England)**, v. 382, n. 9894, p. 769–79, 31 ago. 2013.

BHATTACHARYYA, A. *et al.* Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological Reviews**, v. 94, n. 2, p. 329–354, abr. 2014.

BI, W. P.; MAN, H. B.; MAN, M. Q. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 45, p. 17020, 2014.

BITZIOU, E.; PATEL, B. A. Simultaneous detection of gastric acid and histamine release to unravel the regulation of acid secretion from the guinea pig stomach. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 303, n. 3, p. G396–G403, 1 ago. 2012.

BOCKUS, L. B. *et al.* Assessment of plasma phospholipid very-long-chain saturated fatty acid levels and healthy aging. **JAMA Network Open**, v. 4, n. 8, p. e2120616, 12 ago. 2021.

BOLTIN, D.; NIV, Y. Pharmacological and alimentary alteration of the gastric barrier. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 6, p. 981–994, dez. 2014.

BONAMIN, F. *et al.* Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, n. 1, p. 47–52, out. 2011.

BOOVEN, V. D. *et al.* Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. **Pharmacogenet Genomics**. v. 20, n. 4, p. 277-281, 2010.

- BOUWKNEGT, M. *et al.* Potential association between the recent increase in campylobacteriosis incidence in the Netherlands and proton-pump inhibitor use – an ecological study. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 32, 14 ago. 2014.
- BRADLEY, P. P. *et al.* Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206–209, mar. 1982.
- BROWNING, K. N.; TRAVAGLI, R. A. Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. Em: **Comprehensive Physiology**. Wiley, 2014. p. 1339–1368.
- BRUNE; PATRIGNANI, P. New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Journal of Pain Research**, p. 105, fev. 2015.
- CAMPOS, S. V.; AMARAL, L. M. S. **Toxicidade sobreaguda e subcrônica: Bases científicas para avaliação da toxicidade de agrotóxicos**. São Paulo: Internacional Life Science Institute do Brasil, 2009.
- CARRILLO, C.; CAVIA, M. M.; ALONSO, T. S. Role of oleic acid in immune system; mechanism of action; a review. **Nutricion Hospitalaria**. v. 27, n. 4, p. 978-990, 2012.
- CARLI, D. M. DE *et al.* Peptic ulcer frequency differences related to *h. pylori* or aines. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 52, n. 1, p. 46–49, mar. 2015.
- CARLINI, E. A. *et al.* Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 140–146, 2010.
- CARTA, G. *et al.* Palmitic acid: physiological role, metabolism and nutritional implications. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 8 nov. 2017.
- CARVALHO, A. F. U. *et al.* Preliminary assessment of the nutritional composition of underexploited wild legumes from semi-arid Caatinga and moist forest environments of northeastern Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 4–5, p. 487–493, jun. 2011.
- CASTELLSAGUE, J. *et al.* Individual NSAIDs and upper gastrointestinal complications. **Drug Safety**, v. 35, n. 12, p. 1127–1146, 13 dez. 2012.
- CATERINA, M. J. An introduction to transient receptor potential ion channels and their roles in disease. Em: **TRP Channels as Therapeutic Targets**. Elsevier, 2015. p. 1–12.
- CAVALCANTE, G. M. *et al.* Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 227–234, 2011.
- CERQUEIRA, G. S. S. *et al.* Effects of hecogenin and its possible mechanism of action on experimental models of gastric ulcer in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 683, n. 1–3, p. 260-269, 2012.

CHEUNG, K. S. *et al.* Long-term proton pump inhibitors and risk of gastric cancer development after treatment for *Helicobacter pylori*: a population-based study. **Gut**, v. 67, n. 1, p. 28-35, 2018.

CHRISTOFIDES, A. *et al.* The role of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in immune responses. **Metabolism**. v. 114, 2021.

CHOUDHARY, M. K.; BODAKHE, S. H.; GUPTA, S. K. Assessment of the Antiulcer Potential of Moringa oleifera Root-Bark Extract in Rats. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, v. 6, n. 4, p. 214–220, ago. 2013.

CONTRERAS-ZENTELLA, M. L. *et al.* Gastric Mucosal Injury and Oxidative Stress. Em: **Gastrointestinal Tissue**. Elsevier, 2017. p. 65–79.

CORNE, S. J.; MORRISSEY, S. M.; WOODS, R. J. Proceedings: A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **The Journal of physiology**, v. 242, n. 2, p. 116P-117P, out. 1974.

CUNHA, A. G. *et al.* Chemical composition of thermally processed coconut water evaluated by GC–MS, UPLC–HRMS, and NMR. **Food Chemistry**, v. 324, p. 126874, set. 2020.

CUNHA, G. M. DE A. *et al.* Cytotoxic Activity of Chalcones Isolated from *Lonchocarpus Sericeus* (Pocr.) Kunth. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 2, p. 155–159, fev. 2003.

CZINN, S. J.; BLANCHARD, S. S. **Developmental anatomy and physiology of the stomach**. 4. ed. Saunders, 2011.

DA LUZ, B. B. *et al.* Chemical composition, antioxidant and gastrointestinal properties of *Sedum dendroideum* Moc & Sessé ex DC leaves tea infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 141–151, mar. 2019.

DA LUZ, B. B. *et al.* Effectiveness of the polyphenols-rich *Sedum dendroideum* infusion on gastric ulcer healing in rats: Roles of protective endogenous factors and antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **Journal Ethnopharmacology**, v. 278, may. 2021.

DA SILVA, L. M. *et al.* Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 179–187, jan. 2013.

DA SILVA, L. M. *et al.* Hesperidin, a citrus flavanone glycoside, accelerates the gastric healing process of acetic acid-induced ulcer in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 308, p. 45–50, ago. 2019.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep**, v. 7, 2017.

DE MELLO, M. F. V.; PISSINATTI, A.; FERREIRA, A. M. R. Distribution of collagen types I, III, and IV in gastric tissue of marmosets (*Callithrix* spp. Callitrichidae: Primates). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 4, p. 317-320, 2010.

DEJBAN, P. *et al.* Involvement of nitric oxide pathway in the anti-inflammatory effect of modafinil on indomethacin-, stress-, and ethanol -induced gastric mucosal injury in rat. **European Journal Pharmacology**, v. 887, 2020.

DEMIRBILEK, S. *et al.* Protective effect of polyunsaturated phosphatidylcholine pretreatment on stress ulcer formation in rats. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 39, n. 1, p. 57–62, 2004.

DI, L. The role of drug metabolizing enzymes in clearance. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 10, n. 3, p. 379–393, 7 mar. 2014.

DIACONU, S. *et al.* *Helicobacter pylori* infection: old and new. **Journal of medicine and life**, v. 10, n. 2, p. 112–117, 2017.

DJOUMBOU-FEUNANG, Y. *et al.* BioTransformer: a comprehensive computational tool for small molecule metabolism prediction and metabolite identification. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 2, 5 dez. 2019.

DOERN, C. D.; CAREY-ANN, B. D. It's not easy being green: the viridans group streptococci, with a focus on pediatric clinical manifestations. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 11, p. 3829–3835, nov. 2010.

DRWAL, M. N. *et al.* ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. **Nucleic Acids Res.** v. 42, 2014.

ECKL, P. M.; BRESGEN, N. Genotoxicity of lipid oxidation compounds. **Free Radical Biology & Medicine**, 2017.

EL-SERAG, H. B. *et al.* Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. **Gut**, v. 63, n. 6, p. 871–880, jun. 2014.

EMMANUEL, U.; ONYEKACHI, J.; UCHENNA, O. Phytochemical, anti-inflammatory and analgesic properties of stembark extract and fractions of *Lonchocarpus sericeus* Poir. (Papilionaceae) in albino mice. **Avicenna journal of phytomedicine**, v. 10, n. 6, p. 584–593, 2020.

EUSEBI, L. H.; ZAGARI, R. M.; BAZZOLI, F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. **Helicobacter**, v. 19, p. 1–5, set. 2014.

FALUS, A.; POS, Z.; DARVAS, Z. Histamine in Normal and Malignant Cell Proliferation. In: Thurmond, R.L. (eds) Histamine in Inflammation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 709, 2010.

FAZALDA, A.; QURAISSIAH, A.; AZLINA M. F. N. Antiulcer effect of honey in nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced gastric ulcer model in rats: a systematic review. **Evid Based Complementary Altern Med**, p. 1–12, 2018.

- FERNANDES, H. B. *et al.* Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biological research**, v. 43, n. 4, p. 451–7, 2010.
- FILIMONOV, D. A. *et al.* Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 50, n. 3, p. 444–457, 28 jun. 2014.
- FONTENELE, J. B. *et al.* Antiplatelet Effect of lonchocarpin and derricin isolated from *Lonchocarpus sericeus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 8, p. 726–731, 7 jan. 2005.
- FONTENELE, J. B. *et al.* Studies on the anti-edematogenic properties of a fraction rich in lonchocarpin and derricin isolated from *Lonchocarpus sericeus*. **Natural Product Research**, v. 23, n. 18, p. 1677–1688, 15 dez. 2009.
- FORMIGA, R. O. *et al.* Effect of p-cymene and rosmarinic acid on gastric ulcer healing – Involvement of multiple endogenous curative mechanisms. **Phytomedicine**, v. 86, p. 153497, jun. 2021.
- FOURMY, D.; GIGOUX, V.; REUBI, J. C. Gastrin in Gastrointestinal Diseases. **Gastroenterology**, v. 141, n. 3, p. 814- 818.e3, set. 2011.
- FRIGO, D. E.; BONDESSON, M.; WILLIAMS C. Nuclear receptors: from molecular mechanisms to therapeutics. **Essays Biochem.** v. 65, n. 6, p. 847-856, 17 dec. 2021.
- GALVÃO, A. W. R. *et al.* 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. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p. 419–425, jan. 2017.
- GAULTON, A. *et al.* The ChEMBL database in 2017. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. D945–D954, 4 jan. 2017.
- GBIF SECRETARIAT. **GBIF Backbone Taxonomy**. Disponível em: <<https://www.gbif.org/dataset/d7dddbf4-2cf0-4f39-9b2a-bb099caae36c>>. Acesso em: 20 nov. 2022.
- GFELLER, D. *et al.* Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. W1, p. W32–W38, 1 jul. 2014.
- GHLICHLOO, I.; GERRIETS, V. **Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)**. Treasure Island. 2022.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutases I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.
- GLEESON, J. P.; MCCARTNEY, F. Striving towards the perfect *in vitro* oral drug absorption model. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 40, n. 10, p. 720–724, out. 2019.

GOMAA, A. M. S.; EL-MOTTALEB, N. A.; AAMER, H. A. Antioxidant and anti-inflammatory activities of alpha lipoic acid protect against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 188–194, maio 2018.

GONÇALVES, F. S. **Mecanismos de ação relacionados à atividade antiúlcera de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers (Crassulaceae)**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2017.

GRAHAM, D. Y.; LU, H.; DORE, M. P. Relative potency of proton-pump inhibitors, *Helicobacter pylori* therapy cure rates, and meaning of double-dose PPI. **Helicobacter**, v. 24, n. 1, p. e12554, fev. 2019.

GÜEMES, M.; RAHMAN, S. A.; HUSSAIN, K. What is a normal blood glucose? **Archives of Disease in Childhood**, v. 101, n. 6, p. 569–574, 2015.

GUO, J. *et al.* Metabolism and Mechanism of Human Cytochrome P450 Enzyme 1A2. **Current Drug Metabolism**, v. 22, n. 1, p. 40-49, 01 jan. 2021.

GUZELGUN, E. B.; INCE, E.; ORHAN, G. H. *In vitro* antioxidant/prooxidant effects of combined use of flavonoids. **Natural Product Research**, v. 32, n. 12, p. 1446–1450, 18 jun. 2018.

HAEIWA, H. *et al.* Oleic acid promotes adaptability against oxidative stress in 3T3-L1 cells through lipohormesis. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 386, p. 73–83, 2013.

HE, Q. *et al.* Rebamipide attenuates alcohol-induced gastric epithelial cell injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress and activating autophagy-related proteins. **European Journal of Pharmacology**, v. 922, 2022.

HEEBA, G. H.; HASSAN, M. K. A.; AMIN, R. S. Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Role of nitric oxide and prostaglandins. **European Journal of Pharmacology**, v. 607, n. 1–3, p. 188–193, abr. 2009.

HELMSTÄDTER, M. *et al.* Activity Screening of Fatty Acid Mimetic Drugs Identified Nuclear Receptor Agonists. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, 2022.

HENRY, G. E. *et al.* Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 2, p. 2231–2234, 2002.

HERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, E. M. *et al.* Bioinformatics as a tool for the structural and evolutionary analysis of proteins. **Computational Biology and Chemistry**. IntechOpen, 2020.

HILALY, J. E.; ISRAILI, Z. H.; LYOUSSI, B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n. 1, p. 43–50, mar. 2004.

HOLZER, P. Neural regulation of gastrointestinal blood flow. **Physiology of the Gastrointestinal**. Elsevier, 2012. p. 817–845.

- HRYCAY, E. G.; BANDIERA, S. M. Involvement of cytochrome p450 in reactive oxygen species formation and cancer. p. 35–84. 2015.
- HUANG, S. M. *et al.* New era in drug interaction evaluation: us food and drug administration update on cyp enzymes, transporters, and the guidance process. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 48, n. 6, p. 662–670, jun. 2008.
- HUSSAIN, T. *et al.* Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016.
- IMHANN, F. *et al.* Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. **Gut**, v. 65, n. 5, p. 740–748, maio 2016.
- JABRI, M.-A. *et al.* Fatty acid composition and mechanisms of the protective effects of myrtle berry seed aqueous extract in alcohol-induced peptic ulcer in rat. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 95, n. 5, p. 510–521, maio 2017.
- JACCOB, A. Protective effect of N-Acetylcysteine against ethanol-induced gastric ulcer: a pharmacological assessment in mice. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 4, n. 2, p. 90, 2015.
- JAIN, K. S. *et al.* Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 1181–1205, 1 fev. 2007.
- JANKO, C. *et al.* Redox modulation of HMGB1-related signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 20, n. 7, p. 1075–1085, mar. 2014.
- JIANG, L. *et al.* Expression of cytokines, growth factors and apoptosis-related signal molecules in chronic pressure ulcer wounds healing. **Spinal Cord**, v. 52, p. 145-151, 2014.
- JIANG, Q. *et al.* Ion-pair formation combined with a penetration enhancer as a dual strategy to improve the transdermal delivery of meloxicam. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 8, n. 1, p. 64–72, 27 fev. 2018.
- JÚNIOR, F. E. B. *et al.* Protective effects of Croton campestris A. St-Hill in different ulcer models in rodents: Evidence for the involvement of nitric oxide and prostaglandins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 469–477, 2014.
- JUNIOR, J. A. R. *et al.* Gastroprotective effect of geopropolis from *Melipona scutellaris* is dependent on production of nitric oxide and prostaglandin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1–5, 2015.
- KANGWAN, N. *et al.* Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression. **World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology**, v. 5, n. 1, p. 40, 2014.
- KARAKOYUN, B. *et al.* Alpha-lipoic acid improves acetic acid-induced gastric ulcer healing in rats. **Inflammation**, v. 32, n. 1, p. 37–46, 3 fev. 2009.
- KAVITT, R. T. *et al.* Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease. **The American Journal of Medicine**, v. 132, n. 4, p. 447–456, abr. 2019.

KAYALI, S. *et al.* *Helicobacter pylori*, transmission routes and recurrence of infection: State of the art. **Acta bio-medica : Atenei Parmensis**, v. 89, n. 8- S, p. 72–76, 17 dez. 2018.

KIM, S. F. The Nitric oxide-mediated regulation of prostaglandin signaling in medicine. **Vitam Horm.** p. 211–245. 2014.

KIM, T. H.; SHIVDASANI, R. A. Stomach development, stem cells and disease. **Development**, v. 143, n. 4, p. 554–65, 15 fev. 2016.

KINOSHITA, M.; SAITO, N.; TAMAKI, H. Antisecretory and antiulcer effect of T-330, a novel reversible proton pump inhibitor, in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 321, n. 3, p. 325–332, mar. 1997.

KOC, M.; IMIK, H.; ODABASOGLU, F. Gastroprotective and anti-oxidative properties of ascorbic acid on indomethacin-induced gastric injuries in rats. **Biological Trace Element Research**, v. 126, n. 1–3, p. 222–236, 23 dez. 2008.

KOJS, P.; WLOCH, W.; RUSIN, A. Rearrangement of cells in storeyed cambium of *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) DC connected with formation of interlocked grain in the xylem. **Trees - Structure and Function**, v. 18, n. 2, p. 136–144, 1 mar. 2004.

KOPS, B. C. *et al.* GLORYx: prediction of the metabolites resulting from phase 1 and phase 2 biotransformations of xenobiotics. **Chemical Research in Toxicology**, v. 34, n. 2, p. 286–299, 15 fev. 2021

KOZLOWSKA, M. *et al.* Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. **Food Chemistry**, v. 213, P. 450–456, 2016.

KUNA, L. *et al.* Peptic ulcer disease: a brief review of conventional therapy and herbal treatment options. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 2, p. 179, 3 fev. 2019.

KWIECIEN, S. *et al.* Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 65, n. 5, p. 613–22, out. 2014.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41–60, jul. 2008.

LALA, V.; ZUBAIR, M.; MINTER, D. **A liver function tests**. Treasure Island : StatPearls. 2022.

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

LANDRY, Y.; GIES, J. P. Drugs and their molecular targets: an updated overview. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 22, n. 1, p. 1–18, 2008.

LAUFS, U. *et al.* Clinical review on triglycerides. **European Heart Journal**, v. 41, n. 1, p. 99– 109c, 1 jan. 2020.

- LAZZARI, F. *et al.* Superoxide Radical Dismutation as New Therapeutic Strategy in Parkinson's Disease. **Aging and disease**, v. 9, n. 4, p. 716, 2018.
- LEITE, G. O. *et al.* Gastroprotective mechanism of *Vanillosmopsis arborea* bark essential oil. **Fitoterapia**, v. 80, n. 1, p. 77–80, jan. 2009.
- LEWIS, G. *et al.* **Legumes of the World**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2005.
- LIU, M. *et al.* Nitrite-mediated renal vasodilatation is increased during ischemic conditions via cGMP-independent signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 84, p. 154–160, jul. 2015.
- LI, Z. *et al.* Free Fatty Acid Receptor 1 (FFAR1) as an Emerging Therapeutic Target for Type 2 Diabetes Mellitus: Recent Progress and Prevailing Challenges. **Medicinal Research Reviews**, v. 38, n. 2, p. 381–425, 2017.
- LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–75, nov. 1951.
- LUCAS, D. *et al.* Stereoselective epoxidation of the last double bond of polyunsaturated fatty acids by human cytochromes P450. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 5, p. 1125-1133, 2010.
- MAENG, J. H. *et al.* Rabbit gastric ulcer models: comparison and evaluation of acetic acid-induced ulcer and mucosectomy-induced ulcer. **Laboratory Animal Research**, v. 29, n. 2, p. 96, 2013.
- MAGIEROWSKI, M. *et al.* Gaseous mediators' nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 9099–9123, 19 maio 2015.
- MARD, S. A. *et al.* Antisecretory effect of hydrogen sulfide on gastric acid secretion and the involvement of nitric oxide. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–7, 2014.
- MARTINS, J. L. R. *et al.* Evaluation of gastroprotective activity of linoleic acid on gastric ulcer in a mice model. **Current Pharmaceutical Design**, v. 28, n. 8, p. 655–660, mar. 2022.
- MASCLEE, G. M. C. *et al.* Risk of upper gastrointestinal bleeding from different drug combinations. **Gastroenterology**, v. 147, n. 4, p. 784- 792.e9, out. 2014.
- 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**, v. 65, n. 2, p. PL27–PL32, jun. 1999.
- MCCARTY, M. F.; DINICOLANTONIO, J. J.; O'KEEFE, J. H. Capsaicin may have important potential for promoting vascular and metabolic health: Table 1. **Open Heart**, v. 2, n. 1, p. e000262, jun. 2015.
- MEERVELD G.; JOHNSON, A. C.; GRUNDY, D. Gastrointestinal Physiology and Function. **Handbook of Experimental Pharmacology**, p. 1–16, 2017.

- MEI, X. T. *et al.* Curcumin accelerates the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats by decreasing oxidative stress and downregulation of matrix metalloproteinase-9. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 448–454, out. 2013.
- MEIRELLES, G. C. *et al.* Phytochemistry and Pharmaceutical Technology Studies on *Monteverdia ilicifolia* (*Maytenus ilicifolia*): a Traditionally Used Medicinal Plant. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 32, p. 859–870, 2022.
- MESTRES, J. *et al.* The topology of drug–target interaction networks: implicit dependence on drug properties and target families. **Molecular BioSystems**, v. 5, n. 9, p. 1051, 2009.
- MIRANDA, M. A. *et al.* Gastroprotective activity of the hydroethanolic extract and isolated compounds from the leaves of *Solanum cernuum* Vell. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 172, p. 421–429, ago. 2015.
- MONTEIRO, C. E. S. *et al.* LASSBio-596 protects gastric mucosa against the development of ethanol-induced gastric lesions in mice. **European journal of pharmacology**, v. 863, p. 172662, 15 nov. 2019.
- MORAES, T. M. *et al.* Healing actions of essential oils from *Citrus aurantium* and d-Limonene in the gastric mucosa: The roles of VEGF, PCNA, and COX-2 in cell proliferation. **Journal of Medicinal Food**, v. 16, n. 12, p. 1162–1167, dez. 2013.
- MORALES-LÁZARO, S. L. *et al.* Inhibition of TRPV1 channels by a naturally occurring omega-9 fatty acid reduces pain and itch. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 13092, 10 dez. 2016.
- MORIMOTO, Y. *et al.* 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, n. 4, p. 495–505, 1991.
- MOTA, M. R. L. **Estudo da atividade anitinflamatória e antinociceptiva da lectina isolada de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth.** Fortaleza. 2008.
- MUSA, A. M.; YARO, A. H.; ABUBAKAR, M. S. Anticonvulsant activity of methanol extract of the stem bark of *Lonchocarpus sericeus* Poir (Papilionaceae). **Journal of Tropical Sciences**, v. 6, p. 17–20, 2006.
- NAGATA, Y. *et al.* Palmitic acid, verified by lipid profiling using secondary ion mass spectrometry, demonstrates anti-multiple myeloma activity. **Leukemia Research**, v. 39, n. 6, p. 638–645, jun. 2015.
- NAPIMOGA, M. H. *et al.* *Lonchocarpus sericeus* lectin decreases leukocyte migration and mechanical hypernociception by inhibiting cytokine and chemokines production. **International Immunopharmacology**, v. 7, n. 6, p. 824–835, jun. 2007.
- NATH, L. S.; KHAN, A. S.; AHMAD, A. Computer aided screening of natural products in search of lead molecules for design and development of potent anti-inflammatory agents. **Scholars Academic Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 6, p. 496–503, 2014.

- NATH, V. *et al.* Identification of behenic acid as medicinal food for the diabetes mellitus: structure-based computational approach and molecular dynamics simulation studies. **Journal of molecular modeling**, v. 28, n. 3, p. 73, 28 fev. 2022.
- NEGRE-SALVAYRE, A. *et al.* Pathological aspects of lipid peroxidation. **Free Radical Research**, v. 44, n. 10, p. 1125–1171, 13 out. 2010.
- NETO, L. J. DE L. *et al.* Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 261, p. 56–62, jan. 2017.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311–335, 23 mar. 2012.
- NOVOTARSKYI, S. Classification of CYP450 1A2 inhibitors using PubChem data 2(Suppl 1):P40. **Journal Cheminform**. 4 may. 2010.
- OECD GUIDELINES. **Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure**. Paris: OECD Guidelines, 2022.
- OKABE, S.; AMAGASE, K. An overview of acetic acid ulcer models: The history and state of the art of peptic ulcer research. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 8, p. 1321–1341, 2005.
- OLINDA, T. M. *et al.* Quebrachitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K⁺ATP channels. **Phytomedicine**, v. 15, n. 5, p. 327–333, maio 2008.
- OLIVEIRA, A. F. DE *et al.* Estimativa da prevalência e da mortalidade por complicações da úlcera péptica, Brasil, 2008: uma proposta metodológica. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 1, p. 383–394, mar. 2015.
- OYEDEJI, O. A. *et al.* Flavonoid profile, anthocyanin, carotenoid, sugar and vitamin compositions of *Lonchocarpus sericeus* seeds. **African Journal of Food Science and Technology**, v. 06, n. 05, p. 131–135, 2015.
- OYELEKE, S. A. *et al.* Anti-inflammatory activity of *Theobroma cacao* L. stem bark ethanol extract and its fractions in experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 222, p. 239–248, ago. 2018.
- PACHECO, G. *et al.* Activation of transient receptor potential vanilloid channel 4 contributes to the development of ethanol-induced gastric injury in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 902, p. 174113, jul. 2021.
- PANDYA, D. Assessment and correlation of urea and creatinine levels in saliva and serum of patients with chronic kidney disease, diabetes and hypertension - A research study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, 2016.

PARK, J. U. *et al.* Gastroprotective effects of plants extracts on gastric mucosal injury in experimental sprague-dawley rats. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–11, 17 fev. 2019.

PEGORARO, N. S. *et al.* Oleic acid exhibits an expressive anti-inflammatory effect in croton oil-induced irritant contact dermatitis without the occurrence of toxicological effects in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, 2020.

PEGORARO, N. S. *et al.* Oleic acid-containing semisolid dosage forms exhibit *in vivo* anti-inflammatory effect via glucocorticoid receptor in a UVB radiation-induced skin inflammation model. **Inflammopharmacology**, v. 28, p. 773–786, 2020.

PHANG, S.; LLERENA, V. A. **Bioquímica, Biotransformação**. Ilha do Tesouro: StatPearls, 2022.

PINTO, D. D. ***Machaerium Pers. (Fabaceae: Faboideae): fruto, semente e plântula.*** Daniela Dias Pinto. – Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2009.

POOLE, D. P. *et al.* Targeting of transient receptor potential channels in digestive disease. **TRP Channels as Therapeutic Targets**. Elsevier, 2015. p. 385–403.

POTRICH, F. B. *et al.* Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: Involvement of the antioxidant system. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 85–92, jul. 2010.

POTTS, R. O.; GUY, R. H. Predicting skin permeability. **Pharmaceutical Research**, v. 09, n. 5, p. 663–669, 1992.

PRICE, G.; PATEL, D. A. **Drug Bioavailability**. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022.

QIU, L. *et al.* Effect of cuttlebone on healing of indomethacin-induced acute gastric mucosal lesions in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 1–8, 7 out. 2020.

RAJENDRAN, P. *et al.* Antioxidants and human diseases. **Clínica Chimica Acta**, v. 436, p. 332–347, set. 2014.

REED, K. K.; WICKHAM, R. Review of the Gastrointestinal Tract: From Macro to Micro. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 25, n. 1, p. 3–14, 2009.

REPETTO, M. G; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 5, p. 523–534, 2002.

RUDIK, A. *et al.* SOMP: Web server for *in silico* prediction of sites of metabolism for drug-like compounds. **Bioinformatics**, v. 31, n. 12, p. 2046–2048, 15 jun. 2015.

- SAADAOU, N. *et al.* Gastroprotective effect of leaf extract of two varieties grapevine (*Vitis vinifera* L.) native wild and cultivar grown in North of Tunisia against the oxidative stress induced by ethanol in rats. **Biomarkers**, v. 25, n. 1, p. 48–61, 2 jan. 2020.
- SAID, H.; KAJI, I.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense mechanisms. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 31, n. 6, p. 486–491, nov. 2015.
- SALAZAR, J. H. Overview of urea and creatinine. **Laboratory Medicine**, v. 45, n. 1, p. 19–20, 1 fev. 2014.
- SAM, C.; BORDONI, B. **Physiology, Acetylcholine**. In: StatPearls. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2022.
- SANTAMARINA, A. B. *et al.* Anti-inflammatory effects of oleic acid and the anthocyanin keracyanin alone and in combination: effects on monocyte and macrophage responses and the NF- κ B pathway. **Food Functional**, v. 12, n. 17, p. 7909-7922, 2021.
- SANTANA, A. P. M. *et al.* The nitric oxide donor cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO](PF₆) increases gastric mucosa protection in mice – Involvement of the soluble guanylate cyclase/KATP pathway. **Nitric Oxide**, v. 45, p. 35–42, fev. 2015.
- SANTOS, F. A., RAO, V. S. **Fármacos para o Controle da Acidez Gástrica e Protetores da Mucosa**, Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica, p. 645 -670, 2016.
- SANTOS, R. *et al.* A comprehensive map of molecular drug targets. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 16, p. 19–34, 2017.
- SANTOS, R. C. DOS *et al.* *Byrsonima intermedia* A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 1112–1123, mar. 2019.
- SASAHARA, G. L. **Efeito antimicrobiano, antioxidante, anti-inflamatório e gastroprotetor de Nitro Complexos de Rutênio**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2021.
- SCHADE, D. S.; SHEY, L.; EATON, R. P. Cholesterol review: A metabolically important molecule. **Endocrine Practice**, v. 26, n. 12, p. 1514–1523, dez. 2020.
- SCHOLTEN, S.; SERGEEV. Long-term quercetin supplementation reduces lipid peroxidation but does not improve performance in endurance runners. **Open Access Journal of Sports Medicine**, p. 53, mar. 2013.
- SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 598–603, nov. 2010.
- SCIDA, S. *et al.* Relationship between *Helicobacter pylori* infection and GERD. **Acta Biomed.**, 2018.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, n. 1, p. 192–205, 24 out. 1968.

SELMİ, S. *et al.* Protective effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, p. 152, 14 dez. 2017.

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.

SHAHABI, P. *et al.* Human cytochrome P450 epoxygenases: Variability in expression and role in inflammation-related disorders, **Pharmacology & Therapeutics**, v. 144, n. 2, p. 134-161, 2014.

SHARMA, S. K.; VIJ, A. S.; SHARMA, M. Mechanisms and clinical uses of capsaicin. **European Journal of Pharmacology**, v. 720, n. 1–3, p. 55–62, nov. 2013.

SHEH, A.; FOX, J. G. The role of the gastrointestinal microbiome in *Helicobacter pylori* pathogenesis. **Gut Microbes**, v. 4, n. 6, p. 505–531, 28 nov. 2013.

SHIN, J. M.; KIM, N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. **Journal of Neurogastroenterology and Motility**, v. 19, n. 1, p. 25-35, jan. 2013.

ŠÍCHO, M. *et al.* FAME 3: Predicting the sites of metabolism in synthetic compounds and natural products for phase 1 and phase 2 metabolic enzymes. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 59, n. 8, p. 3400–3412, 26 ago. 2019.

SILVA, D. M. **Efeito da alantoína sobre a úlcera gástrica: estudo do mecanismo gastroprotetor**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2019.

SILVA, F. V. *et al.* Anti-Inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 11, p. 984–991, nov. 2012.

SIMÕES, S, *et al.* Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. **Animal Model Experimental Medicine**. v. 2, p. 121–126, 2019.

SOUSA, G. A. *et al.* Gastroprotective effect of ethanol extracts of cladodes and roots of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl (Cactaceae) on experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 218, p. 100–108, 2018.

SOUSA, J. A. O. **Efeito gastroprotetor do LASSBIO-596 em modelo experimental de gastrite aguda induzida por etanol**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2018.

SOUSA, M. **Aspectos químicos do estudo químico farmacológico de plantas do nordeste: *Myracrodouon urundeuva* (Fr. All.), *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth e *Stachytarpheta* sp.** Dissertação de mestrado - Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2003.

SOUZA, L. K. M. *et al.* Diminazene aceturate, an angiotensin-converting enzyme II activator, prevents gastric mucosal damage in mice: Role of the angiotensin-(1–7) / Mas receptor axis. **Biochemical Pharmacology**, v. 112, p. 50–59, jul. 2016.

SPECTOR, A. A.; KIM, H. Y. Cytochrome P450 epoxygenase pathway of polyunsaturated fatty acid metabolism. **Biochim Biophys Acta**. v. 1851, n. 5, p. 356-365, 2015.

SQUIRE, J. M. *et al.* Quantitative MUC5AC and MUC6 mucin estimations in gastric mucus by a least-squares minimization method. **Analytical Biochemistry**, v. 439, n. 2, p. 204–211, ago. 2013.

STADEN, D. V; PLESSIS, J. D.; VILJOEN, J. Development of a self-emulsifying drug delivery system for optimized topical delivery of clofazimine. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 6, p. 523, 8 jun. 2020.

STORK, C. *et al.* NERDD: a web portal providing access to in silico tools for drug discovery. **Bioinformatics**, 6 set. 2019.

SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. **SWISS**. Disponível em: <<http://swissadme.ch/index.php>>. Acesso em: 21 nov. 2022.

SYAM, A. F. *et al.* Molecular mechanism on healing process of peptic ulcer. **Acta Med Indones**, v. 41, n. 2, p. 95–98, 2009.

TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 19, n. 3, p. 418–424, 1969.

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, 12 set. 2018.

TAKEUCHI. Gastric cytoprotection by prostaglandin E₂ and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. **Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society**, v. 65, n. 1, p. 3–14, fev. 2014.

TANG, R. S.; CHAN, F. K. L. Therapeutic management of recurrent peptic ulcer disease. **Drugs**, v. 72, n. 12, p. 1605–1616, ago. 2012.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, n. S1, p. S24–S33, out. 2005.

TARNAWSKI, A. S.; AHLUWALIA, A. Molecular mechanisms of epithelial regeneration and neovascularization during healing of gastric and esophageal ulcers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 16–27, 1 jan. 2012.

TARNAWSKI, A. S., & AHLUWALIA, A. The Critical Role of Growth Factors in Gastric Ulcer Healing: The Cellular and Molecular Mechanisms and Potential Clinical Implications. **Cells**, v. 10, n. 8, 2021.

TARNAWSKI, A.; AHLUWALIA, A.; JONES, M. Gastric cytoprotection beyond prostaglandins: cellular and molecular mechanisms of gastroprotective and ulcer healing actions of antacids. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, n. 1, p. 126–132, 1 nov. 2013.

THOMAS SANDER. **Osiris Property Explorer**. Disponível em: <http://www.cheminfo.org/flavor/cheminformatics/Utility/Property_explorer/index.htm>. Acesso em: 18 nov. 2022.

TOZZI, A. M. G. DE A. **Estudos taxonômicos dos gêneros Lonchocarpus Kunth e Deguelia Aubl. no Brasil**. Doutorado - Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1989.

UEDA, N.; YAMAMOTO, S. Anandamide amidohydrolase (fatty acid amide hydrolase). **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 61, p. 19–28, 2000.

VAEZI, M. F.; YANG, Y.-X.; HOWDEN, C. W. Complications of proton pump inhibitor therapy. **Gastroenterology**, v. 153, n. 1, p. 35–48, jul. 2017.

VALE, L. C. **Efeito gastroprotetor da Riparina III em camundongos submetidos ao modelo agudo de lesão gástrica induzida por etanol e possíveis mecanismos envolvidos**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2020.

VIANA, A. F. S. C. *et al.* 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, A. F. S. C. **Efeito gastroprotetor e cicatrizante do (-) - Mirtenol**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2017.

VIVEK, D.; CHANDER, S.; NARAYAN, Y. Evaluation of anti-ulcer activity of *Clitorea ternatea* leaves (linn) extract in *Wistar* rats. **Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology**, v. 2, p. 1225, 2014.

VYKLIČKÝ, L. *et al.* Calcium-dependent desensitization of vanilloid receptor TRPV1: A mechanism possibly involved in analgesia induced by topical application of capsaicin. **Physiological research**, v. 57 Suppl 3, p. S59–S68, 2008.

WANG, J. Q. *et al.* A ruthenium(II) complex inhibits tumor growth *in vivo* with fewer side-effects compared with cisplatin. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 146, p. 89–96, maio 2015.

WOLFF CORDEIRO, K. *et al.* Antiulcerogenic effect of croton *Urucurana baillon* bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 1, p. 331–337, ago. 2012.

WOOLF, A.; REHMAN, R. B.; ROSE, R. **Gastric Ulcer**. StatPearls ed. Treasure Island : Publishing; 2022

WU, C. Y. Initiatives for a Healthy Stomach. **Current Treatment Options in Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 628–635, 27 dez. 2019.

- XIE, Y. *et al.* Isolation and identification of antibacterial bioactive compounds from *Bacillus megaterium* L2. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 24 mar. 2021.
- XU, B. *et al.* The Biological Functions and Regulatory Mechanisms of Fatty Acid Binding Protein 5 in Various Diseases. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, 2022
- YANDRAPU, H.; SAROSIEK, J. Protective factors of the gastric and duodenal mucosa: an overview. **Current Gastroenterology Reports**, v. 17, n. 6, p. 24, 25 jun. 2015.
- YOUS, F. *et al.* Anti-ulcerogenic and proton pump (H⁺, K⁺ ATPase) inhibitory activity of *Clematis flammula* L. extract. **South African Journal of Botany**, v. 119, p. 390–399, nov. 2018.
- YUAN, Y.; PADOL, I. T.; HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, v. 3, n. 2, p. 80–89, fev. 2006.
- ZHAO, X. *et al.* Identification and direct determination of fatty acids profile in oleic acid by HPLC-CAD and MS-IT-TOF. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 204, p. 114238, set. 2021.
- ZHANG, B. *et al.* Oleic acid alleviates LPS-induced acute kidney injury by restraining inflammation and oxidative stress via the Ras/MAPKs/PPAR- γ signaling pathway, **Phytomedicine**, v. 94, 2022.
- ZHENG, B. *et al.* Oleic acid derivative of polyethylenimine-functionalized proliposomes for enhancing oral bioavailability of extract of *Ginkgo biloba*. **Drug Delivery**, v. 23, n. 4, p. 1194–1203, 3 maio 2016.
- ZHOU, D. *et al.* Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 126, p. 110075, jun. 2020.
- ZIEGLER, S. *et al.* Target identification for small bioactive molecules: finding the needle in the haystack. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 10, p. 2744–2792, 4 mar. 2013.
- ZOU, H. *et al.* A review on pharmacological activities and synergistic effect of quercetin with small molecule agents. **Phytomedicine**, v. 92, p. 153736, nov. 2021.

ANEXO I – 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 "Efeito gastroprotetor e cicatrizante do extrato de *Lonchocarpus Sericeus* em camundongos Swiss e seus possíveis mecanismos envolvidos", protocolada sob o CEUA nº 1933011019 (ID 001394), sob a responsabilidade de **Flávia Almeida Santos e equipe; 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 12/11/2019.

We certify that the proposal "Gastroprotective and ulcer healing effects of the *Lonchocarpus Sericeus* extract in Swiss mice and their possible mechanisms involved", utilizing 306 Isogenics mice (306 males), protocol number CEUA 1933011019 (ID 001394), under the responsibility of **Flávia Almeida Santos and team; 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 11/12/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [01/2020](#) a [06/2021](#)

Área: [Departamento de Fisiologia E Farmacologia](#)

Origem: [Biotério Prof. Eduardo Torres \(setorial FAMED\)](#)

Especie: [Camundongos isogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [5 a 7 semanas](#)

N: [306](#)

Linhagem: [Swiss](#)

Peso: [20 a 25 g](#)

Comentário da CEUA: "A Pesquisadora explicou a necessidade do n=8/grupo para análises que serão realizadas, bem como explanou os procedimentos. Assim, com os devidos esclarecimentos justifica-se o aumento do n amostral total da pesquisa para 406 animais. Contudo vale ressaltar que animais já foram utilizados conforme descrição dos resultados parciais n=48 animais. Desta forma a partir de então fica-se a ser deliberado os demais animais para continuação da presente pesquisa de forma a totalizar 406 camundongos. Ademais, o Pesquisador solicita prorrogação de prazo decorrente da suspensão das atividades no Biotério em virtude da Pandemia por COVID-19. Assim, o novo prazo de vigência da pesquisa será julho de 2022 (07/2022). Esta argumentação é plausível e justificável."

Comentário da CEUA: "O Pesquisador solicita aumento do número de animais por inclusão de dois experimentos com inclusão de outra espécie: ratos, além de alteração no prazo da pesquisa. Conforme explicação, a solicitação é de 24 camundongos machos da linhagem Swiss e 48 ratos Wistar, totalizando assim o acréscimo de 72 animais para projeto. Vale salientar que ainda há 92 camundongos do projeto original que ainda não foram utilizados. Com relação ao questionamento dos anestésicos, o Pesquisador informou que tem disponível e adequadamente para os protocolos previstos. O Pesquisador também solicita prorrogação de prazo, sendo este para julho de 2023. Assim, após esclarecimentos e explicações detalhadas, recomenda-se aprovação. ANIMAIS APROVADOS: 24 Camundongos Swiss, Machos, 20-25g, 5-7 semanas. 48 Ratos Wistar, Machos, 180-220g, 6-8 semanas. NOVA PREVISÃO DE TÉRMINO: 07/2023".

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-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará