



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FACULDADE DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**EFEITO ANALGÉSICO, ANTIINFLAMATÓRIO E GASTROPROTETOR DOS
ÁCIDOS ANACÁRDICOS, ISOLADOS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L., EM
MODELOS EXPERIMENTAIS**

TALITA CAVALCANTE MORAIS

FORTALEZA-CE

2010

TALITA CAVALCANTE MORAIS

**EFEITO ANALGÉSICO, ANTIINFLAMATÓRIO E GASTROPROTETOR DOS
ÁCIDOS ANACÁRDICOS, ISOLADOS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L., EM
MODELOS EXPERIMENTAIS**

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

Orientador (a):

Prof^ª. Dra. Flávia Almeida Santos

FORTALEZA

2010

M825e Morais, Talita Cavalcante

Efeito analgésico, antiinflamatório e gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, isolados de *Anacardium occidentale* L., em modelos experimentais / Talita Cavalcante Morais. – Fortaleza, 2010.

153f. : il.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Flávia Almeida Santos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

1. Ácidos Anacárdicos 2. *Anacardium occidentale* 3. Medição da Dor 4. Inflamação 5. Úlcera Gástrica I. Santos, Flávia Almeida (Orient.) II. Título.

CDD: 616.334

TALITA CAVALCANTE MORAIS

**EFEITO ANALGÉSICO, ANTIINFLAMATÓRIO E GASTROPROTETOR DOS
ÁCIDOS ANACÁRDICOS, ISOLADOS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L., EM
MODELOS EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Farmacologia da Universidade
Federal do Ceará como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Farmacologia

Orientador (a):

Prof^ª. Dra. Flávia Almeida Santos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Flávia Almeida Santos (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza

Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar

Universidade Federal do Ceará

*"Grandes descobertas e progressos
invariavelmente envolvem a cooperação
de várias mentes."*

(Alexander Graham Bell)

*A **Deus**, por ter me provido de saúde, força e coragem para a realização deste trabalho.*

*Aos meus pais, **Valci Moraes de Araújo e Francisca Vieira Cavalcante Moraes**, pelo carinho, dedicação e incentivo nos meus estudos.*

*Aos meus irmãos, **Ticiano e Tamara**, por me apoiarem nos momentos mais importantes da minha vida*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Flávia Almeida Santos, pela oportunidade, orientação, amizade e confiança.

Ao Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao, pela importante contribuição neste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan, pelo fornecimento e análise dos ácidos anacárdicos utilizados na pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza e à Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar, pela participação na banca examinadora.

Aos meus familiares e amigos que me incentivaram e me deram força para esta conquista.

À mestranda Karine Carvalho, pela ajuda no desenvolvimento desta pesquisa, pela amizade e pelos momentos de descontração.

À mestranda Natália Bitú, pela contribuição nos experimentos e principalmente pela amizade.

Aos pós-graduandos do LPN, Alana Lima, Julyanne Frota, Ana Carla Carvalho, Caroline Melo, Célio Lima, Cinthya de Oliveira, Marjorie Guedes e Silvéria Lira pela parceria e amizade.

Aos bolsistas de iniciação científica do LPN, Iago Caúla, Cecília Rocha, Paloma Araújo, Tiago Melo, Patrícia Rodrigues, Rafaela Barros, Karla Monise, Natércia Camelo e João Carlos Dantas, pela contribuição nos experimentos.

Aos colegas de pós-graduação, Carolina Melo, Emiliano Rios e Nayrton Rocha pela ajuda e amizade.

Às técnicas de laboratório do LPN, Marta Braga, Nízia Rodrigues e Anyssa Quintino, pela organização do laboratório e pela contribuição nos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, pelo apoio indispensável.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro, de extrema importância para realização deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que de forma direta ou indireta colaboraram no desenvolvimento desta pesquisa e para esta realização pessoal.

RESUMO

EFEITO ANALGÉSICO, ANTIINFLAMATÓRIO E GASTROPROTETOR DOS ÁCIDOS ANACÁRDICOS, ISOLADOS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L., EM MODELOS EXPERIMENTAIS. Talita Cavalcante Morais. Orientadora: Prof^ª. Dra. Flávia Almeida Santos. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2010.

Os Ácidos Anacárdicos (AA), isolados do líquido da casca da castanha, da planta medicinal *Anacardium occidentale* (cajueiro, Anacardiaceae) e que possuem propriedades antioxidante, inibidora de lipoxigenase, anti-*Helicobacter pylori* e antitumoral foram avaliados e caracterizados farmacologicamente, pela primeira vez, usando modelos animais de nocicepção (contorções pelo ácido acético, formalina, capsacina e placa quente), inflamação (edema de pata pela carragenina e granuloma por pellet de algodão) e úlcera gástrica (etanol e indometacina). Em camundongos, a administração oral dos AA (10, 30 e 100 mg/kg) e ácido acetilsalicílico (250 mg/kg) reduziram significativamente as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em 33, 44, 47 e 70%, respectivamente. Os AA (10, 30 e 100 mg/Kg, v.o.) demonstraram atividade antinociceptiva nas duas fases do teste da formalina, o mesmo efeito sendo observado com a morfina (7,5mg/kg, s.c.). AA demonstraram efeito antinociceptivo no modelo da placa quente, mas não no modelo da capsaicina. AA, nas mesmas doses, demonstraram significativa atividade antiinflamatória, evidenciada pela redução no edema de pata induzido pela carragenina e redução dos pesos úmido e seco dos granulomas de algodão. Além disso, observou-se que AA (10, 30 e 100 mg/kg) e misoprostol (50µg/kg) administrados oralmente proporcionaram gastroproteção contra as ulcerações gástricas induzidas por etanol e indometacina. Nas respectivas doses, as reduções foram de 25, 64, 83 e 63%, no modelo do etanol, e de 21, 41, 50 e 61%, no modelo da indometacina. No estudo do mecanismo de gastroproteção, os papéis de receptores TRPV1, prostaglandinas endógenas, óxido nítrico e canais de potássio sensíveis ao ATP foram analisados. O efeito dos tratamentos sobre os marcadores do estresse oxidativo associado ao etanol, GSH, MDA, catalase, SOD e níveis totais de nitrato/nitrito como um índice de NO também foram medidos no tecido gástrico. O efeito dos AA sobre o volume secretório gástrico e acidez total foram analisados no modelo de ligadura pilórica em ratos. AA proporcionaram gastroproteção dose dependente contra os danos causados pelo etanol e preveniram as alterações induzidas pelo etanol sobre os níveis de GSH, MDA, catalase, SOD e nitrato/nitrito. Contudo, AA falharam em modificar a secreção e acidez total gástrica. A gastroproteção dos AA foi reduzida em animais pré-tratados com capsazepina, indometacina, L-NAME e glibenclamida. Os resultados sugerem que os AA exercem gastroproteção principalmente através de um mecanismo antioxidante. Outros mecanismos complementares incluindo a ativação dos receptores TRPV1, estimulação de prostaglandinas endógenas e óxido nítrico e a abertura de canais de potássio dependentes de ATP estão envolvidos. Esses efeitos combinados podem estar provavelmente acompanhados pelo aumento na microcirculação gástrica. Os resultados demonstram que os ácidos anacárdicos, isolados de *A. occidentale*, possuem atividade antinociceptiva, antiinflamatória e gastroprotetora, e que merecem maior avaliação futura em modelos animais que simulem doenças inflamatórias degenerativas agudas e crônicas em humanos.

Palavras-chave: Ácidos Anacárdicos, *Anacardium occidentale*, Medição da Dor, Inflamação, Úlcera gástrica.

ABSTRACT

ANALGESIC, ANTIINFLAMMATORY AND GASTROPROTECTIVE EFFECTS OF ANACARDIC ACIDS ISOLATED FROM ANACARDIUM OCCIDENTALE L., IN EXPERIMENTAL MODELS. Talita Cavalcante Morais. Orientadora: Prof^a. Dra. Flávia Almeida Santos. Post-Graduate Programme in Pharmacology, Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceara, 2010.

The anacardic acids (AA), isolated from cashew nut-shell liquid of popular medicinal plant *Anacardium occidentale* (cajueiro, Anacardiaceae) and were shown to possess antioxidant, lipoxygenase inhibitory, anti-*Helicobacter pylori* and antitumor properties were evaluated and pharmacologically characterized for the first time using the animal models of nociception (acetic acid writhing, formalin, capsaicin, and hot-plate), inflammation (carrageenan paw edema, cotton pellet granuloma), and gastric ulcer (ethanol, indometacin). In mice, orally administered AA (10, 30, and 100 mg/kg) and acetylsalicylic acid (250 mg/kg) significantly reduced the acetic acid-induced abdominal writhes by 33, 44, 47 and 70 %, respectively. AA (10, 30 and 100 mg/Kg, p.o.) significantly reduced the formalin-induced nociception at both first and second phases in a manner similar to morphine (7,5mg/kg, i.p.). AA reduced nociceptive effect in the model of hot-plate, but not in the capsaicin-induced hind-paw nociception. AA, at similar doses were found to have significant anti-inflammatory activity, evidenced by decreases in hind-paw edema in carrageenan model and reductions in both wet and dry weights of granulomas in cotton pellets model. It was further observed that AA (10, 30, and 100 mg/kg, p.o.) and misoprostol (50µg/kg) administered orally afforded gastroprotection against gastric ulcerations evoked by both ethanol and indomethacin. At the respective doses, the reductions were 25; 64; 83 and 63 %, respectively in ethanol model, and 21; 41; 50 e 61 %, respectively, in indomethacin model. In the study of gastroprotective mechanism(s), the roles of TRPV1 channel, endogenous prostaglandins, nitric oxide and ATP-sensitive potassium channels were analysed. Treatments effects on ethanol-associated oxidative stress markers GSH, MDA, catalase, SOD, and total nitrate/nitrite levels as an index of NO were also measured in gastric tissue. Besides, the effects of AA on gastric secretory volume and total acidity were analysed in pylorus-ligated rat. AA afforded a dose-related gastroprotection against the ethanol damage and further prevented the ethanol-induced changes in the levels of GSH, MDA, catalase, SOD and nitrate/nitrite. However, they failed to modify the gastric secretion or the total acidity. It was observed that the gastroprotection by AAs was greatly reduced in animals pretreated with capsazepine, indomethacin, L-NAME or glibenclamide. These results suggest that AAs afford gastroprotection principally through an antioxidant mechanism. Other complementary mechanisms include the activation of TRPV1 channel, stimulation of endogenous prostaglandins and nitric oxide, and opening of K(+)(ATP) channels. These combined effects are likely to be accompanied by an increase in gastric microcirculation. Taken together, these data suggest that anacardic acids from *A. occidentale* possess anti-inflammatory, antinociceptive and gastroprotective properties that merit further evaluation of these acids in animal models that simulate the acute and or chronic degenerative inflammatory diseases in humans.

Key words: Anacardic Acids, *Anacardium occidentale*, Pain Measurement, Inflammation, Gastric Ulcer.

FIGURA	LISTA DE FIGURAS	PÁGINA
FIGURA 1	Tipos de fibras sensoriais primárias responsáveis pela condução do sinal nociceptivo da periferia ao SNC.	26
FIGURA 2	Rota biossintética dos lipídios não-isoprenóides.	41
FIGURA 3	Exemplos de Lipídios fenólicos não-isoprenóides.	42
FIGURA 4	Cajueiro.	43
FIGURA 5	Ramo do cajueiro com pseudofruto.	43
FIGURA 6	Corte transversal esquemático da castanha de caju.	44
FIGURA 7	Estrutura química dos ácidos anacárdicos.	46
FIGURA 8	Ácidos anacárdicos.	65
FIGURA 9	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos.	67
FIGURA 10	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da formalina em camundongos.	68
FIGURA 11	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da placa quente em camundongos.	70
FIGURA 12	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da capsaicina em camundongos.	71
FIGURA 13	Efeito dos ácidos anacárdicos no edema de pata induzido por carragenina em camundongos.	74
FIGURA 14	Efeito dos ácidos anacárdicos no granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos.	77
FIGURA 15	Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	79
FIGURA 16	Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.	80
FIGURA 17	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	82
FIGURA 18	Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	84

FIGURA 19	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	86
FIGURA 20	Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	88
FIGURA 21	Avaliação da atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos.	93

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
TABELA 1	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos.	67
TABELA 2	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da formalina em camundongos.	68
TABELA 3	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da placa quente em camundongos.	70
TABELA 4	Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da capsaicina em camundongos.	71
TABELA 5	Efeito dos ácidos anacárdicos no edema de pata induzido por carragenina em camundongos.	73
TABELA 6	Efeito dos ácidos anacárdicos no granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos.	76
TABELA 7	Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	79
TABELA 8	Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.	80
TABELA 9	Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	82
TABELA 10	Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	84
TABELA 11	Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	86
TABELA 12	Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	88
TABELA 13	Efeito dos ácidos anacárdicos nos níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH), de superóxido dismutase (SOD), catalase, peroxidação lipídica (MDA) e óxido nítrico em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.	91

TABELA 14	Avaliação da atividade antissecreatória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos.	93
-----------	---	----

LISTA DE QUADROS

QUADRO		PÁGINA
QUADRO 1	Determinação do índice de lesões gástricas induzidas por Indometacina.	59

LISTA DE SIGLAS

±	Mais ou menos
<	Menor
%	Porcentagem
®	Marca registrada
°C	Grau centígrado
µL	Microlitro (s)
µg	Micrograma (s)
µM	Micromol
AAS	Ácido acetilsalicílico
Abs	Absoluto
AINEs	Antiinflamatórios não esteróides
AMPA	α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolil ácido propiônico
AMPc	Adenosina 3,5 – monofosfato cíclico
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CGPR	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
cNOS	Óxido nítrico sintase constitutiva
COX	Cicloxigenases
COX-1	Cicloxigenase-1
COX-2	Cicloxigenase-2
DTNB	Ácido ditio bis-2-nitrobenzóico
E. P. M.	Erro padrão da média
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EROs	Espécies Reativas de oxigênio
et al.	e colaboradores
EUA	Estados Unidos da América
ex	Exemplo
g	Gramma
GPx	Glutationa Peroxidase

GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa reduzida
GSSH	Glutationa oxidada
h	Hora
i.p.	Via intraperitoneal
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida
ISRS	Inibidores seletivos de receptores de serotonina
Kg	Kilograma
K _{ATP}	Canais de Potássio ATP-dependentes
LCC	Líquido da Casca da Castanha
L-NAME	NG-nitro-L-arginina-metilester
LTC ₄	Leucotrienos C ₄
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Milimol
NAC	N-acetilcisteína
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzido
NBT	Nitroblue-tetrazolium
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NO ²⁻	Nitrito
NO ³⁻	Nitrato
NOS	Óxido nítrico sintases
NP-SH	Níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos
p	Nível de significância
PG	Prostaglandina
pH	Potencial de hidrogênio
PG's	Prostaglandinas
PGD ₂	Prostaglandina D ₂
PGE ₁	Prostaglandina E ₁

PGE ₂	Prostaglandina E2
PGF ₂	Prostaglandina F2
PGI ₂	Prostaciclina
PKC	Proteína quinase C
PMN	Leucócitos polimorfonucleares
s.c.	Via subcutânea
SOD	Superóxido dismutase
SP	Substância P
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TLC	<i>Thin layer chromatography</i>
Tris-HCl	Hidroximetil-aminometano-ácido clorídrico
TRPV1	<i>Transient Receptor Potential Vanilloid 1</i>
USA	<i>United States of America</i>
UFC	Universidade Federal do Ceará
v.o.	Via oral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Produtos Naturais	21
1.2 Atividade nociceptiva	23
1.2.1 Dor	23
1.2.2 Fisiopatologia da dor	24
1.2.3 Sistemas modulatórios da dor	26
1.2.4 Dor inflamatória	27
1.3 Inflamação	28
1.3.1 Mediadores inflamatórios	30
1.4 Úlcera gástrica	33
1.4.1 Estômago e fisiologia da secreção gástrica.....	33
1.4.2 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica.....	34
1.4.2.1 Radicais livres e defesa antioxidante	35
1.4.3 Doença péptica ulcerosa e Úlcera gástrica.....	36
1.4.4 Pesquisa de drogas gastroprotetoras	38
1.5 Família Anacardiaceae	39
1.6 Lipídios fenólicos não- isoprenóides	40
1.7 <i>Anacardium occidentale</i> Linn	42
1.8 Ácidos anacárdicos	45
2. OBJETIVOS	50
2.1 Objetivo Geral	50
2.2 Objetivos Específicos	50
3. MATERIAIS	52
3.1 Material botânico	52
3.2 Animais experimentais	52
3.3 Aparelhos	53
3.4 Drogas e Reagentes	53
4. MÉTODOS	55
4.1 Obtenção dos ácidos anacárdicos	55
4.2 Avaliação da atividade antinociceptiva	56
4.2.1 Teste de contorções abdominais induzidas por Ácido Acético 0,6% em camundongos	56
4.2.2 Teste da formalina em camundongos	56
4.2.3 Teste de placa quente	56
4.2.4 Teste da Capsaicina	57
4.3 Avaliação da atividade antiinflamatória	57
4.3.1 Edema de pata induzido por carragenina em camundongos	57
4.3.2 Granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos	57
4.4 Avaliação da atividade gastroprotetora	58
4.4.1 Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	58
4.4.2 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos	58
4.4.3 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	59
4.4.4 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em	

camundongos	59
4.4.5 Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	60
4.4.6 Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	60
4.5 Avaliação dos ácidos anacárdicos em marcadores gástricos de estresse oxidativo em camundongos	61
4.5.1 Grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH)	61
4.5.2 Malondialdeído	61
4.5.3 Catalase	62
4.5.4 Superóxido dismutase	62
4.5.5 Nitrato/nitrito	62
4.6 Avaliação da secreção ácida gástrica pelo método de ligadura do piloro em ratos	63
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	63
6. RESULTADOS	65
6.1 Obtenção e identificação dos ácidos anacárdicos	65
6.2 Estudo da atividade antinociceptiva	66
6.2.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos	66
6.2.2 Teste da formalina em camundongos	66
6.2.3 Teste da placa quente em camundongos	69
6.2.4 Teste da capsaicina em camundongos	69
6.3 Estudo da atividade antiinflamatória	72
6.3.1 Edema de pata induzido por carragenina em camundongos	72
6.3.2. Granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos	75
6.4. Avaliação da atividade gastroprotetora	78
6.4.1 Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	78
6.4.2 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos	78
6.4.3 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	81
6.4.4 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	83
6.4.5 Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	85
6.4.6 Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	87
6.5. Avaliação dos ácidos anacárdicos em marcadores gástricos de estresse oxidativo... ..	89
6.5.1 Efeito dos ácidos anacárdicos nos níveis de NP-SH, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidação lipídica (MDA) e óxido nítrico em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos	89
6.6 Avaliação da atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos	92
7. DISCUSSÃO	95
8. CONCLUSÕES	112

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
10. ANEXO	147

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Produtos Naturais

Historicamente, pode-se dizer que os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque as civilizações Egípcia, Greco-romana e Chinesa. A história do Brasil está intimamente ligada ao comércio de produtos naturais (especiarias), os quais determinaram as várias disputas de posse da nova terra e, por fim, a colonização portuguesa. O profundo conhecimento da natureza pelos povos primitivos e pelos indígenas pode ser considerado fator fundamental para descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo. A convivência e o aprendizado com os mais diferentes grupos étnicos também contribuíram para o desenvolvimento de pesquisa na área de produtos naturais (VIEGAS-JR et al., 2006).

Os produtos naturais são fontes importantes de novos fármacos, podendo ser oriundos de plantas ou outras fontes biológicas, sendo mais notáveis os obtidos de plantas (CALIXTO, 2005; SCHMIDT et al., 2008).

As plantas possibilitaram a descoberta de vários medicamentos, como os alcalóides vimblastina e vincristina, isolados de *Catharanthus roseus* G., e a atropina obtida a partir de *Atropa belladonna*. Entre os anos de 1981 e 2002, de 877 novas moléculas introduzidas no mercado, em torno de 49% eram substâncias isoladas de produtos naturais, semi-sintéticos ou moléculas sintetizadas tomando como modelo estruturas de origem natural (NEWMAN et al., 2003).

Apesar do desenvolvimento da síntese química, as plantas continuam a servir como uma valiosa fonte de compostos terapêuticos devido à sua vasta capacidade biossintética; a principal vantagem é a sua composição complexa que consiste em coleções de compostos relacionados com atividades múltiplas que interagem para uma maior atividade total (SCHMIDT et al., 2008). Cerca de 30% das drogas avaliadas como agentes terapêuticos são

derivadas de produtos naturais, e boa parte das drogas prescritas no mundo são de origem vegetal (BALUNAS et al., 2005).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso de muitas comunidades e grupos étnicos para buscar a cura e alívio para as doenças que acometem o homem (MACIEL et al., 2002). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 80% da população mundial utiliza plantas medicinais, em sua maioria nos países em desenvolvimento (GURIB-FAKIM, 2006). No Brasil, 20% da população são responsáveis por 63% do consumo de medicamentos alopáticos, os 80% restantes encontram nos produtos de origem natural, especialmente as plantas medicinais, a única fonte de recursos terapêuticos (FOGLIO et al., 2006).

Apesar do uso de plantas medicinais e seus derivados ser bastante difundido, muitas espécies são usadas sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança. Em todo o mundo, apenas 17% das plantas foram estudadas de alguma maneira quanto ao seu emprego medicinal e, na maioria dos casos, sem grande aprofundamento nos aspectos fitoquímicos e farmacológicos (FOGLIO et al., 2006).

Graças às pesquisas com produtos naturais, os cientistas puderam compreender fenômenos complexos relacionados à biologia celular e molecular e à eletrofisiologia, permitindo que enzimas, receptores, canais iônicos e outras estruturas biológicas fossem identificados, isolados e clonados. Isso possibilitou à indústria farmacêutica produzir drogas dotadas de maior seletividade e também mais eficazes contra várias patologias de maior complexidade (CALIXTO, 2003).

O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo o detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, apresenta um enorme potencial para a descoberta de moléculas com importância terapêutica. Apesar de existir um grande número de grupos de pesquisa no país, contribuindo para desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas e da farmacologia de produtos naturais, inúmeras espécies vegetais ainda não foram estudadas (PINTO et al., 2002; YUNES et al., 2001).

1.2 Atividade nociceptiva

1.2.1 Dor

A Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP), em 1979, definia a dor como experiência sensorial e emocional desagradável, associada ao dano tecidual real ou potencial ou mesmo a nenhuma lesão, embora ainda assim descrita como termos sugestivos de que o dano tecidual tivesse de fato ocorrido. A mesma associação reformulou o conceito e atualmente postula que a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada ao dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termo de tal lesão.

A dor está presente como sintoma em muitas desordens clínicas, afetando uma grande parcela da população e sendo prejudicial à boa qualidade de vida. Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED), a dor afeta pelo menos 30% dos indivíduos durante algum momento da sua vida e em 10 a 40% deles, tem duração superior a um dia. Não existem dados estatísticos oficiais sobre a dor no Brasil, mas a sua ocorrência tem aumentado nos últimos anos, constituindo a causa principal de sofrimento e incapacitação para o trabalho e ocasionando graves conseqüências psicossociais e econômicas (SBED, 2009).

A dor pode ser classificada quanto à duração, localização e origem.

Sob o ponto de vista de duração, a sensação dolorosa pode ser classificada como do tipo transitória, aguda ou crônica. Na dor transitória: a ativação dos receptores da dor acontece na ausência de qualquer dano tecidual. A dor aguda tem função de alerta e caracteriza-se por combinar lesão tecidual, dor e ansiedade. É uma resposta normal causada por uma lesão do tecido com conseqüente ativação dos receptores no local da lesão, sendo que essa dor desaparece, até mesmo antes da reestabilização fisiológica do local lesionado, portanto é de curta duração. A dor crônica é de longa duração, sendo provocada por uma lesão ou doença que geralmente supera a capacidade de recuperação do organismo (GRAEFF, 1984; TEIXEIRA & PIMENTA, 1994 ; MELZACK; LOESER, 1999).

Quanto à localização, a dor pode ser classificada em somática ou visceral. A dor somática ocorre quando os estímulos que vão produzir a sensação de dor são oriundos da

periferia do corpo, enquanto a dor visceral ocorre quando os estímulos que vão produzir a sensação de dor provém das vísceras (RAJA et al., 1999).

Quanto à origem (fisiopatologia), a dor classifica-se em nociceptiva, neurogênica, neuropática, inflamatória e psicogênica. A dor nociceptiva ocorre quando existe um traumatismo nos receptores nociceptivos, devido a alterações na sua estrutura anátomo-funcional com liberação de substâncias algogênicas nos tecidos. A dor neurogênica é aquela que ocorre com o dano diretamente sobre as inervações. A dor neuropática é resultante do processamento somatossensorial anormal ao nível periférico ou central, como, por exemplo, a dor do membro fantasma. A dor inflamatória caracteriza-se pela sensibilização dos neurônios produzida pela ativação da cascata de citocinas e a dor psicogênica é aquela que não possui causa orgânica, mas se expressa em consequência de problemas psicológicos (MENEZES, 1999; RANG *et al.*, 2007).

1.2.2 Fisiopatologia da dor

Logo após um traumatismo, infecção ou outro fator, as terminações nervosas existentes no local afetado conduzem o estímulo doloroso por nervos até a medula espinhal. Deste local, o estímulo é levado até diferentes regiões do cérebro, onde é percebido como dor e transformado em respostas ao estímulo inicial. Esse mecanismo tem sua atividade regulada por um conjunto de substâncias produzidas no sistema nervoso, que se constitui no chamado sistema modulador de dor. Algumas dessas substâncias, como a serotonina e as endorfinas, agem sobre o sistema de transmissão da dor, aumentando ou diminuindo a sensação dolorosa (SBED, 2009).




A transmissão da dor está associada à atividade elétrica nas fibras nervosas aferentes primárias, que possuem terminações livres no tecido periférico (pele, músculos, articulações, vísceras, conjuntivo, dentre outros) (RANG *et al.*, 1991; JULIUS & BASBAUM, 2001). As terminações nervosas livres são receptores sensoriais especializados chamados de nociceptores (ativados por estímulos nocivos). Esses receptores possuem alto limiar de ativação, sendo então ativados por estímulos intensos que são danosos ou potencialmente danosos aos tecidos, e portanto, não são recrutados em estímulos inócuos (CAILLIET, 1993; DJOUHRI & LAWSON, 2004).

A percepção da dor é complexa, não envolvendo apenas a transdução de um estímulo nociceptivo, mas também processos emocionais e cognitivos em nosso cérebro (JULIUS & BASBAUM, 2001). Por envolver fatores fisiológicos e psicológicos, em animais, a dor é avaliada de forma indireta. Assim, o componente fisiológico da dor é chamado de nocicepção, e os modelos experimentais animais de dor são modelos de nocicepção (TJØLSEN et al., 1992).

Os nociceptores são representados por terminações livres de fibras mielínicas delgadas (fibras do tipo A δ ou tipo III) e fibras nervosas amielínicas (fibras tipo C ou tipo IV). As fibras A δ conduzem sinais de forma rápida (dor aguda e rápida), enquanto que as fibras tipo C apresentam condução lenta destes impulsos (dor lenta; queimação), onde esta última responde a uma ampla variedade de estímulos (mecânicos, químicos, térmicos e isquêmicos), sendo portanto também denominadas de nociceptores polimodais (NESS; GEBHART, 1990; GUYTON; HALL, 1997; RAJA *et al.*, 1999).

As fibras A β mielinizadas de grande diâmetro respondem aos estímulos inócuos (táteis, térmicos e proprioceptivos). Estas fibras, apesar de não detectarem estímulos nocivos, são capazes de modular a percepção da dor pelos nociceptores (JULIUS & BASBAUM, 2001; BASBAUM & JESSELL, 2003). Os tipos de fibras sensoriais podem ser observadas na **Figura 1**.

A estimulação dos nociceptores periféricos causa o envio da informação nociceptiva ao SNC através das fibras aferentes. Os longos axônios das fibras nociceptivas que se localizam em nervos periféricos estendem-se de seus corpos celulares contidos no gânglio da raiz dorsal. Após emergir de seu corpo celular, o axônio aferente primário bifurca-se para enviar prolongamentos à medula espinhal e para inervar os tecidos corporais (MILLAN, 1999).

Tipos de Fibras	A β	A δ	C
			
Mielinização	Muita	Pouca	Ausente
Diâmetro	10 μ m	2-6 μ m	0,4-1,2 μ m
Velocidade de condução	30-100 m/s	1,2-30 m/s	0,5-2 m/s
Tipo de sinal	Propiocepção toque leve	Nocicepção (mecânica e têrmica)	Nocicepção (mecânica, têrmica e química)

Fonte: JULIUS; BASBAUM (2001)

Figura 1 – Tipos de fibras sensoriais primárias responsáveis pela condução do sinal nociceptivo da periferia ao SNC (JULIUS & BASBAUM, 2001).

A transmissão sináptica entre neurônios aferentes primários e neurônios do corno dorsal da medula espinhal é mediada, principalmente, por glutamato atuando em receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e AMPA (α -amino-3-hidroxil-5-metil-4-isoxazoil ácido propiônico), além disso, outras substâncias podem modular a transmissão na medula (ATP, prostaglandinas, substância P) (DOUBELL *et al.*, 1999). Na medula, a transmissão dos sinais dolorosos após a liberação dos neurotransmissores envolve a participação de canais iônicos. Os principais canais envolvidos nesses efeitos são os canais de sódio, os canais de cálcio operados por voltagem e os canais de potássio (LEE *et al.*, 2005).

1.2.3 Sistemas modulatórios da dor

A dor pode ser controlada por mecanismos centrais, uma vez que o sistema nervoso possui circuitos modulatórios que modificam a percepção da dor. O local principal desta modulação é a medula espinhal, onde a interconexão entre vias nociceptivas e não-nociceptivas podem controlar a transmissão da informação nociceptiva para os centros supra-espinhais porém estruturas encefálicas também participam da analgesia (BASBAUM & JESSELL, 2003).

O corno dorsal da medula espinhal é o local onde neurônios eferentes serotoninérgicos e/ou noradrenérgicos fazem sinapses com os neurônios de projeção e interneurônios inibitórios encefalinérgicos. Ainda nesta região, a ativação de interneurônios inibitórios gabaérgicos inibe a liberação de neurotransmissores nociceptivos excitatórios (glutamato, substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina) por neurônios de projeção (MALCANGIO; BOWERY, 1996).

Os sistemas modulatórios são complexos e inúmeros, e além dos neurotransmissores já citados, agonistas de receptores D2 dopaminérgicos, de receptores serotoninérgicos 5-HT1A e de receptores muscarínicos M2 e M4 também estão envolvidos na modulação inibitória das vias ascendentes da transmissão nociceptiva (GAO *et al.*, 2001; MA *et al.*, 2001).

Além disso, a lesão tecidual ou nervosa acarreta a ativação de fibras aferentes primárias que aumentam a sensibilidade dos neurônios espinhais, desenvolvendo um fenômeno chamado de sensibilização central. Esta sensibilização resulta a ativação de vias intracelulares neuronais mediadas por proteína quinase C (PKC) e/ou tirosinas quinases, que atuam fosforilando e aumentando a atividade dos receptores NMDA, assim facilitando a transmissão sináptica (DOUBELL *et al.*, 1999).

Geralmente, a sensibilização central persiste até o término do estímulo nociceptivo periférico, mas há casos em que esse processo pode se prolongar mesmo após o desaparecimento do estímulo (DWORKIN *et al.*, 2003). O fenômeno de sensibilização central juntamente com o de sensibilização periférica medeia os processos de hiperalgesia e alodínia (TREEDE *et al.*, 1992). A hiperalgesia é a resposta excessiva a estímulos nocivos, enquanto que a alodínia é a resposta nociceptiva a estímulos não nocivos (KIDD; URBAN, 2001).

Além da sensibilização central, a sensibilização periférica contribui bastante para as alterações. O processo inflamatório é o principal responsável pela sensibilização periférica, pois a liberação de diversos mediadores inflamatórios interfere na atividade das fibras sensoriais aferentes, ativando diretamente o nociceptor ou reduzindo o seu limiar de ativação.

1.2.4 Dor inflamatória

Diversos mediadores do processo inflamatório apresentam atividades diferenciadas e complexas nos nociceptores, implicando uma grande interação entre o processo inflamatório e a dor (MOTA, 2008).

Vários mediadores químicos são liberados por células não neuronais e neuronais no local da injúria (substâncias algogênicas) e surgem em decorrência de processos inflamatórios traumáticos ou isquêmicos. Os mediadores não neuronais são geralmente histamina, serotonina, bradicinina, citocinas, eicosanóides, dentre outros; já os mediadores neuronais, são principalmente a substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGPR), sendo estes mediadores neuronais liberados do corpo celular para a periferia. O óxido nítrico também apresenta atividades significantes na nocicepção, porém os dados são contraditórios (MOTA, 2008). Dependendo da natureza e concentração do mediador, ele pode ativar diretamente o nociceptor e/ou reduzir seu limiar de ativação. As fibras mais associadas a este tipo de ativação são as fibras polimodais do tipo C e os nociceptores “silenciosos” (DAVIS *et al.*, 1989; HANDWERKER *et al.*, 1989; MCMAHON; KOLTZENBURG, 1990; FERREIRA 1993; CERVERO *et al.*, 1994; JULIUS *et al.*, 2001).

Neste contexto, as células residentes (principalmente macrófagos e mastócitos) têm papel primordial nesse processo, pois sinalizam a presença de injúria ou material estranho, através da liberação de vários mediadores inflamatórios, que além de atuar no nociceptor, recrutam células inflamatórias (polimorfonucleares, linfócitos) que produzem um efeito amplificador na inflamação e na nocicepção (FERREIRA, 1993).

1.3 Inflamação

Segundo Vilcek e Feldman (2004), a inflamação é um conjunto de alterações (nos vasos sanguíneos, nos tecidos e nos fluidos internos) provocadas por lesões, infecções, substâncias nocivas ou distúrbios orgânicos e está estreitamente interligada ao processo de reparação. Portanto, a inflamação consiste em um evento complexo, que consiste no reconhecimento do agente lesivo, para sua posterior destruição e tentativa de reconstruir o tecido danificado. O reconhecimento desencadeia a ativação e a amplificação do sistema imune, resultando na ativação de células e na liberação de vários mediadores responsáveis pela resposta inflamatória. No entanto, se a destruição do agente agressor e o processo de reparo não ocorrerem de maneira eficiente e sincronizada, a resposta inflamatória pode levar a uma lesão

tecidual persistente induzida pelo acúmulo de leucócitos, colágeno e outras substâncias que podem ser prejudiciais ao organismo (NATHAN, 2002).

A inflamação aguda é desencadeada logo após a instalação do agente agressor e é de duração relativamente curta, podendo durar minutos, horas ou mesmo dias, sua principal característica é a presença de exsudato rico em proteínas plasmáticas e a migração de leucócitos, principalmente os neutrófilos. Associado a isso, ocorre edema, dor e necrose. A inflamação crônica, porém, é de longa duração e está relacionada com algumas alterações histológicas, como presença de linfócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose do tecido (BAUHMANN; GAUDIE, 1994; COLLINS, 1999; RANG et al., 2003).

O processo inflamatório compreende dois eventos que ocorrem simultaneamente durante o curso evolutivo desta reação: eventos vasculares e celulares.

A inflamação envolve uma série de eventos complexos onde a mudança vascular é o que se inicia rapidamente e desenvolve-se durante as primeiras horas. Inicialmente, ocorre uma vasoconstrição transitória, seguida de vasodilatação, que é responsável pelo aumento do fluxo sanguíneo para a área lesada, o que provoca calor e eritema. Posteriormente, ocorre a estase sanguínea, advinda do aumento de permeabilidade da microvasculatura; a estase ocorre porque o extravasamento de líquidos e proteínas para o interstício provoca hemoconcentração, aumentando a viscosidade sanguínea e gerando o alentecimento da circulação. Esses eventos são desencadeados por vários mediadores químicos, incluindo-se a bradicinina, a serotonina, a histamina, prostaglandinas e óxido nítrico (NO) (MOTA, 2008).

Diversas são as células envolvidas no processo inflamatório, e algumas delas já estão presentes no tecido afetado, tais como: células endoteliais, mastócitos e células mononucleares residentes. Enquanto outras, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN) (neutrófilos, basófilos e eosinófilos) e mononucleares (monócitos e linfócitos) migram para o local da lesão. Os leucócitos migram para o local da lesão sob a influência de agentes quimioatratantes, em um processo conhecido como quimiotaxia, e aderem ao endotélio por meio de moléculas de aderência (COLLINS, 1999). Os macrófagos residentes participam de vários eventos da inflamação, como: fagocitose do agente agressor, liberação de vários

mediadores que desencadeiam outros eventos inflamatórios como edema e dor (FERREIRA, 1980) e iniciação da mobilização de neutrófilos em direção ao local agredido.

De um modo geral, a migração de leucócitos ocorre nas seguintes etapas: marginação, rolamento (adesão fraca), adesão firme, diapedese e quimiotaxia. Neste processo de migração, há participação de moléculas de adesão (selectinas, integrinas e imunoglobulinas), que são extremamente importantes na modulação da migração, pois possibilitam uma adesão do leucócito ao endotélio (McEVER, 1991).

Após a firme fixação, o leucócito migra entre as células endoteliais da região apical para a superfície basolateral (diapedese) em direção ao extravascular. Assim, após o extravasamento, os leucócitos emigram nos tecidos em direção à região de agressão por um processo denominado de quimiotaxia ou locomoção através de um gradiente químico. Esse processo é controlado por agentes quimiotáticos, tanto de origem endógena, que são aqueles liberados pelas próprias células do hospedeiro (como: componentes do sistema complemento, produtos da lipoxigenase, citocinas), quanto de origem exógena, que são aqueles advindos do próprio agente agressor (produtos bacterianos de origem lipídica) (RIBEIRO *et al.*, 1991; 1996).

1.3.1 Mediadores inflamatórios

Os mediadores inflamatórios atuam nos vasos sanguíneos e células inflamatórias modulando os principais eventos relacionados à inflamação: vasodilatação, quimiotaxia para células inflamatórias, destruição tecidual e dor, como também febre. Os mediadores plasmáticos (advindo das cascatas das cininas, coagulação, fibrinólise e complemento) estão presentes no plasma em formas precursoras e precisam ser ativados, em geral por uma série de clivagens proteolíticas, a fim de adquirir suas propriedades biológicas. Os mediadores oriundos de tecidos (aminas vasoativas, eicosanóides, enzimas lisossomais, radicais livres derivados do oxigênio, fator ativador de plaquetas, citocinas, quimiocinas, óxido nítrico e fatores de crescimento) estão seqüestrados nos grânulos intracelulares, que precisam ser secretados (por ex.: histamina nos grânulos dos mastócitos), ou são sintetizados em resposta a um estímulo (por ex.: prostaglandinas, citocinas) (COLLINS, 1999; LANSEN; HENSON, 1993; ROBBINS, 2000; DANTAS; SIQUEIRA, 2000).

A histamina encontra-se amplamente distribuída nos tecidos, sendo sua fonte mais rica os mastócitos, que estão normalmente presentes no tecido conjuntivo adjacente aos vasos sanguíneos. A liberação de histamina pelos mastócitos e basófilos é desencadeada por injúria tecidual, complexo antígeno-anticorpo e pelo sistema do complemento (YOKOYAMA *et al.*; 1989). A histamina causa dilatação das arteríolas e aumenta a permeabilidade vascular das vênulas, sendo considerada o principal mediador da fase imediata de aumento da permeabilidade vascular, atuando principalmente na microcirculação através de receptores H₁. A serotonina (5-hidroxitriptamina) é o segundo mediador vasoativo pré-formado com ações semelhantes às da histamina. Está presente nas plaquetas e células enterocromafins (seres humanos e roedores) e nos mastócitos (roedores) (COLLINS, 1999). A histamina e a serotonina estão envolvidas, portanto, na vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular no local da inflamação.

Segundo Yokoyama e seus colaboradores (1989), o sistema de cininas tem como função a ativação das plaquetas e produção de bradicinina e calicreína. A bradicinina, um potente agente vasoativo, produz vasodilatação, induzindo a liberação de fatores de óxido nítrico (NO), contração da musculatura lisa e produção de dor. A calicreína é um agente quimiotático para neutrófilos. O sistema do complemento participa da resposta imune adaptativa, porém pode ser ativado por uma via alternativa a partir de endotoxinas (lipossacarídeos de parede bacteriana) e por outros sistemas de enzimas plasmáticas (cascata das calicreínas, cascata da coagulação e cascata da fibrinólise). Tem função de opsonização de microorganismos e promove a degranulação de mastócitos e age como fator quimiotático de fagócitos.

As prostaglandinas (PG's) originadas da conversão do ácido araquidônico agem como importantes substâncias vasodilatadoras, além de estarem envolvidas na patogenia de dor, febre e inflamação. A PGE₂ é um mediador hiperalgésico, por tornar a célula neural hipersensível a estímulos dolorosos (DRAY, 1995), e age com citocinas na geração de febre durante infecções. A PGD₂ é o principal metabólito da via da ciclooxigenase nos mastócitos; juntamente com PGE₂ e PGF₂, causa vasodilatação e potencializa a formação de edema (COLLINS, 1999).

O óxido nítrico (NO) é um mediador inflamatório bastante versátil, apresentando efeitos pró e antiinflamatórios. O NO é um radical livre formado endogenamente por uma família de enzimas, as óxido nítrico sintases (NOS) (EISERICH *et al.*, 1998), através da conversão de L-arginina em L-citrulina. Nos líquidos orgânicos, o NO produzido se oxida produzindo ânions nitrito (NO^{2-}) e nitrato (NO^{3-}), seqüencialmente (IGNARO *et al.*, 1987; MONCADA *et al.*, 1991).

O óxido nítrico tem efeitos disseminados em respostas fisiológicas e inflamatórias. Nas células endoteliais, o NO produzido, difunde-se rapidamente para fora das células de origem para as células musculares lisas subjacentes, provocando relaxamento e, conseqüentemente, vasodilatação (IGNARO *et al.*, 1987; PALMER *et al.*, 1988). A vasodilatação que ocorre no processo inflamatório, induzida por diferentes agentes flogísticos (bradicinina, histamina, substância P, serotonina e trombina), é dependente da liberação de óxido nítrico (SICKER *et al.*, 2001; STOWE *et al.*, 2001; KARABUCAK *et al.*, 2005; WOTHERSPOON *et al.*, 2005; YOUSIF, 2005). Além de promover o relaxamento da musculatura lisa, o NO desempenha outros papéis importantes na inflamação. Reduz a agregação e adesão plaquetária e é citotóxico para determinados microorganismos e células tumorais (ROBBINS *et al.*, 2005).

As citocinas são importantes substâncias produtoras não só de inflamação, mas de uma grande variedade de efeitos biológicos. As citocinas atuam através de mecanismos autócrinos e parácrinos, na célula-alvo, ligam-se a receptores específicos e de alta afinidade, ativando-os; na maioria dos casos, são supra-regulados na célula quando são estimulados. A maioria das citocinas exerce ação em receptores ligados à quinase, que regulam cascatas de fosforilação afetando assim sua expressão gênica (PHILIP *et al.*, 2004). As citocinas são classificadas em subgrupos, como: interleucinas, fatores de crescimento, quimiocinas, interferons e fatores estimuladores de colônia ou ainda podem ser classificadas conforme sua atividade biológica como, por exemplo: próinflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α e TGF- β) e antiinflamatórias (IL-1Ra, IL-4 e IL-10) (CAVAILLON, 2001). Apesar de um grande número de citocinas atuar amplificando a inflamação e a dor, existem citocinas que agem modulando negativamente estes processos, desta forma, estas citocinas (antiinflamatórias e inibidoras de hiperalgesia) servem como agentes que equilibram durante o desenvolvimento de respostas nocivas. Dentre estas citam-se: IL-1-4; IL-6; IL-10; IL-13, TGF- β ; INF- γ (CAVAILLON, 2001).

Os neuropeptídeos liberados de neurônios sensitivos (ex.: substância P, neurocinina A) contribuem para as reações inflamatórias, constituindo o fenômeno conhecido como inflamação neurogênica, que está implicada na patogenia de diversas condições inflamatórias, como fase tardia da asma e doença inflamatória intestinal (MAGGI, 1996).

1.4 Úlcera gástrica

1.4.1 Estômago e fisiologia da secreção gástrica

O estômago é a maior dilatação do tubo digestivo, apresentando capacidade de um a dois litros e cuja forma varia conforme a posição do indivíduo. Apresenta como principal função a digestão enzimática (CASTRO, 1985). Anatomicamente, divide-se em: fundo gástrico, corpo do estômago, antro pilórico, canal pilórico e piloro. Internamente, sua mucosa é rica em pregas, denominadas rugas, que se ramificam e praticamente desaparecem quando o estômago está cheio (HAM, 1991).

O estômago secreta aproximadamente 2,5 litros de suco gástrico por dia. As principais secreções exócrinas são pepsinogênios, elaborados por células pépticas, HCl e fator intrínseco, secretados pelas células parietais ou oxínticas. A secreção de ácido gástrico é um processo contínuo e complexo, em que múltiplos fatores centrais e periféricos contribuem para uma meta comum: a secreção de H^+ pelas células parietais. Os fatores neuronais (acetilcolina), parácrinos (histamina) e endócrinos (gastrina) regulam a secreção ácida (HOOGERWERF & PASRICHA, 2006).

O ambiente ácido do estômago, além de participar da digestão, desempenha um papel importante ao impedir a entrada de microrganismos e, portanto, ao proteger o organismo de agentes infecciosos. No entanto, isso faz com que as mucosas estomacal e duodenal fiquem expostas à ação do ácido e da pepsina, responsáveis pelo início do processo de digestão. No estômago, em condições normais, há um equilíbrio entre fatores agressores (HCl, pepsina, *H. pylori* e bile) e gastroprotetores (muco, bicarbonato, fluxo sanguíneo, prostaglandinas, glutatona) (RANG et al., 2007; JAINU & DEVI, 2006; BIGHETTI et al., 2002).

1.4.2 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica

O estômago pode defender-se do prejuízo causado por agentes agressores através da ativação de várias linhas de defesa. Dentre elas, podemos citar a secreção de muco e bicarbonato, a microcirculação gástrica, o aumento de grupos sulfidrílicos na mucosa e defesas antioxidantes (BRZOZOWSKI et al., 2005).

Uma das importantes defesas das células epiteliais gástricas consiste na secreção de uma camada de muco. Células secretoras de muco são abundantes na superfície da mucosa gástrica. Íons bicarbonato são secretados pelas células epiteliais gástricas e são retidos no muco, formando um gel de proteção que mantém a superfície mucosa a um pH de 6-7, apesar de haver um ambiente muito mais ácido (pH 1.2) na luz do estômago (RANG et al., 2007). A secreção de bicarbonato é regulada por diversos fatores, tais como prostaglandinas, óxido nítrico, neurônios aferentes sensíveis a capsaicina, peptídeos e fatores neuronais (AIHARA et al., 2007).

As principais prostaglandinas secretadas pela mucosa gástrica são a prostaglandina E₂ (PGE₂) e a prostaciclina (PGI₂). Essas prostaglandinas atuam sobre o receptor prostanóide EP₃ nas células parietais e estimulam a via G inibitória (Gi), diminuindo, assim, o AMP cíclico intracelular e a secreção de ácido gástrico. A PGE₂ também evita a lesão gástrica através de efeitos citoprotetores, que incluem a estimulação da secreção de muco e bicarbonato e o aumento do fluxo sanguíneo da mucosa (HOOPERWERF & PASRICHA, 2006; AIHARA et al., 2007).

O óxido nítrico (NO) é um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica, devido a sua habilidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa e a produção de muco, além de inibir a aderência de neutrófilos às células endoteliais (CORUZZI et al., 2000). O NO é sintetizado pelas enzimas óxido nítrico sintases, que se apresentam de forma constitutiva (cNOS, presente em condições fisiológicas) e induzida (iNOS, expressa em resposta a estímulos patológicos). Embora a produção de NO pela cNOS seja importante na defesa da mucosa gástrica, recentes estudos demonstram que o NO atua de maneira bifásica na resposta ulcerogênica da mucosa gastrointestinal dependendo da isoforma da NOS, ou seja, o NO produzido pela cNOS apresentaria em efeito protetor, e o NO

originário da iNOS teria um efeito pró-ulcerogênico (NISHIO et al., 2006). O NO também é importante no controle da secreção ácida e alcalina, no fluxo sanguíneo gástrico e microcirculação gástrica e na secreção de muco (BAYIR et al., 2006; WALLACE, 2006).

Os fatores de crescimento são outro componente da defesa gástrica, eles estimulam importantes elementos celulares de cicatrização da úlcera como a angiogênese, formação de tecido de granulação e reepitelização, mas sua especificidade e potência variam (SZABO & VINCZE, 2000; TÉTREAULT et al., 2007).

1.4.2.1 Radicais livres e defesa antioxidante

Os radicais livres estão envolvidos na patofisiologia de várias doenças como: tumores, diabetes, infertilidade, úlceras e inflamações gástricas e causam danos oxidativos no DNA, lipídeos e proteínas (CHEN et al., 2006; FARIA, 2009).

O metabolismo de ácido araquidônico, macrófagos e neutrófilos geram espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem contribuir para danos causados na mucosa gástrica (ROSEN *et al.*, 1995). O desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, inclusive podendo resultar na morte celular (GUTTERIDGE, 1993; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2005).

A produção excessiva de radicais livres oxigenados, leva ao estresse oxidativo, bastante prejudicial ao organismo. Uma das principais consequências do estresse oxidativo é a peroxidação lipídica. O malondialdeído (MDA) é um dos produtos da peroxidação lipídica que é extremamente reativo, que pode reagir de forma eventual com o grupo amino das proteínas, fosfolipídeos ou ácidos nucleicos, provocando alterações estruturais nos constituintes celulares (MCBRIDE et al., 1988).

Os sequestradores de EROs são utilizados para proteger a mucosa gástrica do dano oxidativo e acelerar a cicatrização de úlceras. As defesas antioxidantes do organismo podem ser enzimáticas e não enzimáticas endógenas, e também podem vir da dieta (AUGUSTO,

2006). As enzimáticas são constituídas por superóxidos dismutases; catalases; GSH peroxidases; GSH redutases; peroxirredoxinas; tioredoxinas; enzimas de reparo, que sintetizam GSH e que repõe NADPH; enquanto as não-enzimáticas são GSH, ácido úrico e albumina. Dentre aquelas provenientes da dieta são encontrados: ácido ascórbico; α -tocoferol (vitamina E); β -caroteno; polifenóis, flavonóides, etc. Em condições normais, a concentração das EROs dentro das células é extremamente baixa pelo fato de existirem enzimas antioxidantes que as removem, ou impedem sua formação. Estes radicais tendem a ser eliminados do organismo pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) (MCCORD & FRIDOVICH, 1969; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2005; RODRIGUES, 2008).

Os compostos sulfidrílicos estão envolvidos na manutenção da integridade gástrica, principalmente quando as espécies reativas de oxigênio estão envolvidas (SZABO, 1991). A mucosa gástrica normalmente contém altas concentrações de glutathiona reduzida (GSH) que, atuando como antioxidante, desempenha papel importante na manutenção da integridade da mucosa no estômago. A GSH atua como um varredor de radicais livres e substâncias tóxicas ingeridas na alimentação e/ou produzidas diretamente no TGI. Desta forma, manter os níveis de GSH é importante para a integridade da mucosa gástrica (SHIRIN et al., 2001).

1.4.3 Doença péptica ulcerosa e Úlcera gástrica

A úlcera pode ser definida como uma abertura na mucosa do trato digestivo, que se estende através da musculatura da mucosa à submucosa ou mais profundamente (THOMOPOULOS et al., 2004). A doença ulcerosa péptica ou úlcera péptica é uma denominação genérica, geralmente usada para designar as úlceras que ocorrem principalmente no estômago e no intestino, embora as úlceras esofágicas, mesmo sendo raras, também possam ser consideradas úlceras pépticas (CAMPOS, 2008).

As úlceras localizadas no estômago são denominadas úlceras gástricas ou úlceras estomacais, podendo ser lesões agudas ou crônicas, representando um importante problema clínico. As lesões agudas gástricas podem ser variáveis em profundidade com interrupção e desprendimento do epitélio superficial (gastrite erosiva aguda) ou lesões profundas que

envolvem toda a espessura da mucosa se aprofundando além da muscular da mucosa (úlceras gástricas agudas). A úlcera gástrica crônica, geralmente é solitária (BERK et al., 1991). Nas formas mais graves da doença, pode ocorrer sangramento ou perfuração da parede gástrica com extravasamento de líquido gástrico para o saco peritoneal (THOMOPOULOS et al., 2004).

A etiologia da úlcera péptica está associada à bactéria *Helicobacter pylori*, ao consumo de antiinflamatórios não esteróides (AINEs), cujo efeito agressivo sobre a mucosa gastro-duodenal, por ação tóxica, sistêmica ou entero-hepática é bem conhecido e, mais raramente, à outras etiologias como gastrinoma (Síndrome de Zollinger-Ellisson) e forma duodenal de doença de Crohn (MÉGRAUD, 1993; BRAZER et al., 1990; HARRIS & MIZIEWICZ, 2001).

A patogenia da doença ulcerosa péptica consiste em desequilíbrio entre fatores agressivos, como o HCl, *Helicobacter pylori* e medicamentos como os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs), e fatores de defesa local, como secreção de muco, bicarbonato e prostaglandinas (NATALE et al., 2004; KASPER et al., 2005).

O *Helicobacter pylori* é uma bactéria gram-negativa que coloniza o estômago em mais de 80% da população em países em desenvolvimento, e de 40% em países industrializados. A infecção por *H. pylori* é reconhecida como o principal agente etiológico da gastrite ativa crônica e da doença ulcerosa péptica, e está ligada ao carcinoma gástrico. Estima-se que pacientes *Helicobacter pylori* positivos têm um risco de 10 a 20% de desenvolver a doença ulcerosa e de 1 a 2% de desenvolver câncer gástrico distal (CASTILLO-JUÁREZ et al., 2007; KUSTERS et al., 2006).

Quanto aos sintomas da úlcera péptica, consistem em dor epigástrica, tipo queimação, com ritmicidade, ou seja, com horário certo para seu aparecimento, estando relacionada ao ritmo alimentar, ocorrendo 2 a 3 horas após a alimentação ou à noite, e cedendo com o uso de alimentos ou alcalinos. Um fator discriminante importante é a ocorrência de dor noturna, tal sintoma aparece em aproximadamente 2/3 dos ulcerosos duodenais, mas é também encontrado em pacientes dispépticos funcionais. É importante salientar o caráter periódico da dor epigástrica, que pode durar vários dias ou semanas, desaparecer por semanas ou meses e

reaparecer meses ou anos depois, com as mesmas características anteriores. Porém, a sensibilidade e a especificidade dos sintomas clínicos para o diagnóstico de úlcera péptica variam de país para país (PETERSEN et al., 1988).

O tratamento das úlceras pépticas consiste em controle da bactéria *H.pylori*, bem como o controle da bomba de prótons (H^+/K^+ -ATPase), da reversão dos danos à mucosa e da inflamação (TOMA et al., 2002). Dentre as várias opções de drogas disponíveis para o tratamento da úlcera péptica, podemos citar os Antiácidos (ex: combinação de hidróxidos de alumínio e magnésio), Antagonistas dos receptores da histamina (H_2) (ex: Cimetidina, Ranitidina), Inibidores da bomba de prótons (exs.: Omeprazol, Lansoprazol), Sucralfato e Drogas contendo bismuto. Porém, muitos medicamentos utilizados no tratamento desta doença não são completamente efetivos e apresentam muitos efeitos adversos, além do alto custo desses medicamentos para o paciente (KASPER et al., 2005; TOMA et al., 2002); sendo importante a pesquisa de novos agentes antiulcerogênicos.

1.4.4 Pesquisa de drogas gastroprotetoras

As pesquisas sobre úlcera péptica do estômago e duodeno avançaram bastante nos últimos 20 anos devido à identificação de várias técnicas que têm facilitado o estudo da mucosa gástrica (BRZOZOWSKI et al., 2003). As lesões da mucosa podem ser induzidas por vários modelos experimentais, dentre eles: lesão gástrica induzida por etanol (ROBERT et al., 1979), lesão gástrica induzida por indometacina (RAINSFORD, 1982) e lesão gástrica induzida por estresse (TAKAGI et al., 1964; TAKAGI & OKABE, 1968). Além destes, existem outros modelos usados na pesquisa farmacológica, como o método da ligadura pilórica (REITMAN et al., 1970), determinação do muco da mucosa gástrica (CORNE et al., 1974) e efeito sobre a motilidade gastrointestinal (STICKNEY & NORTHUP, 1959).

O modelo de lesão gástrica induzida por etanol é amplamente utilizado para avaliação experimental de drogas antiulcerogênicas (PANDIAN et al., 2002). As lesões induzidas pelo etanol ocorrem predominantemente na parte glandular do estômago, com formação de leucotrienos C4 (LTC4), espécies reativas do oxigênio, produtos secretados pelos mastócitos, diminuição do muco e depleção de grupamentos sulfidrílicos, resultando em danos à mucosa gástrica (RAO et al., 2004). Este modelo é de grande importância para a pesquisa científica,

pois possibilita avaliar possíveis mecanismos pelos quais as substâncias promovem a gastroproteção.

O modelo de úlcera gástrica induzida por indometacina também é bastante utilizado. A administração intraperitoneal de indometacina reduz, significativamente, a secreção de prostaglandinas (PG's), bicarbonato e o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica em animais experimentais. A inibição das PG's predispõe o estômago e o duodeno à danos na mucosa, enquanto o estímulo das PG's pode exercer um papel de proteção. Assim, o efeito antiulcerogênico citoprotetor de uma droga pode ser mediado pelas PG's endógenas (SZABO & SZELENYI, 1987; TAN et al., 2002).

Através do uso destes modelos experimentais, nosso grupo de pesquisa demonstrou a atividade gastroprotetora de diversas plantas medicinais e de alguns compostos isolados a partir delas, como a atividade gastroprotetora do 1,8 cineol (SANTOS et al., 2001), do guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) (CAMPOS et al., 2003), do *Protium hepthaphyllum* e da mistura de alfa e beta-amirina (OLIVEIRA et al., 2004a; OLIVEIRA et al., 2004b), da mangiferina (CARVALHO, 2008) e da 3,6-dimetoxi-6'',6''-dimetil-[2'',3'':7,8]-cromenoflavona (CAMPOS, 2008).

1.5 Família Anacardiaceae

A Anacardiaceae é uma família botânica constituída por cerca de 76 gêneros e 600 espécies de árvores ou arbustos, conhecidas por serem frutíferas e apresentarem madeira de boa qualidade. Seus gêneros são subdivididos em cinco tribos (Anacardieae, Dobineae, Rhoae, Semecarpeae e Spondiadeae). Do ponto de vista químico, os gêneros mais estudados nesta família são *Mangifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea* (PIO CORRÊA, 1984; CORREIA et al., 2006).

O gênero *Anacardium* possui 11 espécies descritas, e *Anacardium occidentale* (cajuero) é seu representante mais conhecido, principalmente pela importância econômica. As outras espécies do gênero são pouco conhecidas e não apresentam tal importância (MITCHELL AND MORI, 1987; CORREIA et al., 2006).

Os gêneros *Mangifera*, *Rhus* e *Anacardium* destacam-se pelo número de investigações relativas à composição química de suas espécies e atividades biológicas de seus extratos e metabólitos. Duas classes de substâncias são características na família Anacardiaceae: flavonóides, especialmente biflavonóides, e lipídios fenólicos, podendo também ser encontrados terpenos, esteróides e xantonas (CORREIA et al., 2006).

1.6 Lipídios fenólicos não- isoprenóides

Os lipídios fenólicos e derivados são definidos como produtos naturais não-isoprênicos, que apresentam em sua estrutura grupos aromáticos e alifáticos e exibem ambos os comportamentos, hidrofílico e lipofílico. Normalmente são caracterizados pela presença de grupo fenol ligado a uma cadeia alquílica com número ímpar de carbonos (CORREIA et al., 2006).

Os lipídios fenólicos não-isoprenóides constituem uma classe especial de fenóis, contendo uma cadeia alquílica lateral que tem sua origem biossintética na rota dos policetídeos aromáticos. A subunidade aromática dos lipídios fenólicos é formada a partir de uma molécula de Acetil-CoA e três moléculas de malonil-CoA. O NADPH atua na redução do grupo carbonila para álcool que posteriormente, sofre desidratação. Uma nova molécula de malonil-CoA é incorporada e uma reação aldólica intramolecular ocorre com subsequente perda de água. A rota biossintética é finalizada por enolização, seguida de hidrólise (**Figura 2**) (DEWICK, 2002).

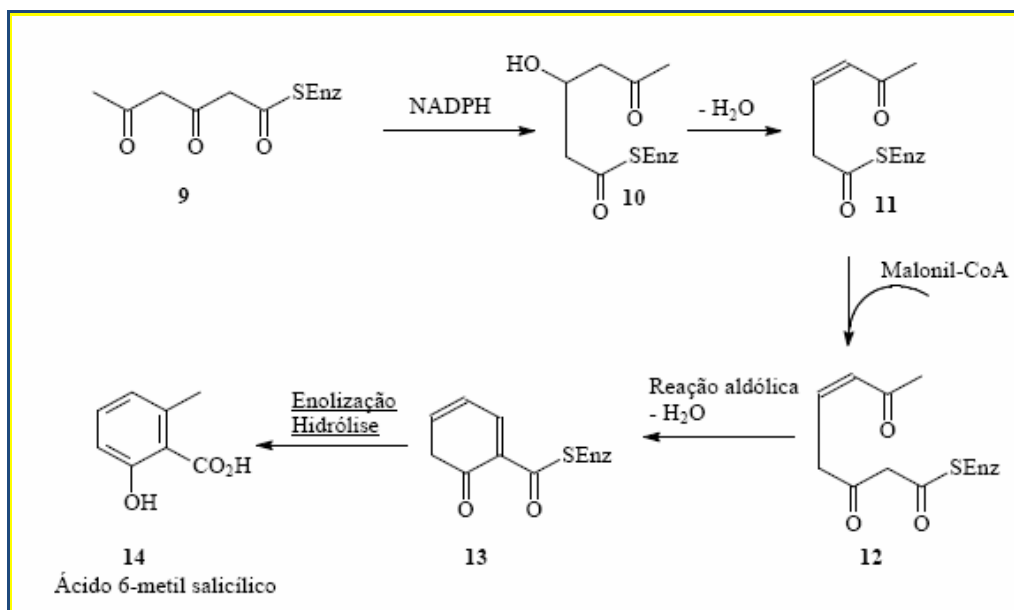


Figura 2. Rota biossintética dos lipídios não-isoprenóides (Fonte: GONZAGA, 2008)

Como exemplos de lipídios fenólicos não-isoprenóides, podemos citar o cardanol, o cardol, metilcardóis e ácidos anacárdicos (**Figura 3**), que têm sido bastante estudados na pesquisa científica. Os ácidos anacárdicos possuem diversas atividades biológicas relatadas na literatura, por exemplo a antimicrobiana (KUBO et al., 1993; MUROI & KUBO, 1993) e a inibidora de lipoxigenase (HA & KUBO, 2005). O cardanol é amplamente utilizado na síntese de polímeros, vernizes, surfactantes, borrachas e antioxidantes automotivos (DANTAS, 2003; MAFFEZZOLI, 2004; PATEL, 2006), além de possuir atividades moluscicida (KUBO, 1986) e antinematóide (TAKAISHI, 2004).

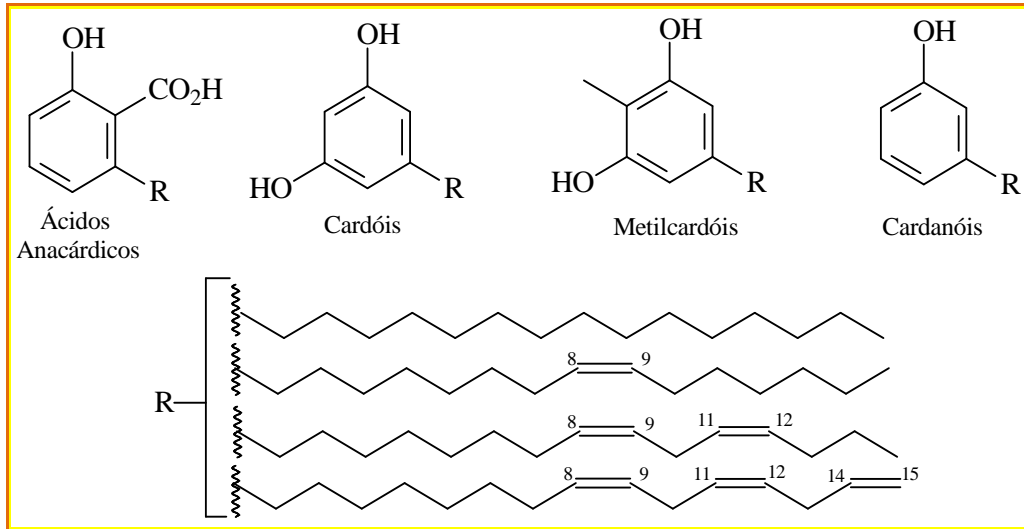


Figura 3 – Exemplos de Lipídios fenólicos não-isoprenóides

Os lipídios fenólicos não-isoprenóides são encontrados em várias espécies de plantas, como a *Ginkgo biloba*, primeira espécie onde foram encontrados esses lipídios. Também podem ser encontrados em grande percentagem na família Anacardiaceae, mais especificamente em *Anacardium occidentale*, espécie amplamente distribuída no Brasil e conhecida como cajueiro (CORREIA et al., 2006).

1.7 *Anacardium occidentale* Linn

Anacardium occidentale Linn, o cajueiro, pertence ao gênero *Anacardium*, da família Anacardiaceae. Popularmente, a *A. occidentale* é conhecida pelos nomes de caju, anacardo, acaju, cajuzeiro, cashew e cashew nut (inglês); anacardo, marañom e merli (espanhol), cajou (francês), anacardio (italiano) e kaju (hindú). Trata-se de uma planta nativa do Brasil que foi levada, nos séculos XVI e XVII, para a Índia, África e outras partes do mundo tropical. A árvore adaptou-se nessas regiões e tornou-se objeto de exploração por causa do pedúnculo (caju) e da castanha (amêndoa). O seu cultivo se dá em 26 países, principalmente Índia, Brasil, Vietnã, Tanzânia, Indonésia, Moçambique e Guiné-Bissau, sendo a Índia o maior produtor de caju do mundo, detendo quase 50% das exportações mundiais (MITCHELL & MORI, 1987; PEIXOTO, 1960; PARAMASHIVAPPA et al., 2001; DAS, 2003).

O cajueiro é uma planta perene capaz de viver mais de um século, de ramificação baixa e porte médio cuja copa atinge, no tipo comum, altura média de cinco a oito metros e diâmetro médio (envergadura) entre 12 e 14 m (**Figura 4**), mas dependendo do solo, o seu

desenvolvimento fica prejudicado, reduzindo seu porte e apresentando ramos tortuosos e emaranhados (LUBI, 2000). É uma planta com bom aproveitamento, visto que, além de fornecer o caju e a castanha, também possibilita o uso de madeira, da casca, da entrecasca e da folha.



Figura 4. Cajueiro



Figura 5. Ramo do cajueiro com pseudofruto

(Fonte: <http://www.unb.br/iq/litmo/fotos.htm>)

O fruto do cajueiro é a castanha, um aquênio de 3 a 5 cm de comprimento por 2 a 3,5 cm de largura, que pesa de 3 a 20 g, preso à extremidade de um pedúnculo hipertrofiado, carnoso e suculento, comumente chamado de maçã do cajueiro ou pseudofruto, usado como alimento (**Figura 5**).

A castanha é lisa, cinzenta e sua forma lembra a de um rim comprimido lateralmente (**Figura 6**), sendo subdivida em casca (pericarpo), película e amêndoa. Apresenta um mesocarpo espesso e alveolado, cheio de óleo viscoso, vermelho, acre, cáustico e inflamável: o Líquido da Casca da Castanha (LCC). O pericarpo (casca da castanha) compreende 50% do peso do fruto *in natura*, a amêndoa representa 25%, e os 25% remanescentes consistem do LCC. O endocarpo, uma película dura que protege a amêndoa é fonte rica em proteínas e componentes graxos (MITCHELL & MORI, 1987; TYMAN, 1991; SMITH et al., 2003).

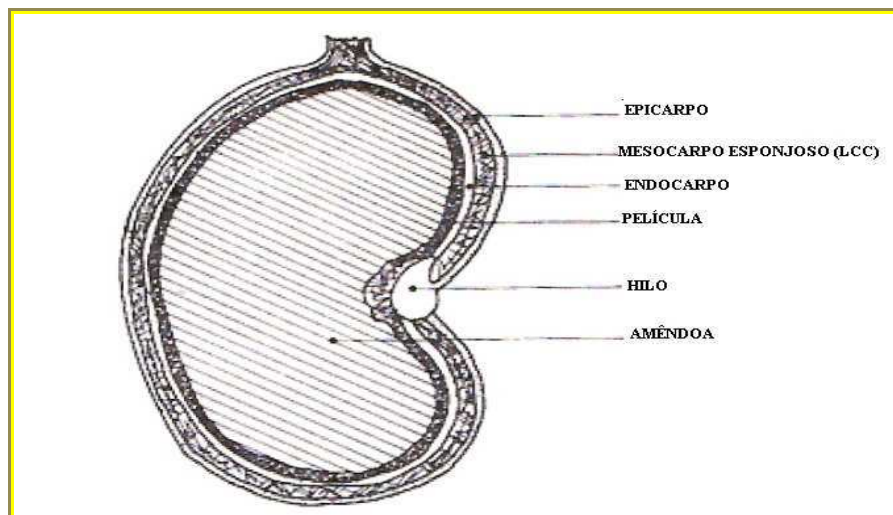


Figura 6 - Corte transversal esquemático da castanha de caju. (Fonte: <http://www.cnpat.embrapa.br/users/vitor/cajucultura/index.html>)

O líquido da casca da castanha (LCC) de caju comercial é um importante subproduto da produção agrícola da castanha do caju e é uma das fontes mais ricas em lipídios fenólicos não-isoprenóides, sendo constituído de ácidos anacárdicos, cardóis, cardanóis e metilcardóis (MITCHELL, 1987; LUBI, 2000; TREVISAN et al., 2006; DE LIMA, et al., 2008).

A qualidade do LCC é considerada um fator chave para garantir o desempenho dos seus derivados químicos. A quantidade e a qualidade do LCC no extrato bruto dependem do método de extração e das condições de acondicionamento das castanhas. Com base no modo de extração a partir da casca da castanha, o LCC é classificado em dois tipos: LCC natural e LCC técnico. O LCC natural é extraído através do uso de solventes ou prensagem, e o LCC técnico, à quente. Um típico material extraído com solvente (LCC natural) contém ácido anacárdico (60-65%), cardol (15-20%), cardanol (10%) e traços de 2-metil cardol. Já a composição do LCC técnico pode mudar e ter um maior conteúdo de cardanol (83-84%), menos cardol (8-11%), 10% de materiais poliméricos e 2% de 2-metil cardol, não apresentando ácidos anacárdicos, pois estes são instáveis termicamente. Existem ainda outros processos de extração de LCC, como extração por CO₂ super crítico (GEDAM & SAMPARHKUMARAN, 1986; DOS SANTOS & DE MAGALHÃES, 1999; IKEDA et al., 2002; KUMAR et al., 2002, PATEL et al., 2006).

O LCC tem despertado grande interesse em pesquisas no campo químico e biológico. Além de estarem presentes em plantas superiores, os lipídeos fenólicos do LCC são constituintes de fungos e organismos marinhos (VIEIRA, 2007).

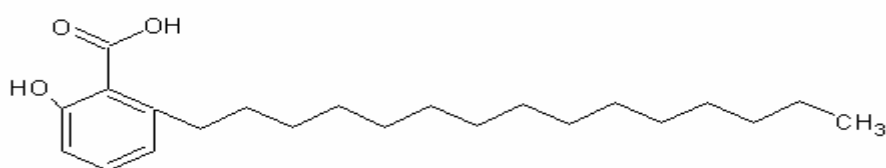
O interesse no cultivo do cajueiro tinha como objetivo inicial o processamento do pedúnculo para industrialização do suco, rico em açúcares, sais minerais, proteínas, vitamina C e taninos; e da castanha, para industrialização da amêndoa, fonte rica de proteínas e componentes graxos. Atualmente, a amêndoa é o principal produto de utilização do cajueiro, possuindo o maior significado comercial, com destacada produção em países como Índia, Brasil e Nigéria (SOARES, 1986; AZAM-ALI e JUDGE, 2001). Entretanto, também são derivados de grande importância o pedúnculo, a goma do cajueiro e o LCC, fonte de fenol utilizada para diversos fins nas indústrias de plástico, vernizes, isolantes, tintas e na indústria automotiva, nas formulações das lonas de freio (MARTINEZ & BARREIRA, 1992; LUBI, 2000).

No Brasil, a agroindústria do caju está concentrada na região Nordeste, que responde por mais de 95% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte os principais produtores. O agronegócio da castanha do caju representa uma parcela significativa da economia, garantindo empregos no meio rural (PESSOA, 2006).

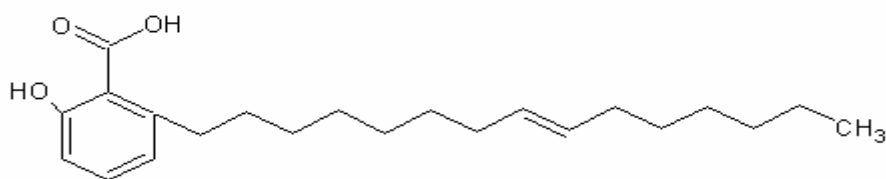
O cajueiro se destaca pelo seu uso popular como planta medicinal, sendo indicado para inflamações em geral, dor de dente, diarreia, tosse, dor de estômago, constipação, escorbuto, etc. No campo da pesquisa científica, a *Anacardium occidentale* L. tem sido bastante estudada, havendo relatos na literatura de diversas atividades biológicas desta planta, como: hipoglicêmica (SOKENG et al., 2001), antimicrobiana (AKINPELU, 2001), antioxidante (CAVALCANTE et al., 2003; TREVISAN et al., 2006), antiinflamatória (OLAJIDE et al., 2004), antiulcerogênica (KONAN & BACCHI, 2007) e anti-ofídica (USHANANDINI et al., 2009). As propriedades biológicas dos ácidos anacárdicos, isolados de *A. occidentale* L., também têm sido pesquisadas nos últimos anos.

1.8 Ácidos anacárdicos

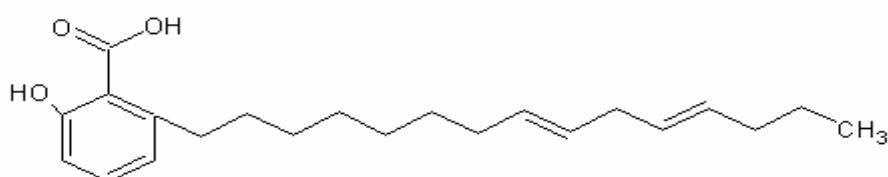
Os ácidos anacárdicos são uma mistura de compostos orgânicos estreitamente relacionados, onde cada um consiste de um ácido salicílico substituído com uma cadeia alquila contendo de 15-17 átomos de carbono. Os grupos alquílicos variam tanto no comprimento da cadeia como no grau de insaturação das mesmas, sendo mais freqüentes cadeias mono, di ou triinsaturadas (**Figura 7**). Os ácidos anacárdicos são, portanto, uma mistura de moléculas saturadas e insaturadas e esta mistura está relacionada à espécie da planta (PAUL & YEDDANAPALLI, 1954; NAIR et al., 1983). Devido à termolabilidade do grupo carboxílico, eles são prontamente descarboxilados durante aquecimento e, assim, tendem a se converter em cardanol (SHOBHA et al., 1992).



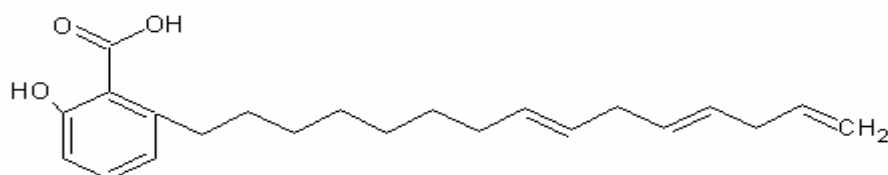
Ácido anacárdico (C_{15:0}) 1



Ácido anacárdico (C_{15:1}) 2



Ácido anacárdico (C_{15:2}) 3



Ácido anacárdico (C_{15:3}) 4

Figura 7. Estrutura química dos ácidos anacárdicos

Os ácidos anacárdicos são lipídios fenólicos não-isoprenóides encontrados em diversas plantas, como *Gingko biloba* e *Anacardium occidentale* L. No estudo de Trevisan et al. (2006), os ácidos anacárdicos, o cardanol e o cardol foram analisados em diversas partes do cajueiro: pedúnculo, amêndoa (tostada e crua) e no LCC. A maior quantidade do alquil fenólico principal, ácidos anacárdicos, foi detectado no LCC. A síntese de ácidos anacárdicos em laboratório vem sendo pesquisada e motivada pelas amplas aplicações destes compostos, nos campos biológico e industrial. Uma variedade de substratos tem sido utilizada para início da rota sintética destes compostos. As estratégias sintéticas utilizam substratos com o esqueleto benzênico em sua estrutura ou empregam reações de ciclização (VIEIRA, 2007).

Nos últimos anos, foram realizadas muitas pesquisas científicas com os ácidos anacárdicos, existindo, portanto, várias atividades biológicas relatadas na literatura, dentre elas, atividade antitumoral (ITOKAWA et al., 1987; ITOKAWA et al., 1989; KUBO et al., 1993a), de impedimento de danos oxidativos na mitocôndria do fígado (TOYOMIZU et al., 2000) e a habilidade em inibir algumas enzimas, como prostaglandina endoperoxido sintase (GRAZZINI et al., 1991), α -glucosidase, invertase e aldose redutase (TOYOMIZU et al., 1993), tirosinase (KUBO et al., 1994) e histona acetiltransferase (SUNG et al., 2008).

A atividade inibidora de xantina oxidase (MASUOKA & KUBO, 2004), uma enzima presente em altas concentrações na mucosa intestinal e no fígado, e em menores concentrações em outros tecidos, poderá impulsionar pesquisas da utilização de ácidos anacárdicos como possível agente terapêutico no tratamento de disfunções fisiológicas relacionadas ao excesso de ácido úrico no organismo. Esta enzima é responsável pela conversão de xantina e hipoxantina em ácido úrico, o qual é posteriormente convertido em uratos, que apresentam grande solubilidade em água (VIEIRA, 2007).

Outro exemplo interessante de inibição enzimática foi relatado por HA e KUBO, em 2005. O estudo mostrou o efeito inibidor de lipoxigenases pelos ácidos anacárdicos, o que abre mais possibilidades de pesquisas sobre atividades biológicas destes compostos.

Um estudo de Kubo e cols. (1993b) demonstrou que os ácidos anacárdicos exibiram atividade inibitória seletiva contra bactéria Gram-positiva quando comparados com o ácido salicílico. Esse último exibiu amplo espectro de atividade antimicrobiana, porém com alta

concentração inibitória mínima. A atividade em *Staphylococcus mutans* e *S. aureus* do ácido anacárdico foi mais efetiva que a do ácido salicílico. Nesse sentido, o ácido anacárdico deve ser considerado para uso prático, especialmente, para problemas de pele e dente causados por essas bactérias. Himejima & Kubo, em 1991 e Muroi & Kubo, em 1993, também estudaram a atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos. A ação antibacteriana dos ácidos anacárdicos contra *Staphylococcus aureus* metilina resistentes foi demonstrada por Kubo e cols. em 2003, e o efeito sinérgico do seu uso com metilina foi estudado por Muroi e cols. em 2004.

Recentemente, o ácido anacárdico saturado foi utilizado como matéria-prima na preparação de análogos do sildenafil, um fármaco utilizado no tratamento da disfunção erétil, conhecido comercialmente como Viagra® (PARAMASHIVAPPA et al., 2002).

Em um estudo feito por Trevisan e colaboradores, em 2006, foi pesquisada a atividade antioxidante dos ácidos anacárdicos. Como resultado, os ácidos anacárdicos mostraram grande capacidade antioxidativa, relacionada principalmente à inibição da geração de superóxidos, e atividade inibidora da xantina oxidase.

Outras atividades biológicas dos ácidos anacárdicos estão mencionadas na literatura, como atividade zoosporicida contra *Aphanomyces cochlioides* (BEGUM et al., 2002), anti-larvária (SCHULTZ, et al., 2006), moluscicida (SULLIVAN et al. 1982), antifúngica (PRITHIVIRAJ et al., 1997) e inseticida (MWALONGO et al., 1999); atividades que, em conjunto, motivam a nossa pesquisa farmacológica a partir dos ácidos anacárdicos.

OBJETIVOS

2.OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudo dos efeitos farmacológicos dos ácidos anacárdicos em modelos experimentais de nocicepção, inflamação e úlcera gástrica.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigação da atividade dos ácidos anacárdicos em modelos experimentais de nocicepção induzida por ácido acético, formalina, placa quente e capsaicina em camundongos.
- Investigação da atividade antiinflamatória dos ácidos anacárdicos em modelos experimentais de edema de pata induzido por carragenina e granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos.
- Investigação do efeito antiulcerogênico gástrico dos ácidos anacárdicos em modelos experimentais de úlcera gástrica induzidas por etanol absoluto e indometacina em camundongos.
- Avaliação da participação das prostaglandinas, do óxido nítrico (NO), dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) e do receptor TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.
- Avaliação dos ácidos anacárdicos em marcadores gástricos de estresse oxidativo (grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH), superóxido dismutase, catalase, malondialdeído e óxido nítrico) em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.
- Avaliação de uma possível atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura pilórica em ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS

3.1. Material botânico

As castanhas utilizadas para obtenção dos ácidos anacárdicos foram provenientes de cajus colhidos na Estação Experimental de Agroindústria Tropical da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), localizada em Paraipaba, Ceará, Brasil, durante a temporada de 2007. Os pseudofrutos eram provenientes de um cultivo comercial (CCP-76), cujo material genético é mantido em um banco de germoplasma da Embrapa. As castanhas foram separadas manualmente do caju. O Líquido da casca da castanha (LCC) foi extraído pelo Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, sob supervisão da Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan.

Os ácidos anacárdicos foram fornecidos pela Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

3.2 Animais experimentais

Foram utilizados camundongos albinos, Swiss, machos, pesando entre 25-30g, e ratos Wistar, machos, pesando entre 150-200g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC. Estes foram acondicionados em caixas de polipropileno, à temperatura de $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, com ciclos de claro/escuro de 12/12 h, recebendo ração padrão e água à vontade. Os animais foram mantidos em jejum de sólidos por 18 h, antes da realização dos experimentos.

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob número 78/08.

3.3 Aparelhos

Aparelho	Origem
Balança para animais (modelo MF-6)	Filizola, Brasil
Balança analítica (mod. AX-200)	Shimadzu, Japão
Banho-maria	Quimis, Brasil
Centrífuga refrigerada (mod. CT 5500 DR)	Cientec, Brasil
Espectrofotômetro (mod. B582)	Micronal, Brasil
Homogeneizador (mod. MA 102)	Marconi, Brasil
Paquímetro digital (100.174B)	Digimess, Brasil
Pipetas automáticas	Jencons Scientific Inc., USA

3.4 Drogas e Reagentes

Droga e Reagente	Origem
Ácido acético glacial P.A.	Quimex, Brasil
Ácido ditio bis-2-nitrobenzóico (DTNB)	Sigma, USA
Ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico	Sigma, USA
Ácido fosfórico	Vetec, Brasil
Ácido perclórico	Cinética, Brasil
Ácido tiobarbitúrico	Sigma, USA
Ácido tricloroacético	Sigma, USA
Álcool etílico absoluto 96%	Sigma, USA
Capsaicina	Sigma, USA
Capsazepina	Sigma, USA
Carragenina	Sigma, USA
Cimetidina	Hexal, Brasil
Cloreto de sódio	Vetec, Brasil
Cloreto de potássio	Vetec, Brasil

Diazóxido	Sigma, USA
Fenolftaleína	Reagen, Brasil
Formaldeído P.A.	Sigma, USA
Glibenclamida	Sigma, USA
Glutationa reduzida	Sigma, USA
Hidróxido de sódio	Reagen, Brasil
Hidroximetil-aminometano-ácido clorídrico	Sigma, USA
Indometacina	Sigma, USA
Ketamina (Cloridrato de ketamina - Dopalen®)	Vetbrands, Brasil
L-arginina	Sigma, USA
L- metionina	Vetec, Brasil
Misoprostol (Cytotec®)	Continental Pharma, Itália
Morfina (Sulfato de Morfina - Dimorf®)	Cristália, Brasil
N-acetilcisteína	Sigma, USA
Nitrito de sódio	Vetec, Brasil
Nitroblue-tetrazolium (NBT)	Sigma, USA
N- (1-naphthyl) ethylenediamide dihydrochloride	Sigma, USA
N-nitro-L-arginina-metilester (L-NAME)	Sigma, USA
Peróxido de hidrogênio	Dinâmica, Brasil
Riboflavina	Vetec, Brasil
Sulfanilamida	Sigma, USA
1,1,3,3- tetrametoxipropano	Sigma, USA
Tween 80	Riedel, Alemanha
Xilazina (Cloridrato de xilazina - Rompun®)	Bayer, Brasil

4. MÉTODOS

4.1 Obtenção dos ácidos anacárdicos

Os ácidos anacárdicos foram isolados de *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), pertencente à família Anacardiaceae, a partir do Líquido da Casca da Castanha de caju (LCC). As castanhas foram doadas pelo Dr. Edy Sousa de Brito (Embrapa).

O LCC foi obtido como uma mistura de ácidos anacárdicos, cardol e cardanol. Em seguida, procedeu-se ao isolamento dos ácidos anacárdicos.

O LCC extraído (20g) foi primeiramente dissolvido em metanol aquoso a 5% (120 mL) e hidróxido de cálcio (10g) foi adicionado sob agitação. A mistura obtida foi então mantida a 50°C, sob agitação, por 3 horas. A solução sobrenadante foi monitorada por TLC (*Thin layer chromatography*) pela ausência de ácidos anacárdicos. O precipitado anacardato de cálcio foi filtrado e lavado com metanol. Após a lavagem, o anacardato de cálcio foi dissolvido em água destilada acidificada com HCl 11M. A solução foi extraída com acetato de etila. A camada de acetato de etila foi lavada com água destilada, seca sobre sulfato anidro e concentrada sob pressão reduzida, a fim de produzir 12 g de mistura de ácidos anacárdicos, conforme descrito por Paramashivappa *et al.*, (2001). Todas as estruturas foram identificadas comparando os dados espectrais e físicos com os reportados anteriormente na literatura (TREVISAN *et al.*, 2006) e por comparação direta com amostras autênticas.

A obtenção dos ácidos anacárdicos foi realizada no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará pela Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan.

4.2 Avaliação da atividade antinociceptiva

4.2.1 Teste de contorções abdominais induzidas por Ácido Acético 0,6% em camundongos (Koster et al., 1959)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) ou ácido acetilsalicílico (AAS, 250 mg/Kg, v.o.). Após 45min dos tratamentos, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6% (10mL/kg). O número total de contorções abdominais foi determinado, por um período de 20min, começados a contar 10min após a administração do ácido acético.

4.2.2 Teste da formalina em camundongos (Hunskaar & Hole, 1987)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo, ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg,v.o.) ou morfina (7,5mg/kg, s.c.). Após 45 minutos da administração do veículo ou dos ácidos anacárdicos e 30 min após a administração de morfina, a nocicepção química foi induzida com uma injeção subplantar de formalina 1% (20µL/animal) na pata traseira direita. O tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata, foi registrado durante os períodos de 0-5 min (1ª. fase) e 20-25 min (2ª. fase) após administração da formalina.

4.2.3 Teste de placa quente (Eddy & Leimbach, 1953)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, foram pré-selecionados pela passagem individual em placa quente mantida à $51 \pm 0,5$ °C e aqueles que apresentaram tempo de reação (saltar ou lambe as patas traseiras) superior a 20seg foram descartados.

O tempo de reação foi registrado antes e 30, 60, 90 e 120 min após a administração de veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) ou morfina (7,5mg/kg, s.c.). O tempo de 45seg foi considerado como tempo máximo de reação para prevenir danos nas patas dos animais.

4.2.4 Teste da Capsaicina (Saadé et al., 2002)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.) ou ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/kg,v.o.) 45 min antes ou com vermelho de rutênio (3 mg/ Kg, s.c.) 30 min antes da injeção subplantar de capsaicina (1,6µg/pata; 20 µL) na pata traseira direita e o tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata, foi registrado durante o período de 0-5min após administração da capsaicina.

4.3 Avaliação da atividade antiinflamatória

4.3.1. Edema de pata induzido por carragenina em camundongos (Winter et al., 1962)

O edema de pata foi induzido em camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), por uma injeção subplantar de carragenina 1% (20µl/pata) na pata traseira direita. Veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) ou indometacina (5 mg/kg, v.o.) foram administrados 45 minutos antes da carragenina. O edema de pata foi medido com um Paquímetro digital (100.174B/ Digimess) nos tempos 1, 2, 3, 4, 5 e 24h após a injeção de carragenina. O edema foi expresso, em mm, pela diferença entre a medida da pata nos tempos 1, 2, 3, 4, 5 e 24h e a medida no tempo 0 (antes da administração da carragenina) .

4.3.2. Granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos (Winter and Porter, 1957)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo, ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/kg, v.o.) ou indometacina (5mg/kg, v.o.) e após 45min, os animais foram anestesiados com xilazina (10mg/kg, i.p.) mais ketamina (90m/kg, i.p.) e realizada uma incisão na região dorsal onde foram implantados dois pellets de algodão estéreis, de 20mg cada, um de cada lado da região dorsal. O tratamento foi continuado por um período de 7 dias. Ao final desse período, os animais foram sacrificados, os granulomas dissecados e tomados os pesos úmido e seco (37°C por 24h).

4.4. Avaliação da atividade gastroprotetora

4.4.1 Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos (Robert et al., 1979)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo (2% de Tween 80 em salina, 10 mL/Kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 ou 100 mg/Kg, v.o.) ou misoprostol (50 µg/Kg; v.o.) 45min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Decorridos 30 min após o etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos pela grande curvatura e o percentual de área gástrica lesionada foi determinado com o auxílio de um programa de planimetria computadorizada (ImageJ[®]). A área ulcerada foi expressa em termos de percentagem em relação à área total do corpo gástrico.

4.4.2 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos (Rainsford, 1982)

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo, ácidos anacárdicos (10, 30 ou 100 mg/Kg, v.o.) ou misoprostol (50 µg/Kg, v.o.) 45 min antes da administração oral de indometacina (30 mg/kg). Após 6 h da administração da indometacina, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, instilados com formalina a 5 % por 30 min e, em seguida, abertos pela grande curvatura, lavados em solução salina 0,9% e a extensão das lesões foi registrada, atribuindo-se escores, de acordo com a escala de Szabo et al. (1985) (**Quadro 1**).

Quadro 1. Determinação do índice de lesões gástricas induzidas por indometacina (SZABO et al., 1985).

Perda de pregas da mucosa	1 ponto
Descoloração da mucosa	1 ponto
Edema	1 ponto
Hemorragias	1 ponto
Número de petéquias	
• até 10	2 pontos
• mais de 10	3 pontos
Intensidade da ulceração	
• úlceras ou erosão de até 1mm	n x 2 pontos
• úlceras ou erosão maiores que 1mm	n x 3 pontos
• úlceras perfuradas	n x 4 pontos

n= número de úlceras encontradas

4.4.3 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo ou ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) 45min antes ou com L-arginina (600 mg/Kg, i.p.) ou L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/ animal, v.o.). Para avaliar o papel do óxido nítrico no efeito antiulcerogênico dos ácidos anacárdicos, foram realizadas combinações onde L-NAME (20 mg/kg, i.p.) foi administrado 15 min antes dos ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou L-arginina (600 mg/kg, i.p.). Decorridos 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos pela grande curvatura e analisados como o descrito anteriormente (item 4.4.1.).

4.4.4 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo ou ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) 45 min antes ou com diazóxido (3 mg/kg, i.p.) 30min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/ animal). Para avaliar a possível participação dos canais de K_{ATP} no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, foram realizadas combinações nas quais a glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.) foi administrada 30 min antes do tratamento com ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou diazóxido (3 mg/kg, i.p.). Após 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos pela grande curvatura e analisados como o descrito anteriormente (item 4.4.1.).

4.4.5 Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo, ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou misoprostol (50µg/Kg, v.o.) 45min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). A indometacina (10mg/Kg, v.o.) foi administrada 2h antes da administração dos ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou do misoprostol (50µg/Kg, v.o.). Após 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos pela grande curvatura e analisados como o descrito anteriormente (item 4.4.1.).

4.4.6 Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Camundongos Swiss, machos, com peso de 25-30 g, divididos em grupos (n=8), foram tratados com veículo, ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.) 45min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). A capsazepina (5 mg/Kg, i.p.) foi administrada 30 min antes do tratamento com ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.). Decorridos 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos pela grande curvatura e analisados como o descrito anteriormente (item 4.4.1.).

4.5. Avaliação dos ácidos anacárdicos em marcadores gástricos de estresse oxidativo em camundongos

4.5.1 Grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH) (Sedlak & Lindsay, 1968)

Para avaliar uma possível ação antioxidante no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, grupos de camundongos Swiss (n=8), machos, 25-30g, foram tratados com veículo ou ácidos anacárdicos (30mg/Kg, v.o.) 45 min antes ou N-acetilcisteína (750 mg/Kg, v.o.) 60 min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Um grupo tratado apenas com solução salina 0,9% foi incluído no estudo. Após 30 min da administração do etanol, os animais foram sacrificados e seus estômagos retirados. A porção glandular de cada estômago foi removida e homogeneizada com EDTA 0,02M gelado, para preparação do homogenato a 10%. Em seguida, foi adicionada a uma alíquota de 4 mL do homogenato, 3,2 mL de água destilada e 0,8 mL de ácido tricloroacético 50% e então as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 min. Um volume de 2 mL foi então retirado do sobrenadante e adicionado 4 mL de tampão Tris 0,4 M, pH 8,9 e 100 µL de DTNB 0,01 M. A absorbância foi medida dentro de 5 min a 412 nm. A concentração de NP-SH foi calculada através de uma curva padrão de glutatona reduzida (GSH) e os resultados expressos em µg de NP-SH/g de tecido.

4.5.2 Malondialdeído

A peroxidação lipídica da mucosa gástrica foi determinada por estimacão do malondialdeído (MDA) usando o teste do ácido tiobarbitúrico (Agar et al., 1999). A mucosa gástrica foi homogeneizada em tampão KCl 10% (pH 7,4) para preparação do homogenato a 10%. 250 µL do homogenato foi incubado em banho maria a 37°C por 60 min. Após a incubação, adicionou-se 400 µL de ácido perclórico 35% e as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm por 10 min. A 600 µL do sobrenadante foram adicionados 200 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%. A mistura foi levada a banho maria a 95-100°C por 30 min. Em seguida, a solução foi retirada e colocada à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm. A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano. Os resultados foram expressos como nanomoles de MDA por grama de tecido (nmol/g tecido).

4.5.3 Catalase

A atividade da catalase (CAT) foi medida de acordo com o método descrito por Aebi, 1994. 20µL do homogenato gástrico a 5% em tampão fosfato (50mM, pH 7) foram adicionados a 2 mL de tampão fosfato de potássio (50mM, pH 7) contendo H₂O₂ 10mM. A atividade da catalase foi definida como a quantidade da enzima requerida para decompor 1 nmol de H₂O₂ por minuto, a 25 °C e pH 7. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 230 nm. Os resultados foram expressos como milimols por minuto por grama de tecido (mmol/min/g tecido).

4.5.4 Superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica foi determinada como descrito por Beauchamp e Fridovich, 1971. Os estômagos foram homogeneizados em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7.8) para obtenção de um homogenato a 10% e centrifugados a 3600 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente (20 min, 12000rpm, 4°C). Numa câmara escura, foram misturados 1mL do meio de reação (tampão fosfato de potássio 50mM, 100nM EDTA e L-metionina 13mM pH 7,8), 10 µL da amostra (sobrenadante), 150µL do NBT 750 µM e 300 µL de riboflavina 2µM. Os tubos contendo a solução obtida foram expostos a lâmpada fluorescente (15W) por 15minutos. A absorbância foi medida a 560 nm. Os resultados foram expressos em unidades da enzima, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50%.

4.5.5 Nitrato/nitrito

Os níveis gástricos de óxido nítrico foram medidos como níveis totais de nitrato/nitrito com uso do reagente de Griess (Green et al., 1982). Os estômagos foram homogeneizados em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7.8) para obtenção de um homogenato a 10% e centrifugados a 11,000 x g por 15 minutos a 4°C. 100 µL do sobrenadante foram misturados a 100 µL do reagente de Griess (0,1% N-(1-naphthyl) ethylenediamide dihydrochloride, 1% sulfanilamida em ácido fosfórico 5%) e após 10 minutos a absorbância foi medida a 540nm. A curva padrão foi obtida usando nitrito de sódio. Os resultados foram expressos como

micromols nitrato/nitrito por grama de proteína. A concentração de proteína nas amostras foi determinada pelo ensaio de Bradford, 1976.

4.6. Avaliação da secreção ácida gástrica pelo método de ligadura do piloro em ratos

(Reitman et al., 1970)

Para avaliar uma possível atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos, ratos Wistar, machos, pesando entre 150- 200g, em jejum de sólidos de 12 h, com livre acesso à solução de glicose 5%, foram anestesiados com xilazina (10 mg/Kg, i.p.) mais ketamina (90 mg/Kg, i.p.), fixados em decúbito dorsal e realizada uma incisão de 2 cm na região epigástrica, o estômago foi localizado e o piloro amarrado. Veículo, ácidos anacárdicos (30 mg/Kg) ou cimetidina (100 mg/Kg) foram administrados, por via intraduodenal, em um volume de 2,5 mL/Kg, imediatamente após a ligadura do piloro. Transcorridas 4 horas da cirurgia, os animais foram sacrificados, a cárdia foi amarrada para evitar perda do material secretado e o estômago foi removido. O estômago foi lavado em água destilada, seco com papel de filtro e mantido em béquer sobre placa de gelo. O estômago foi seccionado ao longo da grande curvatura, e o suco gástrico recolhido em tubo de ensaio imerso em gelo. Os tubos foram centrifugados a 3500 rpm por 30 min. O sobrenadante do suco gástrico foi transferido para uma proveta e o volume foi verificado. A acidez total foi determinada através de titulação com NaOH 0,1N utilizando fenolftaleína como indicador ácido-básico.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para comparação múltipla dos dados paramétricos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Student Newman Keul. Para os dados não-paramétricos, os resultados foram expressos como mediana (mínimo - máximo) e analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1 Obtenção e identificação dos ácidos anacárdicos

A obtenção dos ácidos anacárdicos a partir de 20 g de líquido da casca da castanha (LCC) produziu 12 g da mistura de ácidos anacárdicos, o que corresponde a um rendimento de 60%.

As estruturas dos ácidos anacárdicos (**Figura 8**) foram identificadas por comparação de dados espectrais e físicos com os reportados anteriormente na literatura (TREVISAN *et al.*, 2006), e por comparação direta com amostras autênticas.

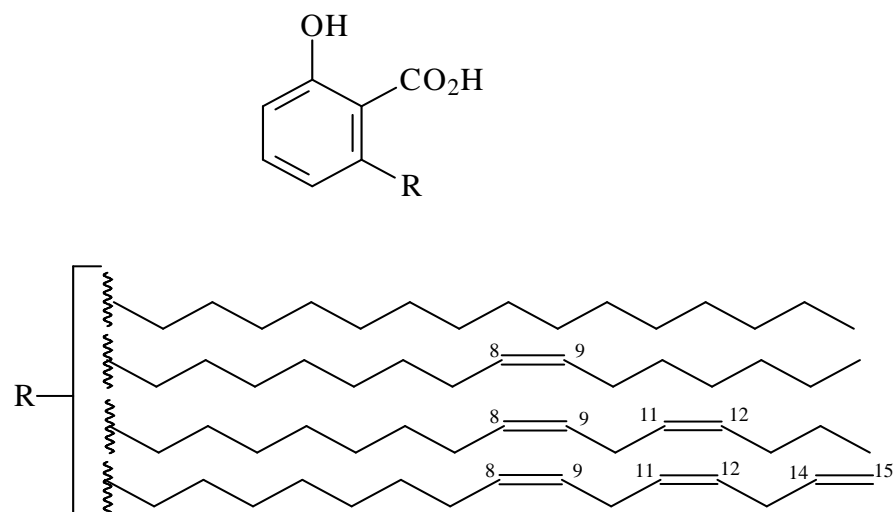


Figura 8 - Ácidos anacárdicos

6.2 Estudo da atividade antinociceptiva

6.2.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos

A **Tabela 1** e a **Figura 9** demonstram o efeito antinociceptivo da administração oral dos ácidos anacárdicos no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos. Os ácidos anacárdicos nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg, v.o., reduziram significativamente ($p < 0,05$) o número de contorções abdominais para $33,43 \pm 6,30$; $28,14 \pm 5,35$ e $26,57 \pm 2,84$ contorções abdominais/20 min, respectivamente, correspondendo a uma inibição de 33, 44 e 47% quando comparados ao veículo ($50,25 \pm 6,45$ contorções abdominais/20 min).

O ácido acetilsalicílico (AAS, 250 mg/Kg, v.o.), usado como controle positivo, reduziu significativamente ($p < 0,05$) o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético de $50,25 \pm 6,45$ (veículo) para $15,17 \pm 4,97$ contorções abdominais/20 min, mostrando uma redução de 70%.

6.2.2 Teste da formalina em camundongos

O efeito dos ácidos anacárdicos no teste de nocicepção induzida por formalina, em camundongos, está demonstrado na **Tabela 2** e na **Figura 10**.

Os ácidos anacárdicos nas doses de 30 e 100 mg/Kg, v.o., reduziram de forma significativa ($p < 0,05$) o tempo de lambadura da pata na 1ª fase do teste (0-5 min), representando uma redução de 29,2 e 35,8%, respectivamente, quando comparados ao grupo veículo. Na 2ª fase do teste (20-25 min), as doses de 10, 30 e 100 mg/Kg de ácidos anacárdicos reduziram significativamente o tempo de lambadura da pata quando comparadas ao grupo veículo, apresentando uma redução de 40, 42 e 71%, respectivamente.

A morfina, analgésico opióide usado como controle positivo, reduziu significativamente ($p < 0,05$) o tempo de lambadura da pata nas duas fases analisadas, obtendo uma redução de 93% na 1ª fase e de 95% na 2ª fase, quando comparada ao grupo veículo.

Tabela 1 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos.

Grupos	Dose , via	Número de contorções abdominais/20 min
Veículo	-	50,25 ± 6,45
Ácidos anacárdicos	10 mg/Kg; v.o.	33,43 ± 6,30 *
	30 mg/Kg; v.o.	28,14 ± 5,35 *
	100 mg/Kg; v.o.	26,57 ± 2,84 *
Ácido acetilsalicílico	250 mg/Kg ; v.o.	15,17 ± 4,97 *

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M) do número de contorções abdominais em 20 minutos de observação. Veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) e ácido acetilsalicílico (250 mg/Kg,v.o.) foram administrados 45min antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6% (10mL/Kg). *p<0,05 vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

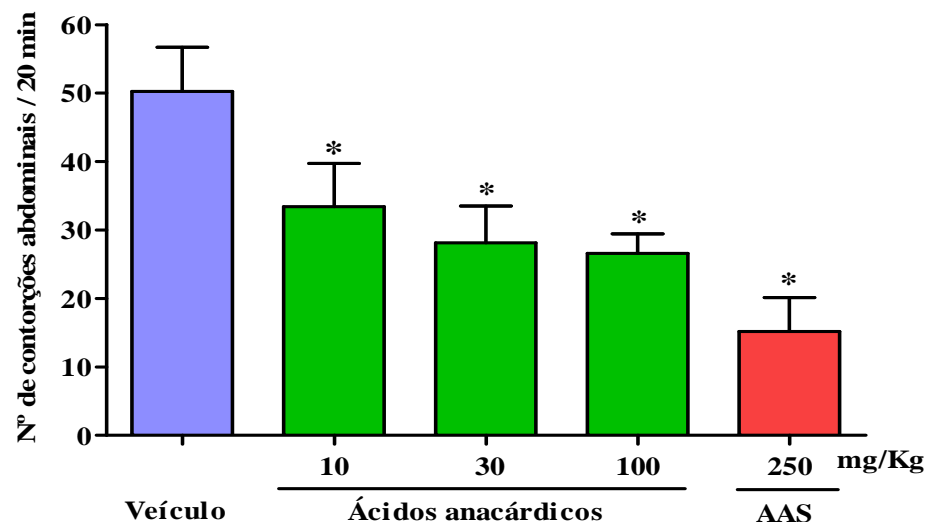


Figura 9 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% em camundongos. Veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) e ácido acetilsalicílico (AAS, 250 mg/Kg,v.o.) foram administrados 45min antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6% (10mL/Kg). Os valores representam a média ± E.P.M. do número de contorções abdominais obtidas em um período de 20min, começados a contar 10min após a administração do ácido acético. *p<0,05 vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul)

Tabela 2 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da formalina em camundongos.

Grupos	Dose (mg/Kg; via)	Tempo de lambedura da pata (segundos)	
		1ª fase	2ª fase
Veículo	-	84,38 ± 3,85	60,63 ± 5,42
Ácidos anacárdicos	10; v.o.	71,50 ± 4,35	36,17 ± 3,47 *
	30; v.o.	59,71 ± 5,86 *	35,43 ± 5,17 *
	100; v.o.	54,14 ± 8,56 *	17,38 ± 5,93 *
Morfina	7,5; s.c.	6,12 ± 2,78 *	3,12 ± 2,21 *

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M) do tempo de lambedura da pata em segundos. Os ácidos anacárdicos e o veículo foram administrados 45 min antes e a morfina 30 min antes da injeção de formalina 1% (20µL/animal) na pata traseira direita. O tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata foi registrado durante os períodos de 0-5 min (1ª. fase) e 20-25 min (2ª. fase) após administração da formalina. *p<0,05 veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

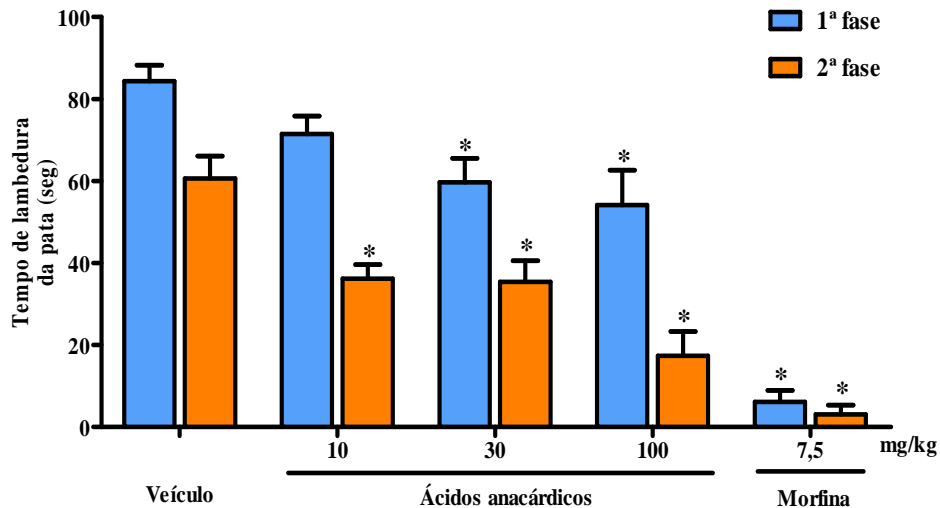


Figura 10 - Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da formalina em camundongos.

Veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.) ou ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) foram administrados 45min antes e morfina (7,5 mg/Kg, s.c.) 30 min antes da injeção subplantar de formalina 1% (20µL/animal) na pata traseira direita. Os valores representam a média ± E.P.M. do tempo de lambedura da pata, em segundos (seg), observado de 0-5 min (1ª fase) e de 20-25 min (2ª fase), após a injeção da formalina. * p<0,05 vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

6.2.3 Teste da placa quente em camundongos

O efeito dos ácidos anacárdicos no teste da placa quente, em camundongos, está demonstrado na **Tabela 3** e na **Figura 11**.

Os ácidos anacárdicos, nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg, v.o., prolongaram significativamente o tempo de reação à placa quente no tempo de 120 minutos após os tratamentos. A dose de 100 mg/Kg foi eficaz em prolongar o tempo de reação à placa em todos os tempos analisados. A morfina (7,5 mg/ Kg, s.c.), utilizada como controle positivo, prolongou significativamente o tempo de reação à placa quente, em todos os tempos analisados.

6.2.4 Teste da capsaicina em camundongos

O efeito dos ácidos anacárdicos no teste de nocicepção induzida por capsaicina, em camundongos, está demonstrado na **Tabela 4** e na **Figura 12**.

Os ácidos anacárdicos nas doses de 30 e 100 mg/Kg não reduziram de forma significativa o tempo de lambertura da pata após a injeção intraplantar de capsaicina. O vermelho de rutênio, utilizado como controle positivo, reduziu significativamente ($30,17 \pm 4,55$ seg) o tempo de lambertura da pata quando comparado ao grupo veículo ($66,43 \pm 7,45$ seg).

Tabela 3 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da placa quente em camundongos.

Tempo de Curso (min)	Grupos				
	Veículo	AA 10	AA 30	AA 100	Morfina
0	18,00 ± 1,18	18,00 ± 1,95	18,38 ± 3,19	19,83 ± 0,67	18,13 ± 1,31
30	16,00 ± 0,63	17,60 ± 1,08	20,00 ± 2,03	25,33 ± 3,44*	27,10 ± 2,10*
60	15,88 ± 1,72	18,88 ± 1,44	17,33 ± 1,50	21,50 ± 1,20*	29,20 ± 1,00*
90	17,83 ± 0,80	20,57 ± 2,52	22,75 ± 1,98	27,86 ± 3,16*	28,00 ± 1,87*
120	16,43 ± 1,70	23,43 ± 1,27*	23,88 ± 1,44*	24,33 ± 2,65*	25,00 ± 1,57*

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) do tempo de reação à placa quente em segundos. O tempo de reação dos animais à placa quente foi avaliado antes e 30, 60, 90 e 120 minutos após os tratamentos. Os animais receberam veículo, ácidos anacárdicos (AA; 10, 30 e 100 mg/Kg, v.o.) ou morfina (7,5 mg/Kg, s.c.). Os dados representam a média ± EPM. * p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

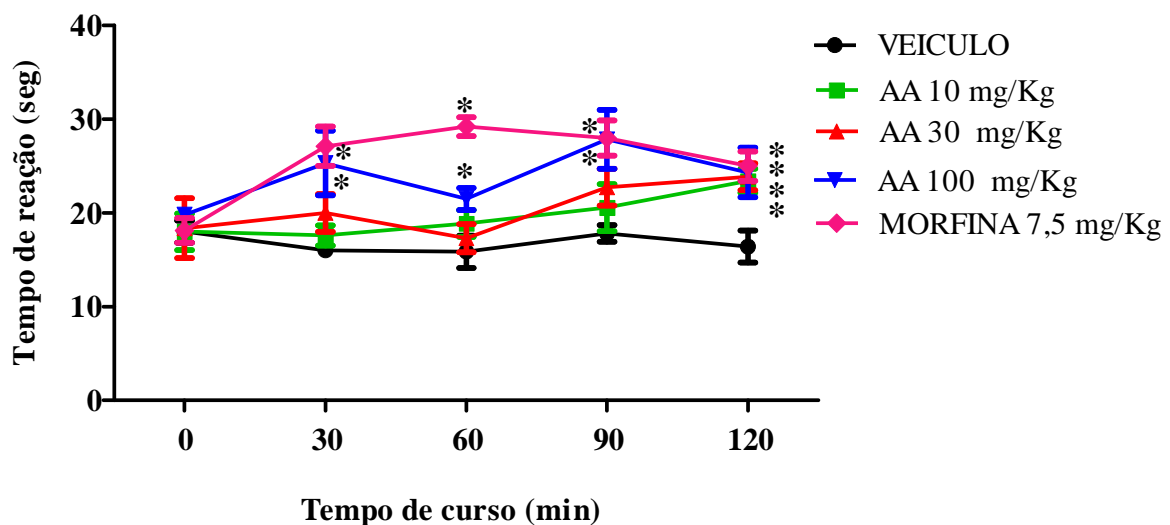


Figura 11 - Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da placa quente em camundongos. Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), Ácidos Anacárdicos (AA; 10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.) e morfina (7,5 mg/Kg, s.c.) foram administrados, e o tempo de reação dos animais à placa quente foi avaliado antes, 30, 60, 90 e 120 minutos após esses tratamentos. Os valores estão expressos como média ± E.P.M. do tempo de reação, em seg. * p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

Tabela 4 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da capsaicina em camundongos.

Grupos	Dose (mg/Kg, via)	Tempo de lambedura da pata (seg)/5min
Veículo	-	66,43 ± 7,45
Ácidos anacárdicos	30, v.o.	59,00 ± 7,21
	100, v.o.	60,17 ± 9,11
Vermelho de rutênio	3, s.c.	30,17 ± 4,55*

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M) do tempo de lambedura da pata em segundos. Os ácidos anacárdicos e o veículo foram administrados 45 min antes e o vermelho de rutênio 30 min antes da injeção de intraplantar de capsaicina 1,6 µg (20 µL). O tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata foi registrado durante 5 min após administração da capsaicina. Os dados representam a média ± EPM. * p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

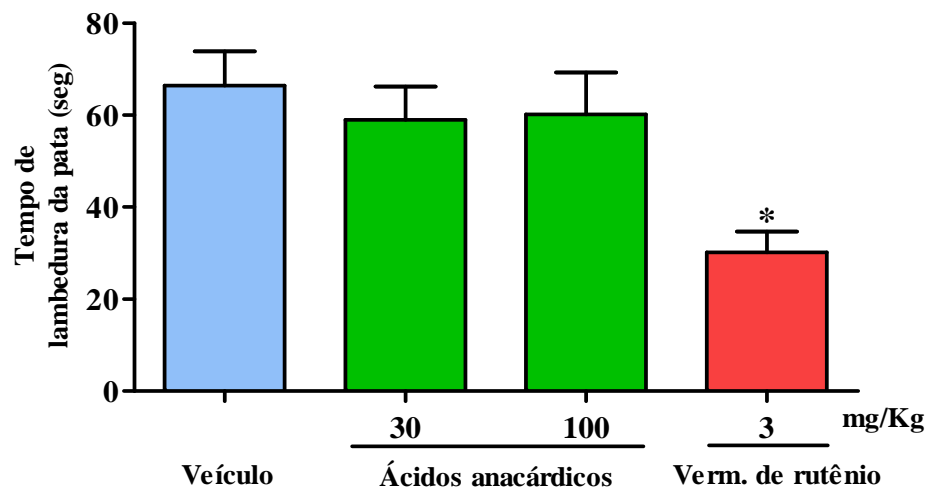


Figura 12 – Efeito dos ácidos anacárdicos no teste da capsaicina em camundongos. Ácidos Anacárdicos (30 e 100 mg/ Kg, v.o.) e Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.) foram administrados 45 min antes, e Vermelho de Rutênio (Verm. de rutênio, 3 mg/ Kg, s.c.) 30 min antes da capsaicina. O gráfico representa o tempo que o animal lambe a pata (em seg), durante 5 minutos, após a injeção intraplantar de capsaicina 1,6 µg (20 µL). Os dados representam a média ± EPM. * p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

6.3 Estudo da atividade antiinflamatória

6.3.1 Edema de pata induzido por carragenina em camundongos

O efeito dos ácidos anacárdicos no edema de pata induzido por carragenina, em camundongos, está demonstrado na **Tabela 5** e na **Figura 13**.

Os ácidos anacárdicos nas doses de 30 e 100 mg/Kg reduziram significativamente o edema de pata na 2ª hora após a injeção de carragenina para $0,74\pm 0,05$ mm e $0,65\pm 0,02$ mm respectivamente, quando comparados ao grupo veículo ($0,92\pm 0,07$ mm), correspondendo a uma inibição de 20 e 29 %. Na 4ª hora após a injeção de carragenina, as doses de 10, 30 e 100 mg/Kg reduziram de forma significativa o edema para $0,76\pm 0,03$; $0,76\pm 0,03$ e $0,70\pm 0,03$ mm (30, 30 e 36% de redução) respectivamente, quando comparadas ao grupo veículo ($1,09\pm 0,03$ mm). Os ácidos anacárdicos, nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg também reduziram de forma significativa o edema de pata na 5ª hora para $0,65\pm 0,03$; $0,64\pm 0,03$ e $0,63\pm 0,03$ mm (27; 28 e 29% de redução), respectivamente, quando comparados ao grupo veículo ($0,89\pm 0,07$ mm). O efeito dos ácidos anacárdicos na redução do edema de pata, com as doses de 10, 30 e 100 mg/Kg, também foi observado na 24ª hora após a indução pela carragenina, com reduções de 9; 10 e 34% respectivamente, quando comparados ao grupo veículo ($1,07\pm 0,02$ mm).

A indometacina, um antiinflamatório não-esteroidal, usada como controle positivo, reduziu de forma significativa o edema de pata quando comparada ao grupo veículo, em todos os períodos de observação.

Tabela 5 – Efeito dos ácidos anacárdicos no edema de pata induzido por carragenina em camundongos.

Grupo	Dose/via	Tempo (h)					
		1	2	3	4	5	24
Veículo		0,70±0,06	0,92±0,07	1,04±0,04	1,09±0,03	0,89±0,07	1,07±0,02
Ácidos anacárdicos	10, v.o.	0,54±0,05	0,79±0,04	1,04±0,03	0,76±0,03*	0,65±0,03*	0,97±0,04*
	30, v.o.	0,53±0,04	0,74±0,05*	1,03±0,02	0,76±0,03*	0,64±0,03*	0,96±0,03*
	100, v.o.	0,58±0,03	0,65±0,02*	1,03±0,04	0,70±0,03*	0,63±0,03*	0,94±0,01*
Indometacina	5, v.o.	0,35±0,05*	0,63±0,04*	0,82±0,05*	0,70±0,02*	0,61±0,03*	0,71±0,03*

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M) do edema de pata, em mm. A indução do edema foi realizada pela injeção subplantar de carragenina 1% (20 μ l/pata) na pata traseira direita. Veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/kg, v.o.) ou indometacina (5 mg/kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da carragenina. O edema foi expresso, em mm, pela diferença entre a medida da pata nos tempos 1, 2, 3, 4, 5 e 24h e a medida no tempo 0. Os dados representam a média \pm E.P.M. * p<0,05 vs grupo Veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

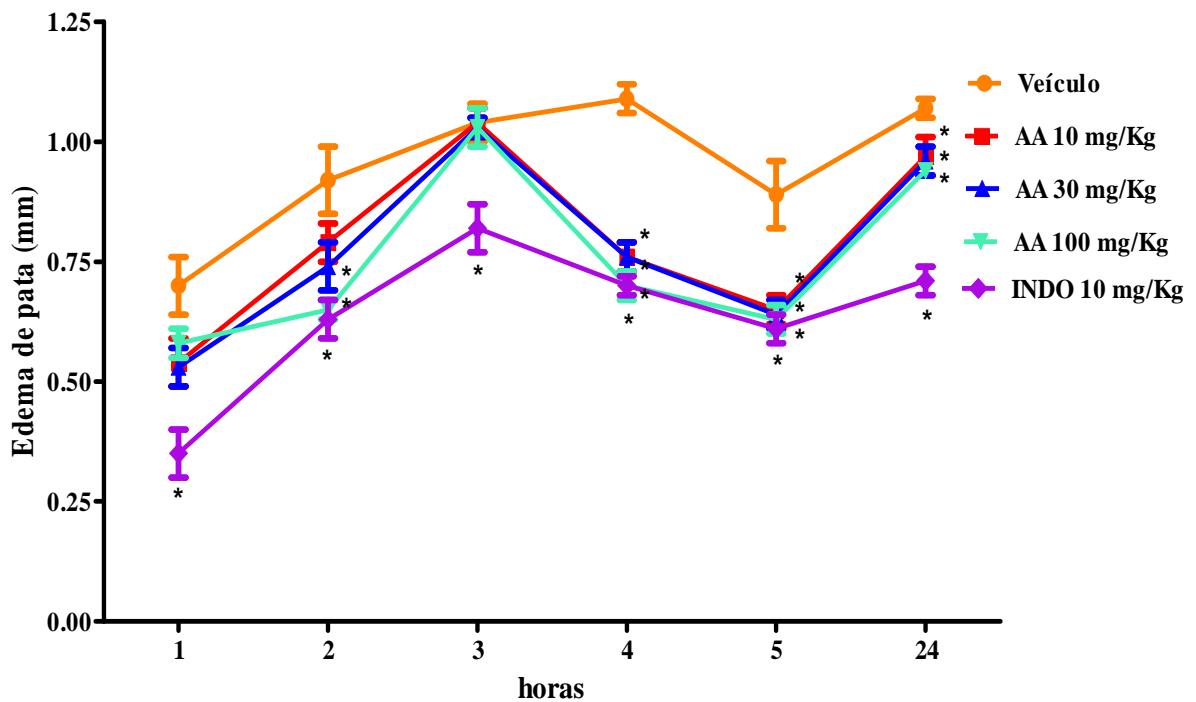


Figura 13 - Efeito dos ácidos anacárdicos no edema de pata induzido por carragenina em camundongos. Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), Ácidos Anacárdicos (AA; 10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.) e indometacina (INDO; 5mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da indução do edema por carragenina. O edema de pata foi medido com um Paquímetro digital (100.174B/ Digimess) 1, 2, 3, 4, 5 e 24h após a injeção subplantar de carragenina 1% (20 μ L/pata). O edema foi expresso, em mm, pela diferença entre a medida da pata nos tempos 1, 2, 3, 4, 5 e 24h e a medida no tempo 0 (antes da carragenina). Os valores estão expressos como média \pm E.P.M. do edema de pata, em mm. * $p < 0,05$ vs grupo Veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

6.3.2. Granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos

O efeito antiinflamatório dos ácidos anacárdicos no modelo do granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos está mostrado na **Tabela 6** e na **Figura 14**.

Os ácidos anacárdicos nas doses de 30 e 100 mg/Kg, v.o., reduziram de forma significativa em 13% e 17%, respectivamente, o peso úmido, assim como em 13% e 16%, respectivamente, o peso seco dos pellets de algodão, quando comparado ao grupo veículo.

A indometacina, usada como controle positivo, reduziu de forma significativa os pesos úmido e seco dos pellets, em 25 % e 16 %, respectivamente.

Tabela 6 - Efeito dos ácidos anacárdicos no granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos.

Grupos	Dose (mg/Kg, via)	Peso dos pellets (mg)	
		Úmido	Seco
Veículo	-	264,2 ± 13,09	61,99 ± 2,94
Ácidos anacárdicos	30, v.o.	230,9 ± 6,68 *	54,20 ± 1,86 *
	100, v.o.	220,6 ± 8,54 *	52,00 ± 1,95 *
Indometacina	5, v.o.	197,2 ± 4,70 *	51,85 ± 1,71 *

O resultado representa os pesos úmido e seco dos pellets, após 7 dias de tratamento. Os dados representam a média ± EPM. Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/ Kg, v.o.) e indometacina (5 mg/Kg, v.o.) foram administrados por 7 dias. * p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

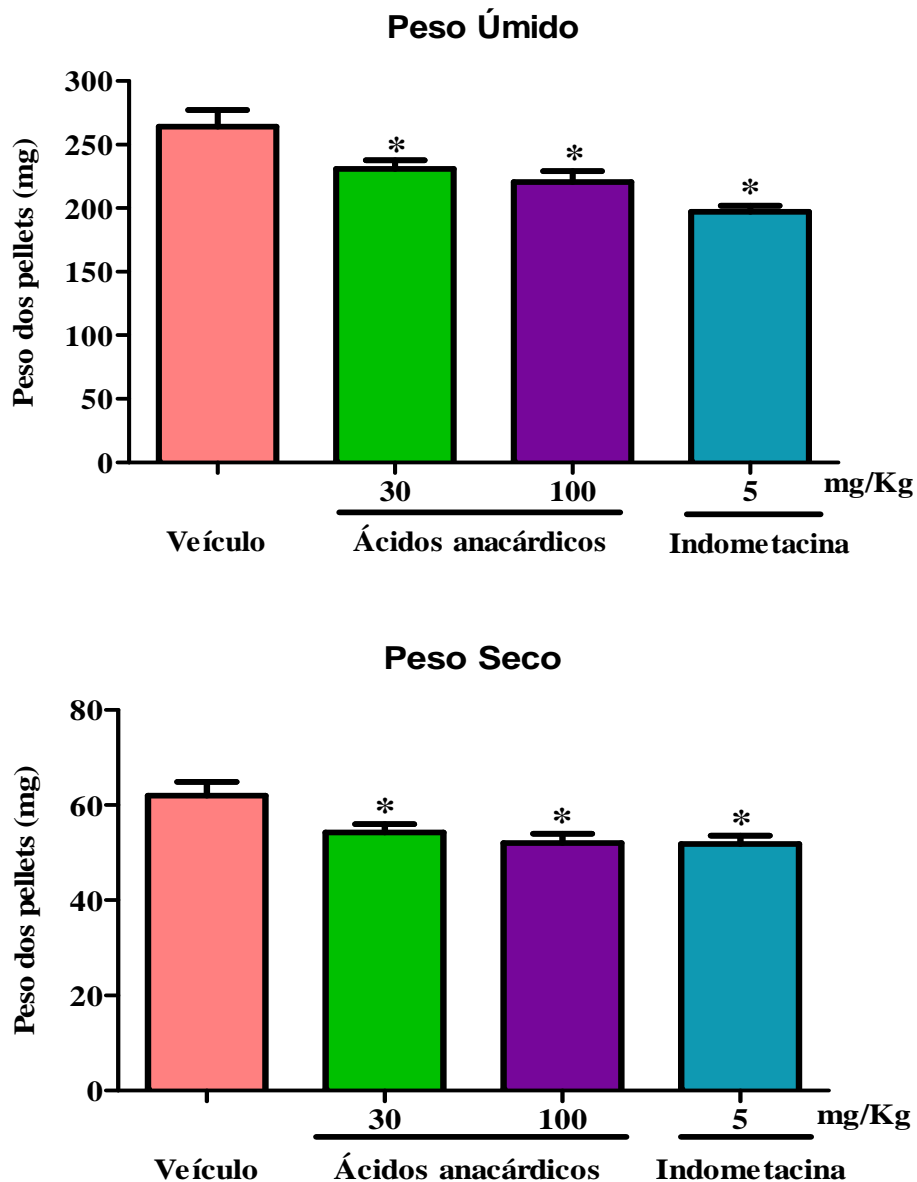


Figura 14 – Efeito dos ácidos anacárdicos no granuloma induzido por pellet de algodão em camundongos. Ácidos Anacárdicos (30 e 100 mg/ Kg, v.o.), Indometacina (5 mg/Kg, v.o.) ou Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.) foram administrados, e após 45min, os animais foram anestesiados com xilazina (10mg/kg, i.p.) e ketamina (90mg/kg, i.p.), e realizada uma incisão na região dorsal para implantação de dois pellets de algodão estéreis, de 20mg cada. O tratamento foi continuado por 7 dias. Ao final desse período, os animais foram sacrificados e tomados os pesos úmido e seco (37°C por 24h) dos pellets. O resultado representa os pesos úmido e seco dos pellets, após 7 dias de tratamento. Os dados representam a média \pm EPM. * $p < 0,05$ vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

6.4. Avaliação da atividade gastroprotetora

6.4.1 Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol está mostrado na **Tabela 7** e na **Figura 15**.

Os animais que receberam apenas veículo mostraram, após a administração oral do etanol absoluto, extensa área de lesão da mucosa gástrica. Os ácidos anacárdicos nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg, v.o., reduziram de forma significativa o percentual de área ulcerada para $15,30 \pm 0,93$; $7,46 \pm 0,86$ e $3,52 \pm 0,46\%$, respectivamente, quando comparado ao grupo controle ($20,49 \pm 2,28 \%$), o que corresponde a um percentual de inibição de 25, 64 e 83 %, respectivamente.

O misoprostol (50 μ g/Kg, v.o), usado como controle positivo, reduziu significativamente as lesões gástricas ($7,62 \pm 0,56 \%$), quando comparado ao grupo controle ($20,49 \pm 2,28 \%$), o que corresponde a uma redução de 63 %.

6.4.2 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos

O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por indometacina está mostrado na **Tabela 8** e na **Figura 16**.

Os animais que receberam apenas veículo mostraram, após a administração oral da indometacina (30 mg/Kg), elevado índice de lesão gástrica com base nos escores obtidos a partir da escala de Szabo et al. (1985). Os ácidos anacárdicos, nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg, v.o., onde as medianas relacionadas aos escores obtidos foram 41,6 (34,0 a 53,0), 30,8 (17,00 a 38,0) e 26,2 (17,0 a 35,0), respectivamente, reduziram de forma significativa o índice de lesão gástrica em comparação com o grupo controle que, por sua vez, apresentou mediana 52,7 (35,0 a 68,0).

O misoprostol reduziu de forma significativa o índice de lesão gástrica, apresentando mediana de 20,4 (13,0 a 31,0), em comparação ao grupo controle 52,7 (35,0 a 68,0).

Tabela 7 - Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Grupos	Dose , via	Área gástrica ulcerada (%)
Veículo	-	20,49 ± 2,28
Ácidos anacárdicos	10 mg/Kg, v.o.	15,30 ± 0,93 *
	30 mg/Kg, v.o.	7,46 ± 0,86 *
	100 mg/Kg, v.o.	3,52 ± 0,46 *
Misoprostol	50µg/Kg , v.o.	7,62 ± 0,56 *

Os dados representam a média ± EPM. Camundongos foram tratados com veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.) ou misoprostol (50µg/Kg; v.o.) 45 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 ml/animal). O percentual de área gástrica lesionada foi determinado com o auxílio de um programa de planimetria computadorizada (ImageJ[®]). *p<0,05 vs grupo veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

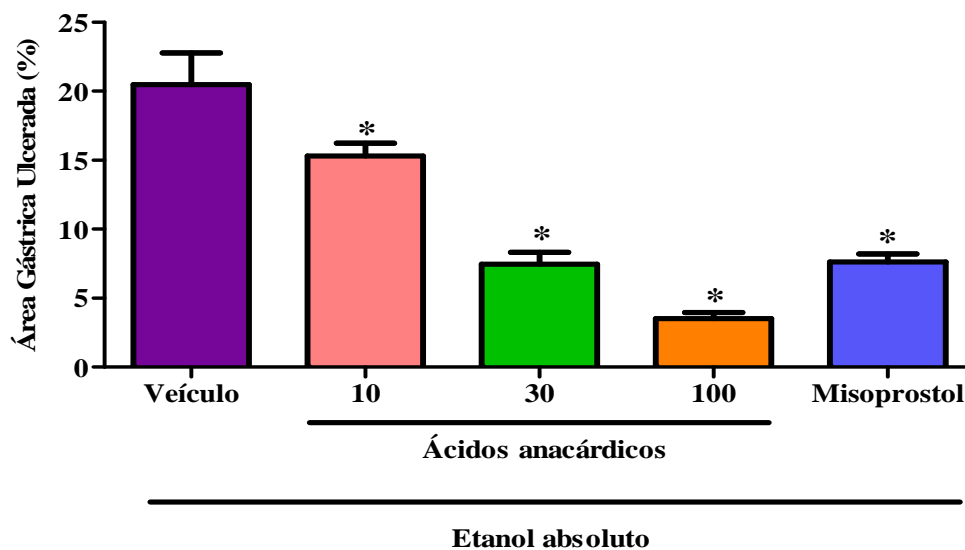


Figura 15 - Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.) ou misoprostol (50µg/Kg , v.o.) foram administrados 45 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 ml/animal). O percentual de área gástrica lesionada foi determinado com o auxílio de um programa de planimetria computadorizada (ImageJ[®]). Os dados representam a média ± E.P.M. *p < 0,05 vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

Tabela 8 - Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.

Grupos	Dose , via	Escores de lesão gástrica
Veículo	-	52,7 (35,0 - 68,0)
Ácidos anacárdicos	10 mg/Kg, v.o.	41,6 (34,0 - 53,0) *
	30 mg/Kg, v.o.	30,8 (17,0 - 38,0) *
	100 mg/Kg, v.o.	26,2 (17,0 - 35,0) *
Misoprostol	50µg/Kg , v.o.	20,4 (13,0 - 31,0) *

Os valores estão expressos como a mediana (mínimo – máximo) do índice de lesão gástrica. Ácidos Anacárdicos (10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.), Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.) ou Misoprostol (50µg/Kg , v.o.) foram administrados 45 minutos antes da administração de indometacina (30 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 6h após a administração da indometacina. Foram utilizados 8 animais por grupo. * $p < 0,05$ vs veículo (Kruskall Wallis e Teste de Dunn).

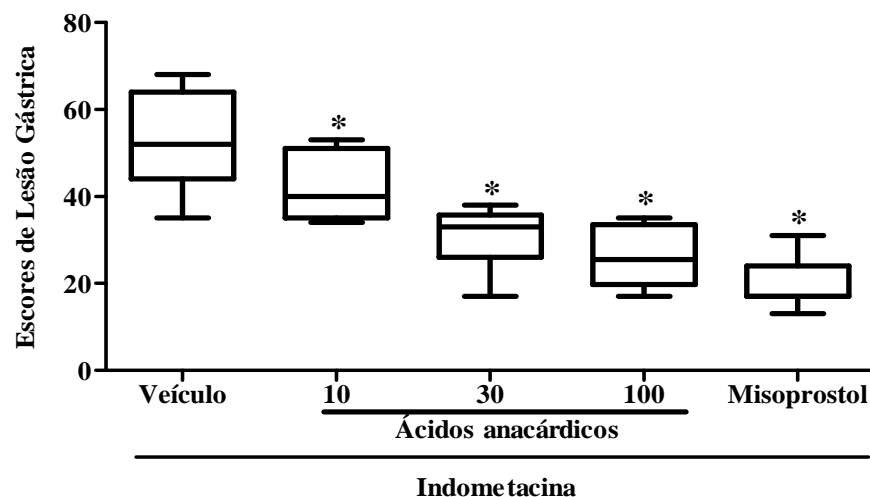


Figura 16 - Efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Os valores representam a mediana (máximo – mínimo) do índice de lesão gástrica. Veículo (2% de Tween 80 em salina, 10mL/kg, v.o.), ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/ Kg, v.o.) ou misoprostol (50µg/Kg, v.o.) foram administrados 45 minutos antes da administração de indometacina (30 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 6h após a administração da indometacina. Foram utilizados 8 animais por grupo. * $p < 0,05$ vs veículo (Kruskall Wallis e Teste de Dunn).

6.4.3 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) reduziram de forma significativa ($p < 0,05$) o percentual de área gástrica lesionada ($6,10 \pm 0,96\%$) quando comparado ao grupo veículo ($22,70 \pm 0,54\%$). Os animais tratados com L-NAME (20 mg/Kg, i.p.), um inibidor não seletivo da Óxido Nítrico Sintase (NOS), não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) no percentual de área gástrica ulcerada ($23,36 \pm 1,05\%$), quando comparado ao grupo controle ($22,70 \pm 0,54\%$). O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) foi bloqueado ($17,87 \pm 3,48\%$) de forma significativa ($p < 0,05$) na presença do L-NAME (20 mg/Kg, i.p.). L-Arginina (600 mg/Kg, i.p.), um aminoácido que é substrato para a síntese de óxido nítrico, reduziu de forma significativa ($p < 0,05$), cerca de 55 % do percentual de área gástrica ulcerada ($10,22 \pm 1,56\%$), quando comparado ao grupo controle ($22,70 \pm 0,54\%$). L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) reverteu ($18,74 \pm 1,32\%$), significativamente ($p < 0,05$), o efeito gastroprotetor da L-Arginina (600 mg/Kg, i.p.). Os resultados obtidos com a avaliação do papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol, podem ser observados na **Tabela 9 e Figura 17**.

Tabela 9 - Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Grupos	Dose (mg/Kg, via)	Área gástrica ulcerada (%)
Controle (Veículo)	-	22,70 ± 0,54
Ácidos anacárdicos	30, v.o.	6,10 ± 0,96 ^a
L-arginina	600, i.p.	10,22 ± 1,56 ^a
L-NAME	20, i.p.	23,36 ± 1,05
L-NAME + Ácidos anacárdicos	20, i.p. + 30, v.o.	17,87 ± 3,48 ^b
L-NAME + L-arginina	20, i.p. + 600, i.p.	18,74 ± 1,32 ^c

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Veículo (2 % de Tween 80 em salina, v.o.) ou ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) foram administrados, 45 min antes e, L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) ou L-arginina (600 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2mL/animal). Nas combinações, L-NAME foi administrado 15 min antes dos ácidos anacárdicos ou L-arginina. Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol absoluto. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos; ^cp<0,05 vs L-Arginina (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

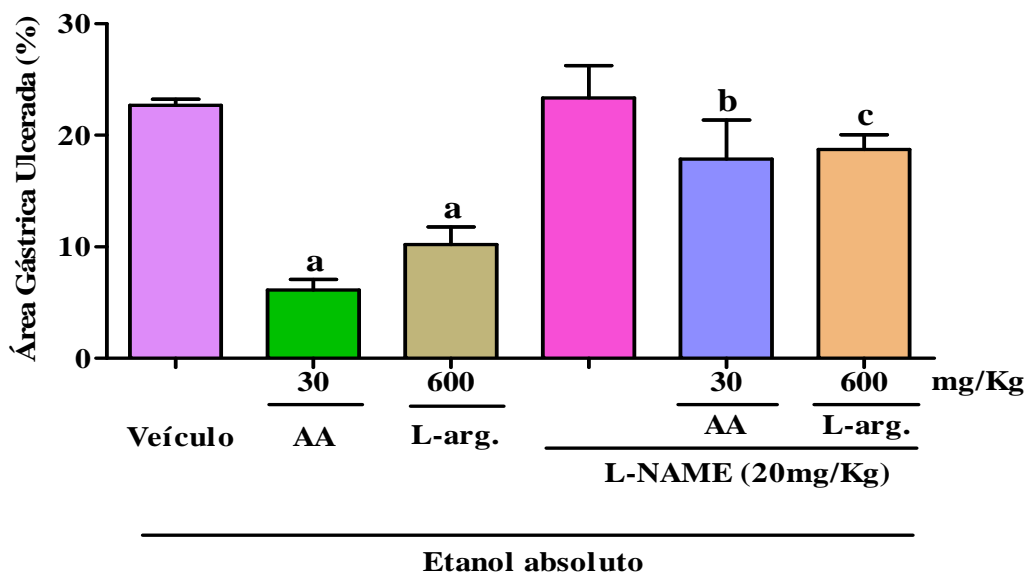


Figura 17 - Papel do óxido nítrico (NO) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Veículo (2 % de Tween 80 em salina, 10 mL/Kg, v.o.) ou ácidos anacárdicos (AA, 30 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes e, L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) ou L-arginina (600 mg/Kg, i.p.), 30 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.). L-NAME (20 mg/Kg, i.p.) foi administrado 15 min antes dos AA (30 mg/Kg, v.o.) ou L-arginina (600 mg/Kg, i.p.). Os valores representam a média ± E.P.M. da percentagem de área gástrica ulcerada. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos ; ^cp<0,05 vs L-Arginina (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

6.4.4 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Os resultados do papel dos canais de potássio no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, podem ser observados na **Tabela 10** e **Figura 18**.

Os ácidos anacárdicos reduziram de forma significativa ($p < 0,05$), cerca de 70% do percentual de lesão gástrica ($6,14 \pm 0,26$ %) quando comparado ao grupo controle veículo ($20,43 \pm 2,69$ %). O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos foi bloqueado ($12,84 \pm 1,57$ %) de forma significativa ($p < 0,05$) na presença de glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.), um bloqueador de canais de potássio ATP-dependentes. Diazóxido (3 mg/kg, i.p.), que promove a abertura de canais de K_{ATP} , reduziu significativamente ($p < 0,05$) o percentual de área gástrica ulcerada ($6,0 \pm 0,60$ %), quando comparado ao grupo veículo ($20,43 \pm 2,69$ %), o que corresponde a um percentual de inibição de aproximadamente 71 %. A glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.) reverteu ($20,68 \pm 0,96$ %) de forma estatisticamente significante ($p < 0,05$) o efeito gastroprotetor do diazóxido (3 mg/kg, i.p.).

Tabela 10 - Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Grupos	Dose (mg/Kg, via)	Área gástrica ulcerada (%)
Controle (Veículo)	-	20,43 ± 2,69
Ácidos anacárdicos (AA)	30, v.o.	6,14 ± 0,26 ^a
Diazóxido	3, i.p.	6,0 ± 0,60 ^a
Glibenclamida + AA	5, i.p. + 30, v.o.	12,84 ± 1,57 ^b
Glibenclamida+ Diazóxido	5, i.p. + 3, i.p.	20,68 ± 0,96 ^c

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da área gástrica ulcerada (%). Veículo (2% de Tween 80 em salina; v.o.), ácidos anacárdicos (AA, 30 mg/Kg, v.o.) ou diazóxido (3 mg/Kg, i.p.) foram administrados 45min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.). Glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.) foi administrada 30 min antes dos ácidos anacárdicos ou diazóxido. Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos; ^cp< 0,05 vs diazóxido (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

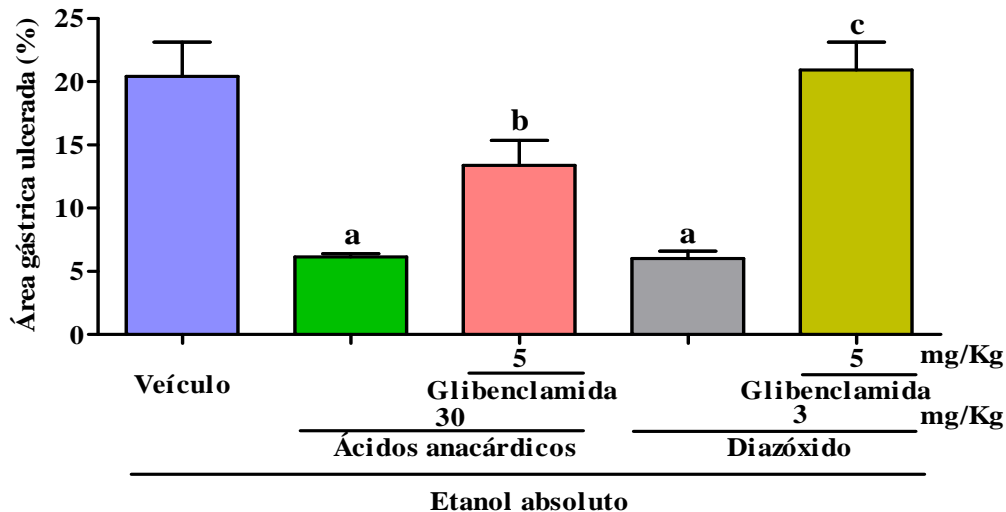


Figura 18 - Papel dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}), no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Veículo (2% de Tween em salina, 10 mL/Kg, v.o.), ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) ou diazóxido (3 mg/Kg, i.p.) foram administrados 45 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.). Glibenclamida foi administrada 30 min antes do tratamento com ácidos anacárdicos ou diazóxido. Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol. Os valores representam a média ± E.P.M. da percentagem de área gástrica ulcerada. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs Ácidos anacárdicos; ^cp< 0,05 vs diazóxido (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

6.4.5 Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Os resultados obtidos com o modelo que avalia o papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos estão demonstrados na **Tabela 11** e **Figura 19**.

Os animais do grupo controle, os quais receberam apenas veículo antes da administração oral do etanol absoluto, apresentaram extenso percentual de área gástrica ulcerada ($20,65 \pm 1,00$ %). Ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) reduziram de forma significativa ($p < 0,05$) o percentual de lesão gástrica ($5,46 \pm 0,92$ %) em comparação com o grupo controle ($20,65 \pm 1,00$ %), o que corresponde a um percentual de inibição de 73 %. O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) foi bloqueado ($13,10 \pm 2,14$ %) de forma significativa ($p < 0,05$) na presença de indometacina (10 mg/Kg, v.o.), um antiinflamatório não esteroidal. Misoprostol (50 μ g/Kg, v.o.), um análogo das prostaglandinas do tipo E1 (PGE1), reduziu de maneira significativa ($p < 0,05$) cerca de 72 % do percentual de lesão gástrica ulcerada ($5,90 \pm 1,48$ %), quando comparado ao grupo controle ($20,65 \pm 1,00$ %). Indometacina (10 mg/Kg, v.o.) reverteu ($15,05 \pm 1,31$ %), significativamente ($p < 0,05$), o efeito gastroprotetor do misoprostol (50 μ g/Kg, v.o.).

Tabela 11 - Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Grupos	Dose	Área gástrica ulcerada (%)
Controle (Veículo)	-	20,65 ± 1,00
Ácidos anacárdicos (AA)	30 mg/Kg, v.o.	5,46 ± 0,92 ^a
Indometacina + AA	10 mg/Kg, v.o. + 30mg/Kg, v.o.	13,10 ± 2,14 ^b
Misoprostol	50 µg/Kg, v.o.	5,90 ± 1,48 ^a
Indometacina + Misoprostol	10 mg/Kg, v.o. + 50 µg/Kg, v.o.	15,05 ± 1,31 ^c

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Veículo (2 % de Tween 80 em salina), ácidos anacárdicos (AA; 30 mg/Kg, v.o.) e misoprostol (50 µg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Nas combinações, indometacina foi administrada, por via oral, 2 h antes dos AA ou misoprostol. Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol_{abs}. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos; ^cp<0,05 vs misoprostol (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

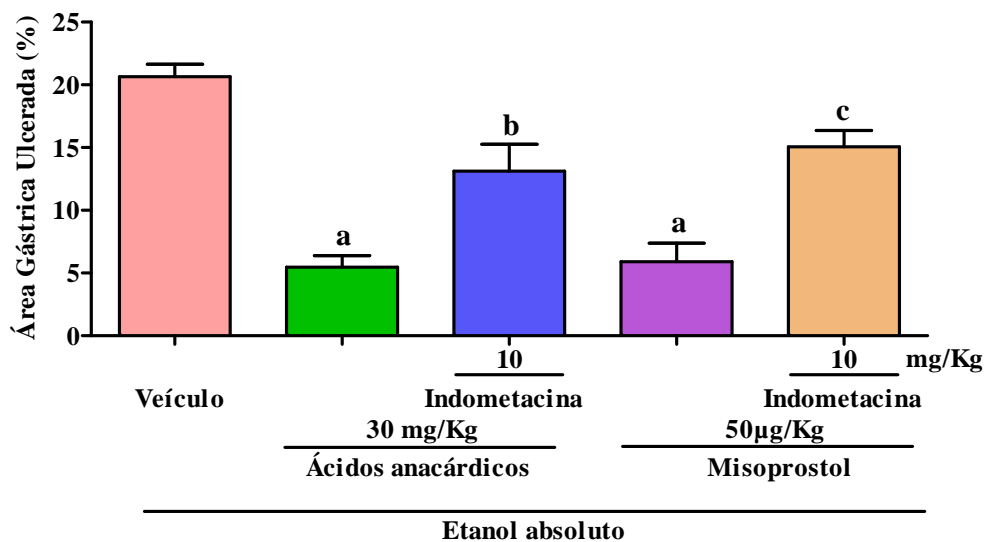


Figura 19 - Papel das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Veículo (2 % de Tween 80 em salina, 10 mL/Kg, v.o.), ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) ou misoprostol (50 µg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.). Indometacina (10 mg/Kg, v.o.) foi administrada 2 h antes dos AA (30 mg/Kg, v.o.) ou misoprostol (50 µg/Kg, v.o.). Os valores representam a média ± E.P.M. da percentagem de área gástrica ulcerada. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos ; ^cp<0,05 vs misoprostol. (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

6.4.6 Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Os resultados obtidos com a avaliação do papel dos neurônios aferentes primários sensíveis à capsaicina no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, neste modelo, são demonstrados na **Tabela 12** e **Figura 20**.

Os ácidos anacárdicos (AA; 30 mg/Kg, v.o.) reduziu de forma significativa ($p < 0,05$) cerca de 63 % do percentual de lesão gástrica ($7,46 \pm 1,09$ %) em comparação com o grupo controle ($20,43 \pm 2,69$ %). O efeito gastroprotetor dos AA (30 mg/Kg, v.o.) foi bloqueado ($13,66 \pm 0,95$ %) de forma significativa ($p < 0,05$) na presença de capsazepina (5 mg/Kg, i.p.), um bloqueador seletivo dos receptores TRPV1. Capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.), uma substância agonista dos receptores TRPV1, reduziu de maneira significativa o percentual de área gástrica ulcerada ($7,33 \pm 0,94$ %), quando comparado ao grupo controle ($20,43 \pm 2,69$ %), o que corresponde a um percentual de inibição de 64 %. Capsazepina (5 mg/Kg, i.p.) reverteu ($18,18 \pm 3,04$ %), significativamente ($p < 0,05$), o efeito gastroprotetor da capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.).

Tabela 12 - Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Grupos	Dose	Área gástrica ulcerada (%)
Controle (Veículo)	-	20,43 ± 2,69
Ácidos anacárdicos (AA)	30 mg/Kg, v.o.	7,46 ± 1,09 ^a
Capsazepina + AA	5 mg/Kg, i.p. + 30mg/Kg, v.o.	13,66 ± 0,95 ^b
Capsaicina	0,3 mg/Kg, v.o.	7,33 ± 0,94 ^a
Capsazepina + Capsaicina	5 mg/Kg, i.p. + 0,3 mg/Kg, v.o.	18,18 ± 3,04 ^c

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) da percentagem de área gástrica ulcerada. Veículo (2 % de Tween 80 em salina; 10 mL/Kg, v.o.), ácidos anacárdicos (AA; 30 mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Nas combinações, capsazepina (5 mg/Kg; i.p.) foi administrada 30 min antes dos AA (30 mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.). Os animais foram sacrificados 30 min após a administração do etanol. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos; ^cp<0,05 vs capsaicina (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

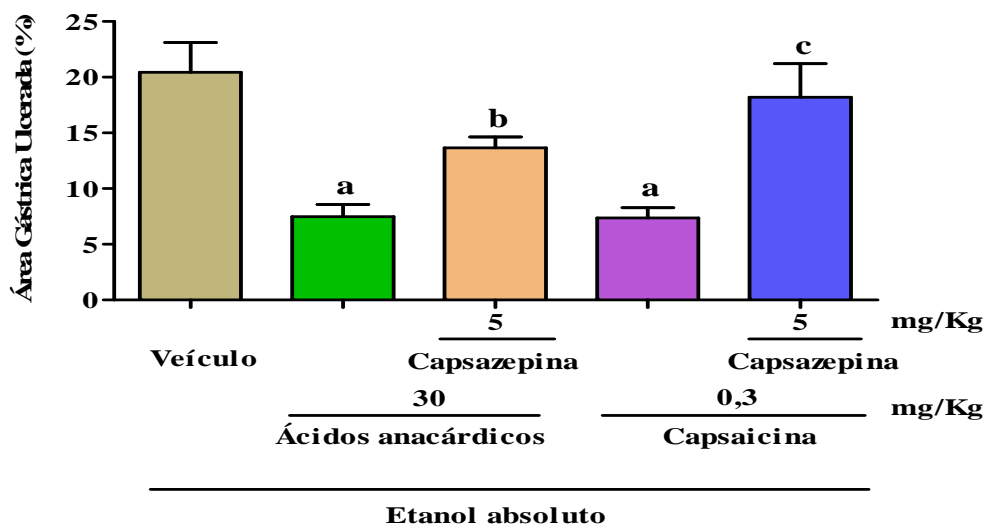


Figura 20 - Papel dos receptores TRPV1 no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Veículo (2 % de Tween 80 em salina, 10 mL/Kg, v.o.), ácidos anacárdicos (AA; 30 mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.) foram administrados 45 min antes da administração de etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o.). Capsazepina (5 mg/Kg, i.p.) foi administrada 30 min antes dos AA (30 mg/Kg, v.o.) ou capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.). Os valores representam a média ± E.P.M. da percentagem de área gástrica ulcerada. Foram utilizados 8 animais por grupo. ^ap<0,05 vs veículo; ^bp<0,05 vs ácidos anacárdicos; ^cp<0,05 vs capsaicina (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

6.5 Avaliação dos ácidos anacárdicos em marcadores gástricos de estresse oxidativo

6.5.1 Efeito dos ácidos anacárdicos nos níveis de NP-SH, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidação lipídica (MDA) e óxido nítrico em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Os animais que receberam etanol sozinho (controle veículo) mostraram redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis de NP-SH, na catalase, superóxido dismutase e nos níveis de óxido nítrico (nitrato/nitrito) gástricos e uma significante elevação nos níveis de MDA, quando comparados ao grupo controle normal (**Tabela 13**).

Ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) foram capazes de restaurar de maneira significativa ($p < 0,05$), os níveis de NP-SH ($603,40 \pm 32,16 \mu\text{g/g}$ de tecido) em comparação com o grupo controle veículo ($442,30 \pm 49,81 \mu\text{g/g}$ de tecido). NAC (750 mg/Kg, v.o.) também conseguiu restabelecer ($737,20 \pm 73,19 \mu\text{g/g}$ de tecido), significativamente ($p < 0,05$), os níveis de NP-SH em comparação com o grupo veículo ($442,30 \pm 49,81 \mu\text{g/g}$ de tecido).

O pré-tratamento com ácidos anacárdicos aumentou significativamente ($p < 0,05$) os níveis de SOD gástricos (731.3 ± 75.79 U/g proteína) quando comparados ao grupo controle veículo (332.9 ± 42.86 U/g proteína). A N-acetilcisteína (NAC; 750 mg/kg, v.o.) usada como controle positivo também aumentou significativamente ($p < 0,05$) os níveis de SOD (748.6 ± 76.86 U/g proteína) quando comparada ao grupo veículo.

O pré-tratamento com ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a atividade da CAT gástrica (2.006 ± 0.258 mmol/min/g tecido) quando comparada ao grupo controle veículo (0.968 ± 0.058 mmol/min/g tecido). A NAC também aumentou significativamente ($p < 0,05$) a atividade da enzima (2.263 ± 0.154 mmol/min/g tecido) quando comparada ao grupo veículo.

Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) reduziram significativamente ($p < 0,05$) a peroxidação lipídica (MDA) (3.734 ± 0.084 nmol/g tecido), quando comparado ao grupo veículo (4.349 ± 0.149 nmol/g tecido). A N-acetilcisteína (NAC; 750 mg/kg, v.o.) usada como

controle positivo também inibiu o aumento de MDA produzido pelo etanol (3.764 ± 0.185 nmol/g tecido).

O pré-tratamento com ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) e NAC (750 mg/kg, v.o.) reforçou significativamente ($p < 0,05$) o conteúdo de nitrato/nitrito gástricos (548.40 ± 76.05 $\mu\text{M/g}$ proteína e 583.80 ± 69.42 $\mu\text{M/g}$ proteína, respectivamente) quando comparado ao grupo veículo 285.20 ± 35.37 $\mu\text{M/g}$ proteína.

Tabela 13 - Efeito dos ácidos anacárdicos nos níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH), de superóxido dismutase (SOD), catalase, peroxidação lipídica (MDA) e óxido nítrico em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.

Tratamento	Dose	NP-SH ($\mu\text{g/g}$ de tecido)	SOD (U/g proteína)	Catalase (mmol/min/g tecido)	MDA (nmol/g tecido)	Nitrato/Nitrito ($\mu\text{M/g}$ proteína)
Controle (Normal)	-	638,20 \pm 39,63	517.5 \pm 31.44	1.617 \pm 0.163	3.633 \pm 0.094	722.20 \pm 117.20
Controle (Veículo)	-	442,30 \pm 49,81 ^a	332.9 \pm 42.86 ^a	0.968 \pm 0.058 ^a	4.349 \pm 0.149 ^a	285.20 \pm 35.37 ^a
AA	30 mg/Kg, v.o.	603,40 \pm 32,16 ^b	731.3 \pm 75.79 ^b	2.006 \pm 0.258 ^b	3.734 \pm 0.084 ^b	548.40 \pm 76.05 ^b
NAC	750mg/Kg, v.o.	737,20 \pm 73,19 ^b	748.6 \pm 76.86 ^b	2.263 \pm 0.154 ^b	3.764 \pm 0.185 ^b	583.80 \pm 69.42 ^b

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Grupos de camundongos (n=8) foram pré-tratados com veículo (2% Tween 80 em salina, 10mL/kg), ácidos anacárdicos (AA; 30 mg/kg, v.o.) e N-acetilcisteína (NAC, 750 mg/kg, v.o.) antes da administração oral de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Ácidos anacárdicos e NAC foram administrados 45 min e 60 min antes do etanol, respectivamente. 30 min após o etanol, os animais foram sacrificados, os estômagos foram retirados e a parte glandular foi coletada para as análises bioquímicas. ^ap<0,05 vs Controle (Normal); ^bp<0,05 vs Controle (Veículo) (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

6.6 Avaliação da atividade antissecreatória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos

A administração intraduodenal dos ácidos anacárdicos (30 mg/kg), em ratos com piloro ligado por 4 horas, não alterou significativamente o volume secretório gástrico ($1,12 \pm 0,14$ mL), quando comparado ao veículo ($1,16 \pm 0,12$ mL).

Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg) não alteraram de forma significativa a acidez total gástrica ($15,00 \pm 1,42$ μ Eq [H⁺]/h) em relação ao grupo veículo ($15,36 \pm 1,68$ μ Eq [H⁺]/h). Cimetidina (100 mg/kg), um conhecido antagonista H₂, reduziu significativamente ($p < 0,05$) o volume secretório gástrico ($0,61 \pm 0,11$ mL) em comparação com o veículo. A acidez gástrica foi significativamente reduzida ($p < 0,05$) também pela cimetidina ($8,33 \pm 1,02$ μ Eq [H⁺]/h), quando comparada ao veículo (**Tabela 14 e Figura 21**).

Tabela 14 - Avaliação da atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos

Grupos	Dose	Volume secretório gástrico (mL)	Acidez total gástrica ($\mu\text{Eq} [\text{H}^+]/\text{h}$)
Controle (Veículo)	-	$1,16 \pm 0,12$	$15,36 \pm 1,68$
AA	30 mg/Kg	$1,12 \pm 0,14$	$15,00 \pm 1,42$
Cimetidina	100 mg/Kg	$0,61 \pm 0,11^*$	$8,33 \pm 1,02^*$

Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) do volume secretório gástrico (mL) e da acidez gástrica total ($\mu\text{Eq} [\text{H}^+]/\text{h}$). Veículo (2% de Tween 80 em salina), ácidos anacárdicos (30 mg/kg) e cimetidina (100 mg/kg) foram administrados por via intraduodenal, imediatamente após a ligação do piloro. Os animais foram sacrificados 4 horas após a ligação do piloro. * $p < 0,05$ vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

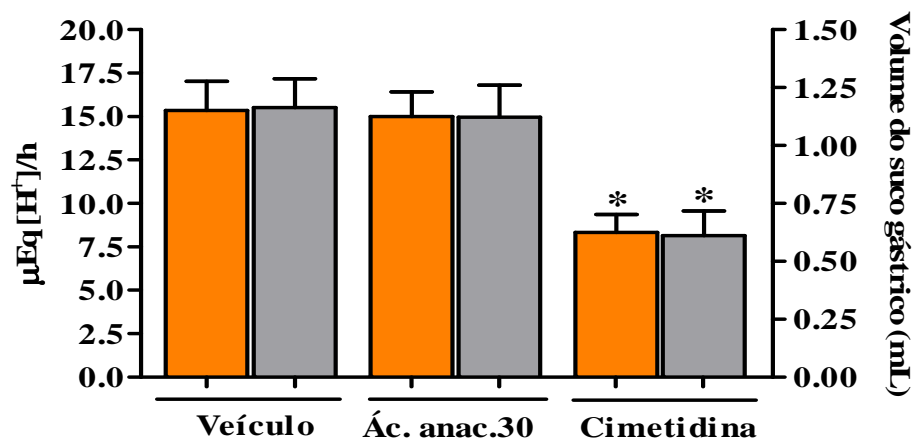


Figura 21 - Avaliação da atividade antissecretória gástrica dos ácidos anacárdicos em modelo de ligadura do piloro em ratos. Veículo (2% de Tween 80 em salina), ácidos anacárdicos (30 mg/kg) e cimetidina (100 mg/kg) foram administrados por via intraduodenal, imediatamente após a ligação do piloro. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) do volume secretório gástrico (mL) e da acidez gástrica total ($\mu\text{Eq} [\text{H}^+]/\text{h}$). Os animais foram sacrificados 4 horas após a ligação do piloro. * $p < 0,05$ vs veículo (ANOVA e Teste de Student Newman Keul).

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

As plantas medicinais são usadas popularmente para os mais diversos fins, chegando a substituir, muitas vezes, a prescrição médica (MITSCHER et al., 1987). Este fato pode ser justificado pelo alto grau de aceitabilidade das plantas medicinais, bem como, pela grande disponibilidade destes recursos, diferente do que ocorre com os medicamentos industrializados, que na maioria, dependem de tecnologia e matéria prima externas (AMORIM et al., 2003). As plantas medicinais se destacam como grandes fontes de novos recursos terapêuticos, servindo como base para o desenvolvimento de medicamentos pela indústria farmacêutica (SCHENKEL et al., 2001).

A medicina popular emprega plantas no tratamento de vários distúrbios, como dor, inflamação e úlceras gástricas, porém existe uma necessidade de validação através de pesquisas científicas que utilizem modelos adequados de experimentação para comprovação dos efeitos farmacológicos e, em seguida, proceder ao isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos e mecanismo de ação para a formulação de fitoterápicos seguros para uso humano e/ou animal. O estudo da dose, concentração e via de administração também são essenciais (RODRIGUES, 2008). O Brasil, devido a grande biodiversidade, apresenta um enorme potencial para pesquisa de moléculas com importância terapêutica.

Anacardium occidentale Linn, o cajueiro, pertencente ao gênero *Anacardium*, da família Anacardiaceae, é utilizada popularmente como planta medicinal, sendo indicada em algumas situações como inflamações em geral, dor de estômago, diarreia, tosse e escorbuto. Por ser alvo de inúmeras pesquisas científicas, esta planta apresenta diversas atividades biológicas comprovadas, como antiinflamatória do extrato da casca do caule (OLAJIDE et al., 2004), antiulcerogênica do extrato das folhas (KONAN & BACCHI, 2007) e antioxidante do suco do caju e da cajuína (CAVALCANTE et al., 2003).

Os ácidos anacárdicos são lipídios fenólicos não-isoprenóides, isolados do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), cujas algumas atividades farmacológicas encontram-se descritas na literatura, dentre elas atividade antitumoral (ITOKAWA et al., 1987; ITOKAWA et al., 1989; KUBO et al., 1993a), de impedimento de danos oxidativos na mitocôndria do fígado de

ratos (TOYOMIZU et al., 2000) e a habilidade em inibir algumas enzimas, como prostaglandina endoperoxido sintase (GRAZZINI et al., 1991), α -glucosidase, invertase e aldose redutase (TOYOMIZU et al., 1993), tirosinase (KUBO et al., 1994) e histona acetiltransferase (SUNG et al., 2008).

Os ácidos anacárdicos apresentam semelhança estrutural com ácido acetilsalicílico, e além disso eles modulam o metabolismo do ácido araquidônico (HA & KUBO, 2005). Portanto, assim como o ácido acetilsalicílico, os ácidos anacárdicos são susceptíveis de possuir propriedades analgésicas, antiinflamatórias e indutoras de dano gástrico, o que justificou a avaliação dessas três propriedades neste trabalho.

Quatro modelos agudos de testes nociceptivos foram usados para avaliar a potência analgésica dos ácidos anacárdicos, o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético (KOSTER et al., 1959), formalina (HUNSKAAR & HOLE, 1987), capsaicina (SAADÉ et al., 2002) e placa quente (EDDY & LEIMBACH, 1953).

O teste de contorções por ácido acético é um modelo conveniente de triagem por produzir uma resposta cuja intensidade depende da interação de vários eventos, neurotransmissores e neuromoduladores, que determinam a nocicepção. Assim, esse modelo será sensível a substâncias analgésicas de ação central e/ou periférica dotadas dos mais variados mecanismos de ação (KOSTER et al., 1959; LAPA e cols., 2008). Ribeiro et. al., (2000) mostram que as contorções abdominais induzidas por ácido acético são dependentes da presença de macrófagos peritoneais e conseqüente libertação de IL-1 e TNF- α por essas células e que os mediadores envolvidos são múltiplos e incluem aminas simpatomiméticas e eicosanóides.

Os ácidos anacárdicos reduziram a nocicepção induzida pelo ácido acético, contudo o modelo não possui especificidade pois drogas como analgésicos opióides, antidepressivos tricíclicos e drogas antiinflamatórias não-esteroidais inibem as contorções induzidas pelo ácido acético (FRANÇA et al., 2001; GONZALEZ et al., 2001; DAI et al., 2002).

O teste da formalina é empregado como um modelo de dor aguda e tônica, particularmente como um estímulo nociceptivo químico, sendo considerado como um dos

mais válidos para o estudo da nocicepção. O teste permite avaliar a resposta do animal a uma dor moderada e contínua causada pelo tecido injuriado bem como o papel dos sistemas endógenos de regulação da dor (TJØLSEN, 1992). A injeção de formalina produz uma resposta bifásica, a primeira fase da resposta ocorre devido à estimulação direta da formalina nas fibras C sensoriais, enquanto que a segunda fase deve-se ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória e a liberação de mediadores algésicos (HUNSKAAR & HOLE, 1987; TJØLSEN, 1992; LINO, 2008). Enquanto as drogas de ação central, como os analgésicos opióides, inibem as duas fases do teste, as drogas de ação periférica, como os antiinflamatórios não-esteroidais e corticosteróides inibem somente a segunda fase da resposta

As duas fases da resposta à formalina têm mediação química e mecanismos de modulação distintos, apresentando diferenças marcantes quanto a sua sensibilidade a drogas analgésicas. À 1ª fase é atribuído um caráter neurogênico, sendo sensível a analgésicos opióides e a alguns agonistas das vias descendentes, enquanto a 2ª fase é melhor caracterizada como dor de origem inflamatória, sendo sensível a analgésicos antiinflamatórios não-esteroidais (HUNSKAAR & HOLE, 1987; SHIBATA e cols., 1989; TJØLSEN, 1992; MALMBERG & YAKSH, 1993).

Nossos dados mostram que os ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/kg) exercem uma ação antinociceptiva nas duas fases do teste da formalina, o mesmo sendo observado com a morfina, um agonista de receptor opióide, com ações a nível espinal e supra-espinal (RAMABADRAN & BANSINATH, 1990). Os resultados demonstram a participação de um mecanismo central e periférico de ação que contribui para o efeito antinociceptivo dos ácidos anacárdicos.

O teste da capsaicina avalia o possível efeito analgésico de drogas na dor neurogênica. A capsaicina age através da ligação com receptores vanilóides (TRPV1), um receptor similar ao canal de K^+ voltagem dependente encontrado nos neurônios sensoriais. Este receptor, conhecido por ser o receptor da capsaicina, está envolvido principalmente com o influxo de cátions, particularmente Ca^{++} e Na^{++} , através de canal acoplado ao TRPV1. A capsaicina age especificamente nas fibras C não mielinizadas e nas fibras A δ pouco mielinizadas e delgadas. Tais receptores também podem ser ativados por temperaturas acima de 43° C (OKUSE, 2006).

Os ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/Kg, v.o.) não exerceram ação antinociceptiva no teste da capsaicina. O vermelho de rutênio (3 mg/Kg, s.c.) utilizado como controle positivo, reduziu de forma significativa o tempo de lambadura da pata quando comparado ao grupo veículo.

O teste da placa quente é um teste sensível para drogas que agem a nível supraespinhal (YASKSK & RUDY, 1977). Segundo Ankier (1974) a placa quente a 55 °C pode produzir resultados falso negativos e sugeriu o uso de temperaturas mais baixas, como 51°C. Os ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/Kg, v.o.) prolongaram significativamente o tempo de reação à placa quente no tempo de 120 minutos após os tratamentos. A dose de 100 mg/Kg foi eficaz em prolongar o tempo de reação à placa em todos os tempos analisados, assim como a morfina (7,5 mg/ Kg, s.c.), utilizada como controle positivo, sugerindo uma ação antinociceptiva dos ácidos anacárdicos a nível supra-espinhal.

Os resultados demonstram que os ácidos anacárdicos possuem ação antinociceptiva cujo mecanismo de ação não está claro. O leite da castanha de uma outra espécie da família das Anacardiáceas, a *Semecarpus anacardium*, também demonstrou atividade antinociceptiva (MYTHILYPRIYA et al., 2007).

Neste estudo, dois modelos experimentais foram utilizados para avaliar a atividade antiinflamatória dos ácidos anacárdicos, o edema de pata induzido por carragenina (WINTER et al., 1962) e o granuloma induzido por pellet de algodão (WINTER AND PORTER, 1957).

O edema inflamatório induzido pela injeção de carragenina é resultante da ação de vários mediadores inflamatórios de forma sequencial e integrada. Inicialmente, dentro da primeira hora, ocorre a liberação de histamina, serotonina e bradicinina, seguida do aumento dos níveis de prostaglandinas (PGs). Outro mediador importante é o óxido nítrico. O pico do edema ocorre entre 4-6 horas. Em camundongos, uma segunda fase da resposta pode ser observada 24-72 horas após a injeção de carragenina, cuja mediação depende principalmente de citocinas (HENRIQUES et al., 1987).

Os ácidos anacárdicos (30 e 100 mg/Kg) reduziram significativamente o edema de pata na 2^a, 4^a, 5^a. e 24^a. hora após a injeção de carragenina. A indometacina (5 mg/kg, v.o.), agente antiinflamatório não esteroide, reduziu significativamente o edema em todos os períodos de

observação. Observando-se a atividade dos ácidos anacárdicos nos tempos analisados, percebe-se que eles têm melhor resposta antiinflamatória na 4ª e 5ª hora após indução do edema. Nesse momento, o edema é mantido principalmente pela produção de prostaglandinas, que atingem um pico entre 3-6 horas (DI ROSA & WILLOUGHBY, 1971; WILLIAMS, 1979). Sugerindo, portanto, que os ácidos anacárdicos possam estar reduzindo a participação das prostaglandinas por uma inibição da ciclooxigenase.

Um granuloma é uma área focal de inflamação granulomatosa e consiste em uma agregação de macrófagos que estão transformados em células de aparência epitelial (epitelióide), circundadas por leucócitos mononucleares, principalmente linfócitos (COLLINS, 2000; OLIVEIRA, 2003). Em animais, partículas inertes, como algodão, quando introduzidas no tecido conectivo, provocam uma resposta inflamatória aguda que é seguida por uma intensa acumulação de macrófagos e formação de granuloma (BOROS, 1978). A formação do granuloma é acompanhada da síntese de PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ e TXA_2 . A PGE_2 aumenta a permeabilidade vascular promovendo a quimiotaxia de células inflamatórias. A $PGF_{2\alpha}$ promove hiperplasia e hipervascularização no local da inflamação e o TXA_2 liberado das plaquetas induz agregação plaquetária e vasoconstricção. Os ácidos anacárdicos, nas doses de 30 e 100 mg/Kg, v.o., diariamente, durante 7 dias, promoveu uma redução do peso úmido e do peso seco dos granulomas, possivelmente os ácidos anacárdicos interferiram no metabolismo do ácido aracdônico, agindo na fase exsudativa e proliferativa da reação inflamatória.

A atividade antiinflamatória de extratos de *A. occidentale* (OLAJIDE et al., 2004; OJEWOLE, 2004), bem como o efeito do polissacarídeo de *A. occidentale* L. (POLICAJU) na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas (SCHIRATO et al., 2006), já foram demonstrados. Diante dos resultados mostrados, sugere-se que o efeito antiinflamatório de *A. occidentale* se deve, pelo menos em parte, aos ácidos anacárdicos. O extrato da castanha de *Semecarpus anacardium* L. (Anacardiaceae) apresentou efeito antiinflamatório, assim como os ácidos anacárdicos, em modelo de edema de pata induzido por carragenina e em granuloma induzido por pellet de algodão (RAMPRASATH et al., 2004).

Estudos mostram que outros membros da família Anacardiaceae possuem efeitos analgésicos e antiinflamatórios em animais experimentais. Dentre esses membros podemos citar a *Mangifera indica* L., cujo extrato aquoso da casca do caule apresentou efeitos em

modelos de nocicepção e inflamação (OJEWOLE, 2005) e *Pistacia vera* L., cujo óleo resina apresentou atividade antinociceptiva e antiinflamatória (ORHAN et al., 2006).

Os resultados demonstram ainda a atividade gastroprotetora dos ácidos anacárdicos, onde demonstraram inibir as lesões gástricas induzidas por etanol (ROBERT et al., 1979) e por indometacina (RAINSFORD, 1982).

Sabe-se que a administração de drogas antiinflamatórias não esteroidais, como a indometacina, leva à alta incidência de inflamação e úlceras no aparelho digestivo, especialmente no estômago. Além disso, o tratamento com AINES é suspenso em 5-15% dos pacientes com artrite reumatóide por causa de distúrbios gastrintestinais. Portanto, drogas capazes de prevenir as lesões na mucosa gástrica são de suma importância na melhoria da qualidade de vida dos pacientes em uso crônico de AINES (FUNATSU et al., 2007).

A indometacina age inibindo o metabolismo do ácido araquidônico pela via das ciclooxigenases (COX) e assim alteram o equilíbrio entre os fatores agressores e protetores da mucosa do estômago promovendo aumento da acidez, redução do fluxo sanguíneo, bloqueio ou redução da síntese de prostaglandinas, aumento da produção de leucotrienos, além de ferir diretamente o estômago por sua ação irritante local (GONZALEZ et al., 2001; WHITTLE et al., 1985).

Os ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/Kg, v.o.), assim como o misoprostol (50 µg/kg), foram capazes de prevenir a formação de lesões gástricas induzidas pela indometacina, sugerindo um provável envolvimento das prostaglandinas endógenas na ação protetora dos ácidos anacárdicos, o que estaria de acordo com dados da literatura, onde compostos com potencial gerador de prostaglandinas têm sido demonstrados como protetores de mucosa gástrica contra vários agentes ulcerogênicos (FRANZONE et al., 1988; DAJANI & AGRAWAL, 1995). Kubo et al (2008) demonstraram a atividade inibidora de lipoxigenase dos ácidos anacárdicos, evento este que pode estar envolvido a atividade anti-ulcerogênica dos ácidos anacárdicos, já que um dos mecanismos pelos quais a indometacina lesa a mucosa gástrica é através da produção de leucotrienos.

O etanol absoluto rapidamente promove a formação de lesões hemorrágicas na mucosa gástrica, devido a uma reação inflamatória aguda que provoca um aumento na permeabilidade vascular (SZABO et al., 1985). Ainda no estômago, o etanol, em altas concentrações, influencia a atividade da musculatura e reduz o fluxo sanguíneo gástrico, provocando estase, congestão capilar e aumento da permeabilidade vascular, causando hemorragia, hiperemia, erosão e necrose tecidual com formação de estrias (MACMATH, 1990; BODE & BODE, 1997; SANTOS & RAO, 2001). O etanol pode ainda causar dano direto à célula da mucosa gástrica (MATSUDA & YOSHIKAWA, 1999).

Mediadores endógenos, produtos da peroxidação lipídica, aminas vasoativas, peptídeos, bem como espécies reativas de oxigênio estão envolvidos nas lesões causadas pelo etanol na mucosa gástrica (SZABO et al., 1985; HALLIWEEL, 1991; AL-BEKAIRI et al., 1992). A administração do etanol pode resultar ainda em alterações na permeabilidade da membrana com redução na resistência da mucosa e distúrbios na secreção de H^+ (VASQUEZ-RAMIREZ et al., 2006). As úlceras aparecem devido à ação necrotizante do etanol na mucosa gástrica, com menor participação da secreção ácida (LEWIS & HANSON, 1991). O etanol também causa depleção de muco, possivelmente por mobilizar os mucopolissacarídeos da mucosa para o lúmen, reduzindo a capacidade secretória de muco do estômago, contribuindo assim, para a formação de úlceras (CHO et al., 1983; ISHIHARA et al., 1988).

No modelo de lesão gástrica induzida por etanol, os ácidos anacárdicos (10, 30 e 100 mg/Kg, v.o.) de maneira dose dependente, assim como o misoprostol (50 μ g/kg), preveniram, de forma significativa, as lesões na mucosa gástrica. Desde que o dano gástrico promovido pelo etanol deve-se a eventos multifatoriais, assim como ao estresse oxidativo, avaliamos o mecanismo gastroprotetor dos ácidos anacárdicos usando este modelo e a dose de 30mg/kg dos ácidos anacárdicos.

As prostaglandinas produzidas pela mucosa gástrica aumentam na presença de agentes irritantes, e apresentam um papel protetor importante, inibindo a secreção ácida por reduzir a produção celular do monofosfato de adenosina (AMP) (BEEJAY & WOLFE, 2000). A enzima ciclooxigenase (COX) converte o ácido araquidônico em prostaglandinas, existindo pelo menos duas isoformas distintas da COX, denominadas COX-1 e COX- 2. A COX-1 é expressa constitutivamente na maioria dos tecidos (PESKAR, 2001) e esta isoforma

provavelmente promove a produção de prostaglandinas protetoras da mucosa gástrica e que possuem um papel importante na manutenção da homeostase (RODRÍGUEZ;TÉLLEZ et al., 2001). Ao contrário, a expressão da COX-2 geralmente é baixa sob condições basais. O aumento da expressão da COX-2 ocorre em certas condições patofisiológicas como a inflamação, dano tecidual e transformação maligna (PESKAR, 2001).

A ação protetora das prostaglandinas possivelmente envolve fluxo sanguíneo, estimulação de muco, secreção de bicarbonato (HAWKEY, 2000; BRZOZOWSKI et al., 2005) e aumento da resistência de células epiteliais contra danos causados por citotoxinas (HAWKEY; RAMPTON, 1985). As funções de vasodilatação e proteção da mucosa gástrica das prostaglandinas têm sido relatadas (GISLASON et al., 1995; WHITTLE; VANE, 1987).

Para avaliarmos a participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, animais foram pré-tratados com indometacina, um inibidor não seletivo de COX. O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, assim como do misoprostol, foi antagonizado pela indometacina. Contudo, o bloqueio da ação gastroprotetora foi apenas parcial, indicando uma participação limitada das prostaglandinas endógenas no mecanismo gastroprotetor dos ácidos anacárdicos.

O NO é um gás de radical livre e não carregado que participa da sinalização de inúmeros processos fisiológicos tais como relaxamento do músculo liso e vasodilatação, neurotransmissão, agregação plaquetária, regulação dos mecanismos pró e anti-apoptóticos, controle da pressão arterial e fluxo sanguíneo regional (RADOMSKI & MONCADA, 1993; KIM et al., 2001). Além disso, a produção excessiva ou ação inadequada de NO pode estar envolvida em vários processos patológicos como doenças inflamatórias, câncer e doenças neurodegenerativas (RANG et al., 2004). A produção constitutiva de NO é importante para manter a barreira protetora da mucosa gastrointestinal. Esse mecanismo protetor do NO pode ser devido a sua capacidade em aumentar do fluxo sanguíneo da mucosa e estabilizar a influência dos mastócitos (ALICAN; KUBES, 1996). Entretanto, o excesso na produção de NO associado com estados inflamatórios é caracterizado pelo aumento na permeabilidade epitelial e perda da função da barreira de muco. Assim, os níveis de produção de NO, a isoforma geradora de NO e o estado redox das células epiteliais podem determinar os efeitos do NO na permeabilidade da mucosa e proteção (SHAH et al., 2004).

Com o intuito de verificar a possível participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, foi utilizado o L-NAME, um inibidor não seletivo da NOS. O L-NAME é hidrolizado em L-nitroarginina que inativa a NOS (PFEIFFER *et al.*, 1996). Segundo Nahavandi *et al.* (1999), o L-NAME aumenta e a L-Arginina diminui a quantidade e intensidade da lesão provocada por álcool no estômago de ratos.

Os resultados obtidos no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos, mostram que, os animais que receberam L-NAME (20 mg/Kg, i.p.), apresentaram uma extensa área gástrica ulcerada, após a administração do etanol absoluto, semelhante ao grupo controle veículo. Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) conseguiram inibir o aparecimento das lesões gástricas, e esse efeito gastroprotetor foi revertido com o pré-tratamento com L-NAME. De forma semelhante, observamos que a L-Arginina (600 mg/Kg, i.p.) reduziu o percentual de área gástrica ulcerada, em comparação com o grupo veículo, e esse efeito também foi revertido no pré-tratamento com L-NAME.

Diante desses resultados, podemos supor uma participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos. Os ácidos anacárdicos poderiam estar aumentando os níveis de óxido nítrico por facilitar um maior fornecimento de NO, talvez por induzir um aumento na expressão das NOS constitutivas, aumentando a eficiência de suas ações catalíticas ou até mesmo inibindo competitivamente uma ação efetiva do L-NAME sobre as NOS. Alguns autores mostraram que drogas que aumentam a liberação de NO constitutivo protegem a mucosa gástrica contra os AINES, além de aumentar a cicatrização da úlcera induzida por esses fármacos (CALATAYUD *et al.*, 1999; ELLIOTT *et al.*, 1995).

Alguns trabalhos relatam que o óxido nítrico atua complementando o efeito gastroprotetor promovido pelas prostaglandinas, ou seja, podem agir de forma cooperativa (SAKAI *et al.*, 1995; WALLACE & GRANGER, 1996; MUSCARA & WALLACE, 1999; WALLACE, 1996). Sabe-se também que o NO é capaz de aumentar a permeabilidade vascular e a produção de prostaglandinas (RANG *et al.*, 2004). Com relação aos resultados do nosso trabalho, esses dados da literatura são de fundamental importância, pois podemos sugerir uma possível interação entre esses dois mediadores visto que demonstramos suas participações no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos.

Os canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) pertencem a uma grande família de proteínas de membrana. Estes canais regulados por ligantes são definidos tendo por base a sua sensibilidade ao ATP intracelular, que inibe sua atividade. Tais canais já foram descobertos em vários órgãos, como coração, pâncreas, rim e cérebro, e também podem ser encontrados nos músculos liso e esquelético (NOMA, 1983; ASHCROFT et al., 1984; HUNTER & GIEBSCH, 1988; ASHFORD et al., 1988; STANDEN et al., 1989; SPRUCE et al., 1985). Os canais de K_{ATP} estão envolvidos em uma variedade de funções fisiopatológicas do estômago tais como regulação do fluxo sanguíneo, secreção de ácido gástrico e contratilidade estomacal (TOROUDI et al., 1999).

Alguns compostos, como o diazóxido, ativam e abrem os canais de potássio em diversos tecidos, causando hiperpolarização da membrana plasmática e redução da atividade elétrica (ASHCROFT & GRIBBLE, 2000; JAHANGIR et al., 2001). O diazóxido, no estômago, inibe as lesões na mucosa gástrica induzidas por etanol, enquanto a glibenclamida, um agente hipoglicemiante oral que estimula a secreção de insulina por bloquear os canais de potássio ATP-dependentes, aumenta as lesões gástricas (TOROUDI et al., 1999; GUEDES et al., 2008; RODRIGUES, 2008). A diminuição do fluxo sanguíneo gástrico é uma das possibilidades pelas quais a glibenclamida poderia aumentar as lesões gástricas induzidas por etanol (AKAR et al., 1999). Em geral, sugere-se que a regulação da abertura e fechamento de canais de K_{ATP} no estômago pode ser um mecanismo de defesa das lesões externas na mucosa gástrica (RODRIGUES, 2008).

Peskar et al. (2002) demonstraram que a gastroproteção promovida pelas prostaglandinas é inibida não somente pela indometacina, mas também pela glibenclamida. Estes dados sugerem que o mecanismo de ação das prostaglandinas endógenas e exógenas envolve a ativação dos canais de K_{ATP} .

Neste estudo, avaliamos o papel dos canais de K_{ATP} no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos. Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) conseguiram reduzir, de forma significativa, o percentual de área gástrica ulcerada em comparação com o grupo veículo. De forma semelhante, o diazóxido (3 mg/Kg, i.p.) também inibiu o aparecimento das lesões gástricas quando

comparado ao veículo. O efeito gastroprotetor promovido por essas duas substâncias foi revertido na presença de glibenclamida (5 mg/Kg, i.p.). Esses resultados indicam uma possível participação dos canais de K_{ATP} no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos.

Analisando os possíveis mecanismos de ação dos ácidos anacárdicos até o momento, podemos sugerir que a participação das prostaglandinas e do óxido nítrico no efeito gastroprotetor dos AA poderia estar acoplada a um sistema de abertura de canais de potássio sensíveis ao ATP, com conseqüente relaxamento endotelial na vasculatura gástrica e aumento do fluxo sanguíneo na região afetada, reduzindo assim a formação das úlceras.

A capsaicina é o principal alcalóide responsável pela propriedade irritante da mucosa de plantas do gênero *Capsicum* (BARCELOUX, 2009). Tal substância age sobre os neurônios sensoriais estimulando os receptores de membrana, predominantemente receptores vanilóides (TRPV1-*transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1*), liberando neuropeptídeos tais como substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Em pequenas doses, a capsaicina funciona como um potente gastroprotetor, estimulando a microcirculação gástrica, porém em altas doses, ela destrói seletivamente as terminações neuronais das fibras C resultando em uma inativação dos nervos sensoriais e perda dos reflexos nos quais estes nervos estão envolvidos (SZOLCSANYI & BAETHO, 2001; EVANGELHISTA, 2006).

Estudos mostram que, no estômago, os nervos sensoriais aferentes sensíveis à capsaicina estão envolvidos no mecanismo de defesa local contra a formação de úlceras gástricas e que a administração oral de capsaicina exerce proteção contra lesões gástricas induzidas por etanol (PARK et al., 2000).

Investigamos o papel das fibras aferentes sensíveis à capsaicina no efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos no modelo de lesão gástrica induzida por etanol. Para tanto, utilizamos capsaicina (0,3 mg/Kg, v.o.), e também a capsazepina (5 mg/Kg, i.p), um antagonista específico dos receptores TRPV1.

De forma semelhante à capsaicina, os ácidos anacárdicos reduziram significativamente o percentual de área gástrica ulcerada em comparação com o grupo veículo. O efeito

gastroprotetor promovido por essas duas substâncias foi revertido na presença de capsazepina. Esses resultados evidenciam a possível participação das fibras sensoriais aferentes no mecanismo de ação dos ácidos anacárdicos.

Acredita-se que o mecanismo pelo qual a capsaicina exerce sua gastroproteção, deve-se às prostaglandinas e ao aumento da microcirculação na mucosa gástrica via NO, aumento na secreção de muco e bicarbonato, efeitos estes, mediados pela ativação dos neurônios sensoriais aferentes no estômago (KATO et al., 2003).

Como dito anteriormente, o mecanismo de ação gastroprotetora dos ácidos anacárdicos envolve uma possível participação das prostaglandinas, dos canais de potássio ATP-dependentes (K_{ATP}) e do NO. Diante da evidência da participação de fibras sensoriais aferentes no mecanismo de ação dos ácidos anacárdicos, podemos sugerir que a droga atue promovendo gastroproteção de forma inespecífica, através de um complexo sistema que envolveria a sensibilização dos TRPV1 e, conseqüentemente, liberação de NO e prostaglandinas, sendo que estas poderiam atuar, tanto via canais de K_{ATP} como por ativação de eNOS e conseqüente liberação de NO, e este, por sua vez, poderia levar novamente à uma liberação de prostaglandinas, principalmente PGE_2 , como também poderia atuar diretamente via canais de K_{ATP} . Todos esses efeitos somados levariam a um aumento no fluxo sanguíneo gástrico, na secreção de muco e bicarbonato e no poder de proteção gástrica.

Mecanismos de ação gastroprotetores multifatoriais, como o dos ácidos anacárdicos, encontram-se relatados na literatura, é o que aponta Carvalho (2008) com o mecanismo gastroprotetor da mangiferina isolada de *Mangifera indica* L., uma planta da família Anacardiaceae.

Evidências clínicas e experimentais sugerem que o estresse oxidativo está estreitamente relacionado à etiopatologia da doença ulcerosa péptica, e que substâncias antioxidantes, como os ácidos anacárdicos, podem desempenhar ação gastroprotetora (REPETTO et al., 2002; THOMPSON et al., 2006; FARIA, 2009).

A integridade da mucosa gástrica depende de fatores como manutenção da microcirculação, secreção de muco e atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido

dismutase (SOD) e glutational peroxidase (GPx), tais fatores também implicam na gastroproteção contra agentes irritantes exógenos e endógenos na mucosa gástrica (KWIECIÉN *et al.*, 2004).

A úlcera gástrica induzida por etanol ocorre predominantemente na porção glandular do estômago, sendo resultante de uma ação necrotizante direta da redução dos fatores de defesa como secreção de bicarbonato e muco, além de aumento do estresse oxidativo (RUJJANAWATE *et al.*, 2005). O etanol depleta os grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH) contidos nos tecidos estomacais, e a restauração destes parece ser importante na gastroproteção (CAMPOS, 2008).

Os radicais livres citotóxicos parecem ser detoxificados por ligação com glutational (GSH), o maior componente endógeno do “pool” dos NP-SH (PARK *et al.*, 2000; GONZALES *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2004). Portanto, compostos sulfidrílicos desempenham um importante papel no reparo de danos celulares quando agentes oxidantes estão envolvidos no processo de injúria (SZABO *et al.*, 1981). Segundo REED & FARISS (1984), a atividade antioxidante da GSH ocorre por dois mecanismos, remoção direta de radicais livres e funcionando como um substrato para a glutational peroxidase (GPx), eliminando peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos no citosol e mitocôndrias.

Na tentativa de determinar uma possível ação antioxidante gástrica dos ácidos anacárdicos, avaliamos os grupos sulfidrílicos não-protéicos (NP-SH) no modelo de úlcera induzida por etanol. Os resultados mostram que o etanol promoveu depleção de NP-SH na mucosa gástrica. A administração de NAC (750 mg/Kg, v.o.), um doador de sulfidrilas, restabeleceu os níveis de NP-SH no estômago. Os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) também foram capazes de restaurar, não completamente, mas de maneira significativa, os níveis de NP-SH na mucosa gástrica, reduzidos após a administração de etanol absoluto. Esses resultados sugerem que os ácidos anacárdicos sejam capazes de promover gastroproteção através de um mecanismo antioxidante. Além disso, esses dados obtidos conseguem refletir estudos já estabelecidos na literatura os quais demonstram o papel antioxidante atribuído aos ácidos anacárdicos (TREVISAN *et al.*, 2006).

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) são continuamente produzidas durante os eventos fisiológicos normais, sendo removidas pelo mecanismo de defesa antioxidante. Em condições patológicas, as EROs resultam em peroxidação lipídica e dano oxidativo. O desequilíbrio entre EROs e defesa antioxidante leva à modificação oxidativa na membrana celular, ou nas moléculas intracelulares (EL-HABIT et al., 2000).

As enzimas antioxidantes que proporcionam a primeira linha de defesa contra as ERO's, geradas pelo estresse oxidativo, são a SOD, a CAT e a GPx (CNUBBEN et al., 2001). A primeira enzima antioxidante da mucosa gástrica é a SOD, que cataliza a dismutação de $O_2\cdot$ em H_2O_2 que é menos nocivo. O segundo passo do metabolismo do H_2O_2 depende da atividade da GPx. A redução do H_2O_2 em água pela GPx é acompanhada pela conversão da glutathiona na forma reduzida (GSH) para a forma oxidada (GSSG), que depois é convertida em GSH pela GR (KWIECIÉN et al., 2002). A catalase está presente na maioria das células aeróbicas, sendo que em animais se encontra principalmente no fígado, rins e eritrócitos. Essa enzima deve proteger as células de grandes quantidades de H_2O_2 (EATON,1991).

Além da dosagem de NP-SH, para avaliar um possível efeito antioxidante promovido pelos ácidos anacárdicos, realizou-se a determinação dos níveis gástricos de SOD, CAT, nitrato/nitrito e de malondialdeído (MDA) no modelo de úlcera induzida por etanol.

A administração de etanol reduziu significativamente os níveis de SOD e CAT gástricos, quando comparados ao grupo controle normal. Os tratamentos com os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) e NAC (750 mg/Kg, v.o.) resultaram em aumento significativo nas atividades da SOD e da CAT, refletindo seu potencial antioxidante.

O nível total de nitrato/nitrito gástrico, marcadores de óxido nítrico endógeno, foi reduzido pela administração de etanol. Ácidos anacárdicos e NAC reverteram a depleção gástrica de nitrato/nitrito. O envolvimento do NO na gastroproteção dos ácidos anacárdicos pode estar ligado a mecanismos antioxidantes. PECHANOVA & SIMKO (2007) demonstraram que a redução de ânions superóxido favorece a estabilização do NO. Desta forma, os resultados obtidos até aqui fornecem indícios de que este seja um mecanismo provável para a participação do NO, uma vez que os ácidos anacárdicos promovem seqüestro de radicais livres, assim como desempenham papel modulador sobre enzimas como SOD.

O tratamento agudo com etanol promove o estresse oxidativo e conseqüentemente causa a peroxidação lipídica e formação de malondialdeído (MDA) (PESKAR et al., 2002). A atividade antioxidante dos ácidos anacárdicos também foi medida pela dosagem das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBA), um indicador de peroxidação lipídica (AGAR et al., 1999). O resultado mostra que o tratamento com ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.), assim como o NAC (750 mg/Kg, v.o.), inibe a peroxidação lipídica e reduz significativamente a formação de MDA, fortalecendo o mecanismo antioxidante dos ácidos anacárdicos.

Os ácidos anacárdicos foram capazes de diminuir significativamente o dano induzido pelo etanol e restaurar as atividades gástricas da SOD, da catalase, dos grupos NP-SH, dos níveis de nitrato/nitrito, assim como das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico promovidas pelo etanol absoluto, demonstrando o mecanismo antioxidante dos ácidos anacárdicos.

O efeito gastroprotetor dos ácidos anacárdicos observado em marcadores gástricos de estresse oxidativo condiz com a literatura, pois substâncias antioxidantes podem desempenhar ação gastroprotetora (REPETTO et al., 2002; THOMPSON et al., 2006; FARIA, 2009). Além dos ácidos anacárdicos, outros lipídios fenólicos não-isoprenóides como os cardóis, cardanóis e metilcardóis apresentam atividade antioxidante (TREVISAN et al., 2006).

A secreção de ácido gástrico é um processo contínuo e complexo, em que múltiplos fatores centrais e periféricos contribuem para uma meta comum, a secreção de H^+ pelas células parietais. Os fatores neuronais (acetilcolina), parácrinos (histamina) e endócrinos (gastrina) regulam a secreção de ácido. Seus receptores específicos (M_3 , H_2 e CCK_2 , respectivamente) localizam-se na membrana basolateral das células parietais no corpo e fundo gástricos. Nessas células o AMP cíclico e as vias dependentes de Ca^{2+} ativam a H^+ , K^+ -ATPase (a bomba de prótons), que efetua a troca de íons hidrogênio e potássio através da membrana celular parietal. Essa bomba gera o maior gradiente iônico conhecido nos vertebrados, com um pH intracelular de cerca de 7,3 e um pH intracanalicular de cerca de 0,8 (HOOGERWERF & PASRICHA, 2006).

A possível atividade anti-secretória gástrica promovida pela administração dos ácidos anacárdicos foi avaliada utilizando-se o modelo de ligadura do piloro em ratos, com administração da droga por via intraduodenal. Neste modelo a utilização de via intraduodenal é importante para investigar a atividade do composto quando administrado por via sistêmica, evitando contato direto das substâncias testes com a mucosa gástrica dos animais (FARIA, 2009). Neste trabalho, observou-se que os ácidos anacárdicos (30 mg/Kg, v.o.) não apresentam efeito sobre a secreção ácida gástrica e a acidez total. No modelo de dano gástrico induzido por etanol, o ácido gástrico parece não exercer papel importante para o desenvolvimento das lesões (MILLER & HENAGAN, 1984).

O mecanismo gastroprotetor dos ácidos anacárdicos é multifatorial, envolvendo um efeito antioxidante, estimulação endógena de prostaglandinas e liberação de óxido nítrico, ativação de aferentes sensíveis à capsaicina e abertura de canais de potássio sensíveis ao ATP, acompanhado por um aumento da microcirculação gástrica.

CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

- Os ácidos anacárdicos apresentaram atividade antinociceptiva nos modelos experimentais de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste da formalina e placa quente, contudo não demonstraram efeito antinociceptivo no teste da capsaicina.
- Os ácidos anacárdicos mostraram atividade antiinflamatória nos modelos experimentais de edema de pata induzido por carragenina e granuloma induzido por pellet de algodão.
- Os ácidos anacárdicos ofereceram gastroproteção nos modelos experimentais de lesões gástricas induzidas por etanol e lesões gástricas induzidas por indometacina. O mecanismo gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, na lesão gástrica por etanol, envolve a participação de prostaglandinas, óxido nítrico, canais de potássio sensíveis ao ATP e receptores TRPV1. A ação gastroprotetora dos ácidos anacárdicos envolve ainda uma ação antioxidante, comprovada pelo restabelecimento dos níveis gástricos de superóxido dismutase, da catalase, dos grupos sulfidrílicos-não-protéicos (NP-SH/GSH) e dos níveis de nitrato/nitrito, assim como foi capaz de impedir a formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os ácidos anacárdicos não apresentaram efeito sobre a secreção ácida e acidez total gástrica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase, in vitro: H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2, Academic Press, NY, p. 673–684, 1974.

AGAR, E.; BOSNAK, M.; AMANVERMEZ, R.; DEMIR, S.; AYYILDIZ, M.; CELIK, C. The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat, *Neuroreport* 10, p.1799-1801, 1999.

AIHARA, E.; NOMURA, Y.; SASAKI, Y.; ISE, F.; KITA, K.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. *Life Sciences*, v. 80, p. 2446–2453, 2007.

AKAR, F.; UYDES-DOGAN, B.S.; BUHARALIOGLU, C.K.; ABBAN, G.; HEINEMANN, A.; HOLZER, P.; VAN DE VOORDE, J. Protective effect of cromokalim, diazóxide and poulcerogenic effect of glibenclamide on indomethacin-induced gastric injury. *European Journal of Pharmacology*, v. 25, p. 461-470, 1999.

AKINPELU, D.A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. *Fitoterapia*, v. 72, Issue 3, p. 286-287, 2001.

AL-BEKAIRI, A. M.; QUERESHI, S.; AHMED, M. M., AFZAL, M.; SHAH, A .H. A study of uric acid pretreatment for the protection of rat gastric mucosal against toxic damage.

ALICAN, I.; KUBES, P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *The American Journal of Physiology*, v.270, p.225-237, 1996.

AMORIM, E.L.C.; LIMA, C.S.A.; HIGINO, J.S.; SILVA, L.R.S.; ALBUQUERQUE, U.P. *Fitoterapia: Instrumento para uma melhor qualidade de vida*. *Infarma*, v. 15, n. 1-3, p. 66-69, 2003.

ASHCROFT, F.M.; HARRISON, D.E.; ASHCROFT, S.J.H. Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic β -cells. *Nature*, v. 312, p. 446-448,

1984.

ASCHCROFT, F.M.; GRIBBLE, F.M. New windows on the mechanism of action of KATP channel openers. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 21, n. 11, p. 439-445, 2000.

ASHFORD, M.L.; STURGESS, N.C.; TROUT, N.J.; GARDNER, N.J.; HALES, C.N. Adenosine-5'-triphosphate-sensitive ion channels in neonatal rat cultured central neurons. *Pflugers Arch.*,v. 412, p. 297-304, 1988.

AUGUSTO, O. Radicais livres bons, maus e naturais. São Paulo/SP, 1ª edição, Editora Oficina de Textos, 115 p., 2006.

AZAM-ALI, S. H.; JUDGE, E. C. Small-scale cashew nut processing. Coventry, UK: ITDG Schumacher Centre for Technology and Development Bourton on Dunsmore, p. 70, 2001.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, v. 78, p. 431-441, 2005.

BARCELOUX, D. G. Pepper and Capsaicin (*Capsicum* and *Piper* Species). *Disease-a-Month*, 55, 380-390, 2009.

BASBAUM, A. I.; JESSELL, T. M. A percepção da dor. In: Kandel, E. R.; Schwartz, J.H.; Jessen, T, M. Princípios da neurociência. Barueri, SP: Manole, p.472-491, 2003.

BAUHMANN, H., GAUDIE, J. The acute phase response. *Immunol. Today*, v. 15, p. 74-80, 1994.

BAYIR, Y.; ODABASOGLU, F.; CAKIR, A.; ASLAN, A.; SULEYMAN, H.; HALICI, M.; KAZAZ, C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, v. 13, p. 584-590, 2006.

BEGUM, P.; HASHIDOKO, Y.; ISLAM, M.T.; OGAWA, Y.; TAHARA, S. Zoosporicidal activities of anacardic acids against aphanomyces cochlioides. , v.57 (9-10), p. 874-882, 2002.

BERK, J.E.; HAUBRICH, W.; KALSER, M.H.; ROTH, J.L.A.; FENTON, S. Bockus Gastroenterologia. Livraria Ed. Santos 4^a ed., p. 415, 1991.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, Anal. Biochem. 44 , p. 276-287, 1971.

BEEJAY, U.; WOLFE, M.M. Acute gastrointestinal bleeding in the intensive care unit. The gastroenterologist's perspective. Gastroenterology Clinics of North America, v.29, n.2, p.309-36, 2000.

BODE, C.; BODE, J.C. Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. Alcohol Health Res. World; v. 21, n. 1, p. 76-83, 1997.

BOROS, D. L. Granulomatous inflammations. Prog. Allergy, v. 24, p. 183-267, 1978.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal. Biochem., v. 72, p.248-254, 1976.

BRAZER, S.R.; TYOR, M.P.; PANCOTTO, F.S.; NICKL, N.J.; WILDERMANN, N.M.; HARRELL, F.E.; JR. et al. Studies of gastric ulcer disease by community-based gastroenterologists. Am. J. Gastroenterol., v. 85, n. 7, p. 824-828, 1990.

BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage in cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment – polish achievements. J. Physiol. Pharmacol., v. 54, n. 3, p. 99-126, 2003.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.; BRZOZOWSKA, I.; PAWLIK, T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. Journal of Physiology

and Pharmacology, 56, Supp 5, p.33-55, 2005.

BIGHETTI, A.E.; ANTÔNIO, M.A.; CARVALHO, J.E. Regulação e modulação da secreção gástrica. Rev. Ciênc. Méd., v. 11, p. 55-60, Campinas, 2002.

CAILLIET, R. Dor: Mecanismos e tratamentos. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul LTDA, p. 274-284, 1993.

CALATAYUD, S.; SANZ, M.J.; CANET, A. Mechanisms of gastroprotection by transdermal nitroglycerin in the rat. British Journal of Pharmacology, v. 127, p. 1111-1118, 1999.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. Cienc. Cult., v.55, nº.3, p. 37-39, 2003.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a Personal Review. Journal of Ethnopharmacology, v. 100, p. 131-134, 2005.

CAMPOS, A. R.; BARROS, A. I .S.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) offers protection against gastric lesions induced by ethanol and indomethacin in rats. Phytotherapy Research, v. 17, p. 1199-1202, 2003.

CAMPOS, D. A. Efeito gastroprotetor da 3,6-dimetoxi-6'',6''-dimetil-[2'',3'':7,8] cromenoflavona isolada de *Lonchocarpus araripensis* Benth em camundongos e possíveis mecanismos. 2008. 122 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

CARVALHO, A.C.S. Estudos pré-clínicos do efeito gastroprotetor da mangiferina, uma glicosilxantona isolada de *Mangifera indica* L., em modelos experimentais de lesão gástrica aguda. 132 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

CASTILLO-JUÁREZ, I.; RIVERO-CRUZ, F.; CELIS, H.; ROMERO, I. Anti-Helicobacter pylori activity of anacardic acids from *Amphipterygium adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 114, p. 72–77, 2007.

CASTRO, S. V. *Anatomia fundamental*. 2^a ed. São Paulo: Makron Books, 1985.

CAVAILLON, J.M. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: Myth or reality. *Cell. Mol. Biol.*, v. 47, p. 695-702, 2001.

CAVALCANTE, A.A.M.; RUBENSAM, G.; PICADA, J.N.; SILVA, E.G.; MOREIRA, J.C.F.; HENRIQUES, J.A.P. Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 41, p. 360-369, 2003.

CERVERO, F.; MEYER, R. A.; CAMPBELL, J. N. A psychophysical study of secondary hyperalgesia: evidence for increased pain to input from nociceptors. *Pain*. Jul; 58(1): 21-8, 1994.

CHEN, F.A. et al. Evaluation of the activity of *Ruellia tuberosa*. *Food Chemistry*, v.94, n.1, p.14-8, 2006.

CHO, C.H.; HUA, M.F.; CHOU, C.K.; HO, L.T. Protection of zinc sulphate against necrosis induced by ethanol in rats. *Proc. Natl. Sci. Counc.*, v. 7, p. 261-267, 1983.

CNUBBEN, N. H. P.; RIETJENS, I. M. C. M.; WORTELBOER, H.; van ZANDEN, J. & van BLADEREN, P. J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 10, p. 141-152, 2001.

COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: Contran, RS; Kumar, V.; Collins, T. *Robbins pathologic basis of disease*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999.

COLLINS, T. Inflamação aguda e crônica. In : Contran, RS; Kumar, V.; Collins, T. (Eds.). Patologia Estrutural e Funcional. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.44-78, 2000.

CORNE, S.J.; MORRISEY, S.M.; WOODS, R.J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J. Physiol. Lond.*, v. 242, p. 116-17, 1974.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de anacardiaceae. *Quim. Nova*, Vol. 29, nº 6, 1287-1300, 2006.

CORUZZI, G.; ADAMI, M.; MORINI, G.; POZZOLI, C.; CENA, C.; BERTINARIA, M. & GASCO, A. Antisecretory and gastroprotective activities of compounds endowed with H₂ antagonistic and nitric oxide (NO) donor properties. *Journal of Physiology-Paris*, v. 94(1), p. 5-10, 2000.

DAI, Y.; YE, W.C.; WANG, Z.T. et al. Antipruritic and antinociceptive effects of *Chenopodium album* L. in mice. *Journal Ethnopharmacology*, v. 81, p. 245-250, 2002.

DANTAS, T. N. C.; DANTAS, M. S. G.; NETO, A. A. D.; D'ORNELLAS, C. V.; QUEIROZ, L. R. Novel antioxidants from cashew nut shell liquid applied to gasoline stabilization. *Fuel*, v.82, p.1465-1469, 2003.

DAJANI, E.Z.; AGRAWAL, N.M. Prevention and treatment of ulcers induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an update. *J. Physiol. Pharmacol.*, v. 46, nº 3, p. 16, 1995.

DAS, P.; GANESH, A. Bio-oil from pyrolysis of cashew nut shell-a near fuel Biomass and Bioenergy v.25, p.113-117, 2003.

DAVIS, K.D.; MEYER, R.A.; COHEN, R.H.; CAMPBELL, J.N. Mechanically insensitive nociceptors in the primate. *Soc. Neurosc. Abst.*, v. 15, p. 440, 1989.

DE LIMA, S.G.; FEITOSA, C.M.; CITÓ, A.M.G.L.; MOITA NETO, J.M. et al. Effects of immature cashew nut-shell liquid (*Anacardium occidentale*) against oxidative damage in *Saccharomyces cerevisiae* and inhibition of acetylcholinesterase activity. *Genetics and Molecular Research* 7 (3) , p. 806-818 , 2008.

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, p .1-507, 2002.

DI ROSA, M.; WILLOUGHBY, D.A. Screens for anti-inflammatory drugs. *J Pharm Pharmacol* , v.23, p. 297-298, 1971.

DJOUHRI, L.; LAWSON, S.N. Ab-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to the other afferent A-fiber neurons in mammals. *Brain Research Reviews*, v. 46, p.131-145, 2004.

DOS SANTOS, M.L. ; DE MAGALHÃES, G.C. Utilization of cashew nut shell liquid from *Anacardium occidentale* as starting material for organic synthesis: A novel route to lasiodiplodin from cardols. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 10, p.13-20, 1999.

DOUBELL, T. P.; MANNION, R. J.; WOOLF, C. J. The dorsal horn: state-dependent sensory processing, plasticity and the generation of pain. In: Churchill Livingstone. *Textbook of pain*. London: P.D. Wall; R. Melzack, p. 165-81, 1999.

DRAY, A. Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaesth*, v.75, p. 125-131, 1995.

DWORKIN, R H.; BACKONJA, M.; ROWBOTHAM, M. C.; ALLEN, R R; ARGOFF, C.R; BENNETT, G. J.; BUSHNELL, M. C.; FARRAR, J. T.; GALER, B. S.; HAYTHORNTHWAITE, J. A.; HEWITT, D. J.; LOESER, J. D.; MAX, M. B.; SALTARELLI, M.; SCHMADER, K. E.; STEIN, C.; THOMPSON, D.; TURK, D. C.; WALLACE, M. S.; WATKINS, L R.; WEINSTEIN, S. M. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. *Arch Neurol*, v. 60, n° 11, p.1524-34, 2003.

EATON, J.W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of

the bestiary. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v.118, p.3-4, 1991.

EDDY, N.B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyland dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 107:385–393, 1953.

EISERICH, J.P.; PATEL, R.P.; O'DONNELL, V.B.O. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecule. *Molec. Aspects Med.*, v. 19, p. 221-357, 1998.

ELLIOTT, S.N.; MCKNIGHT, W.; CIRINO, G. A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats. *Gastroenterology*, v. 109, p. 524-530, 1995.

EL-HABIT, O. H., SAADA, H. N., AZAB, K. S., ABDEL-RAHMAN, M., ELMALAH, D. F. The modifying effect of β -carotene on gamma radiationinduced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in male rats. *Mutat Res*, 466: 179-86, 2000.

EVANGELHISTA, S. Role of sensory neurons in restitution and healing of gastric ulcers. *Curr. Pharm. Des.*, v. 12, n° 23, p. 2977-2984, 2006.

FARIA, F.M. Determinação dos mecanismos de ação envolvidos nas atividades antiulcerogênica e antioxidante de *Rhizophora mangle* L. 2009. 155 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

FERREIRA, S. H. The role of interleukins and nitric oxide in the mediation of inflammatory pain and its control by peripheral analgesics *Drugs*, v. 46, Suppl 1, p.1, 1993.

FERREIRA, S.H. Are macrophages the body's alarmme cells. *Agents and actions.*, v. 10, p. 229, 1980.

FOGLIO, M.A.; QUEIROGA, C.L.; SOUSA, I.M.O.; RODRIGUES, R.A.F. Plantas Mediciniais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar.

Revista Eletrônica MultiCiência, v. 7, p. 32, 2006.

FRANÇA, D.S.; SOUZA, A.L.S.; ALMEIDA, K.R. et al. Eur J. Pharm., v. 421, p. 157-164, 2001.

FRANZONE, J.S.; CIRILLO, R.; CRAVANZOLA, A.C. Cytoprotective activity of deboxamet: a possible interferente with prostaglandin and prostacyclin metabolism in rat gastric mucosa. Int. J. Tissue React.,v. 10, n. 3, p. 149-158, 1988.

FUNATSU, T.; CHONO, K.; HIRATA, T.; KETO, Y.; KIMOTO, A.; SASAMATA, M. Mucosal acid causes gastric mucosal microcirculatory disturbance in nonsteroidal anti-inflammatory drug-treated rats. European Journal of Pharmacology, v. 554, p. 53–59, 2007.

GAO, X.; ZHANG, Y.a.; WU, G.C. Effects of dopaminergic agents on carrageenan hyperalgesia after intrathecal administration to rats. Eur. J. Pharmacol, v.418, p.73-77, 2001.

GEDAM, P. H., SAMPARHKUMARAN. P. S., “Cashew Nut Shell Liquid: Extraction, Chemistry and Applications”, Progress in Organic Coatings, v.14, p. 115-157, 1986.

GISLASON, H.; SORBYE, H.; ABDI-DEZFULI, F.; WALDUM, H.L.; SVANES, K. Role of prostaglandins and histamine in hyperemic response to superficial and deep gastric mucosal injury and H⁺ back-difusion in cats. Digestive Diseases and Sciences, v.40, p.1669-1678, 1995.

GLAVIN, G.B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury. Laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. The FASEB J., v. 6, p. 825-831, 1992.

GONZAGA, W.A. Preparação e Avaliação Farmacológica de Derivados dos Lipídios Fenólicos do Líquido da Casca da Castanha de Caju. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)- Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

GONZALEZ, F.G.; PORTELA, T.Y.; STIPP, E.J. et al. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. *Journal Ethnopharmacology*, v.77, p.41-47, 2001.

GRAEFF, M. *Neurofisiologia da dor. Drogas psicotrópicas e seu modo de ação*, São Paulo: EPU-EDUSP, CNPq, 1984.

GRAZZINI, R.; HESK, D.; HEININGER, E.; HILDENBRANDT, G.; REDDY, C.C.; COX-FOSTER, D.; MEDFORD, J.; CRAIG, R.; MUMMA, R.O. Inhibition of lipoxygenase and prostaglandin endoperoxide synthase by anacardic acids. *Biochem Biophys Res Commun.* Apr 30;176(2), p.775-80, 1991.

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

GUEDES, M.M.; CARVALHO, A.C.S.; RAO, V.S. et al. Gastroprotective Mechanisms of Centipedic Acid, a Natural Diterpene from *Egletes viscosa* LESS. *Biol. Pharm. Bull.* 31(7), p. 1351-1355, 2008.

GURIB-FAKIM, A. *Medicinal plants: traditions of yesterday. Molecular Aspect of Medicine*, v. 27, p. 1-93, 2006.

GUTTERIDGE, J. M. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic.Res.Comm.*, 19(3), p. 141-158, 1993.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

HA TJ, KUBO I. Lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids. *J Agric Food Chem.* ;53(11), p. 4350-4, 2005.

HALLIWELL, B. Introduction to free radicals in human disease. *Saudi Medical Journal*, v. 12, p. 13-19, 1991.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M. *Free radicals in biology and medicine*. 4th edition, Oxford University Press Inc, New York, 851p. , 2005.

HAM, A. W. *Histologia*. 9^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

HANDWERKER, H.O.; KILO, S.; REEH, P.W. Afferent C-fibres from rat hairy skin not driven by natural stimulation. *Soc. Neurosc. Abst.* 15, p. 1265, 1989.

HARRIS, A.; MISIEWICZ, J.J. ABC of the upper gastrointestinal tract: management of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ*, v. 323, p. 1047-1050, 2001.

HAWKEY, C.J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology*, v. 119, p. 521-535, 2000.

HAWKEY, C. J.; RAMPTON, D. S. Prostaglandins and the gastrointestinal mucosa: are they important in its function, disease, or treatment? *Gastroenterology*, 89(5), p. 1162-1188, 1985.

HENRIQUES, M.G.M.O.; SILVA, P.M.R.; MARTINS, M.A. et al. Mouse paw edema: A new model for inflammation? *Braz J Biol Res*, v.20, p.243-249, 1987.

HIMEJIMA, M.; KUBO, I. Antimicrobial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v.39, p.418-421, 1991.

HOLLANDER, D.; TARNAWSKI, A.; GERGELY, H.; ZIPSER, R.D. Sucralfate protection of the gastric mucosa against ethanol-induced injury: A prostaglandin-mediated process? *Scand. J. of Gastroenterol.*; v. 19, p. 97-102, 1984.

HOOGERWERF, W.A.; PASRICHA, P.J. Pharmacotherapy of Gastric Acidity, Peptic Ulcer, and Gastroesophageal Reflux Disease. In: *Goodman & Gilman's -The*

Pharmacological Basis of Therapeutics. Laurence Brunton, John Lazo and Keith Parker, McGraw-Hill, United States, 11^a ed., p. 869-882, 2006.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesia. *J. Neurosci. Methods.*, v. 14, p. 69-76, 1985.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain. *Pain*, v. 30, p. 103-104, 1987.

HUNTER, M. GIEBISCH, G. Calcium-activated K-channels of *Amphiuma* early distal tubule: inhibition by ATP. *Pflugers Arch.*; v. 412, n. 3, p. 331-333, 1988.

IASP. International Association for the Study of Pain, 1979. Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org/terms-p.html>>. Acesso em: 2 de agosto de 2009.

IGNARO, L.J.; BUGA, G.M.; WOOD, K.S.; BYRNS, R.E.; CHAUDHURI, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 84, p. 9265-9269, 1987.

IKEDA, R.; TANAKA, H.; UYAMA, H.; KOBAYASHI, S. Synthesis and curing behaviors of a crosslinkable polymer from cashew nut shell liquid. *Polymer* 43, p. 3475-3481, 2002.

ISHIHARA, K.; KUWARA, H.; OHARA, S.; OHKAWA, H.; OKABE, H.; HOTTA, K. Mucus glycoprotein and mucosal protection. *Journal Clinical Gastroenterology*; v. 10, p. 24-27, 1988.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; NAKAHARA, K.; TAKEYA, K.; LEPOITTEVIN, J.P.; ASAKAWA, Y. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. *Chemistry Pharmacy Bulletin*, v. 35, p. 3016-3020, 1987.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; NAKAHARA, K.; MAEZURU, M.; TAKEYA, K.; KONDO, M.; INAMATSU, M.; MORITA, H. A quantitative structure-activity relationship for antitumor activity of long-chain phenols from *Ginkgo biloba* L. *Chemistry Pharmacy Bulletin*, v. 37, p. 1619-1621, 1989.

JAHANGIR, A.; TERZIC, A.; SHEN, W. Potassium channel openers: therapeutic potential in cardiology and medicine. *Expert Opin. Pharmacother.*, v. 2, n. 12, p. 1995-2010, 2001.

JAINU, M.; DEVI, C.S.S. Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: Possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 104, p. 156–163, 2006.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, v. 413, n. 6852, p.203-10, 2001.

KARABUCAK, B.; WALSCH, H.; JOU, Y.T.; SIMCHON, S.; KIM, S.. The role of endothelial nitric oxide in the substance P induced vasodilation in bovine dental pulp. *J. Endod.*, v. 31, p. 733-736, 2005.

KASPER, D.L., FAUCI, A.S., LONGO, D.L., BRAUNWALD, E., HAUSER, S.L., JAMESON, J.L. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Ed., New York: McGraw-Hill, 2005.

KATO, S.; AIHARA, E.; NAKAMURA, A.; XIN, H.; MATSUI, H.; KOHAMA, K.; TAKEUCHI, K. Expression of vanilloid receptors in rat gastric epithelial cells: role in cellular protection. *Biochem. Pharmacol.*; v. 66, p. 1115-1121, 2003.

KAWANO, S.; TSUJI, S. Role of mucosal blood flow: a conceptual review in gastric mucosal injury and protection. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 15: D1-D6, 2000.

KIDD, B. L.; URBAN, L. A. Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth*, v.87, n.1, p.3-11, 2001.

KIM, P.K.M.; ZAMORA, R.; PETROSKO, P.; BILLIAR, T.R. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis. *International Immunopharmacology*, v. 1, p. 1421-1441, 2001.

KONAN, N.A., BACCHI, E.M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. *J Ethnopharmacol.*, v. 112, p. 237-242, 2007.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, v. 18, p. 412-417, 1959.

KUBO, I.; KOMATSU, S.; OCHI, M. Molluscicides from the Cashew *Anacardium occidentale* and Their Large-Scale Isolation. *J. Agric. Food Chem.*, v. 34, p. 970-973, 1986.

KUBO, I.; OCHI, M.; VIEIRA, P.C.; KOMATSU, S. Antitumor agents from the Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 41, p. 1012-1015, 1993a.

KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M.; YAMAGIWA, Y.; MERA, H.; TOKUSHIMA, K.; OHTA, S.; KAMIKAWA, T., Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 41, p. 1016-1019, 1993b.

KUBO, I.; KINST-HORI, I.; YOKOKAWA, Y. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. *Journal of Natural Products*, v. 57, p. 545-551, 1994.

KUBO, I.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), v. 17; 51(26), p. 7624-8, 2003.

KUMAR, P.P.; PARAMASHIVAPPA P.J.; VITHAYATHIL, P.J.; SUBRA RAO, P.V.; et al. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell liquid. *J. Agric. Food Chem.* 50, p. 4705-4708, 2002.

KUSTERS, J.G., VAN VLIET, A.H., KUIPERS, E.J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Review* ,v.19, p.449–490, 2006.

KWIECIÉN, S., BRZOWISK, T., KONTUREK, S. J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa damage. *Physiol. Pharmacol.*, 53: 39-50, 2002.

KWIECIÉN, S.; BRZOWISK, T.; KONTUREK, P. C.; PAWLIK, M. W.; KWIECIÉN, N.; KONTUREK, S. J. Gastroprotection by pentoxifilline against stress-induced gastric damage. Role of lipid peroxidation, antioxidizing enzymes and proinflammatory cytokines. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 55, p. 337-355, 2004.

LANSEN, G.L.; HENSON, P.M. Mediators of inflammation. *Rev. Immunol.*, v. 1, p. 335-359, 1993.

LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R. et al. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. Setor de Produtos Naturais, Departamento de Farmacologia, UNIFESP/EPM, 2007.

LEE, Y.; LEE, C. H.; OH, U. Painful channels in sensory neurons. *Mol Cells*, v.20, n.3, p.315-24, 2005.

LEWIS, D.A. & HANSON, P.J. Anti-ulcer drugs of plant origin. *Progress Medicinal Chemistry*, 28, p. 201-231, 1991.

LINO, C.S. Efeitos antidiabético,antioxidante, analgésico e antiinflamatório da fração solúvel em metanol e tiramina isolados de *Cissus verticillata*. 2008. 190 f. Tese (Doutorado em Farmacologia)- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

LUBI, M. C.; THACHIL, E. T. Cashew nut shell liquid (CNSL) - a versatile monomer for polymer synthesis. *Monomers and polymers*, v.3, n.2, p.123-153, 2000.

MA, H.C.; DOHI, S.; WANG, Y.F.; ISHIZAWA, Y.; YANAGIDATE, F. The

antinociceptive and sedative effects of carbachol and oxycodone administered into brainstem pontine reticular formation and spinal subarachnoid space in rats. *Anesth. Analg.*, v. 92, p. 1307-1315, 2001.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA-JR, V.F.; Grynberg, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quím. Nova*, v.25, n.3, p. 429-438, 2002.

MACMATH, T.L. Alcohol and gastrointestinal bleeding. *Emerg. Md. Clin. North Am.*; v. 8, n. 4, p. 859-872, 1990.

MAFFEZZOLI, A.; CALO, E.; ZURLO, S.; MELE, G.; TARZIA, A.; STIFANI, C. Cardanol based matrix biocomposites reinforced with natural fibres. *Composites Science and Technology* v.64, p.839-845, 2004.

MAGGI, C.A. Pharmacology of the efferent function of primary sensory neurons . In: GEPETTI, P., HOLZER, P. (eds) *Neurogenic Inflammation*. London: CRC Press, 1996.

MALCANGIO, M.; BOWERY, N. G. GABA and its receptors in the spinal cord. *Trends Pharmacol. Sci.*, v.17, n.12, p. 457-462, 1996.

MALMBERG, A.B.; YAKSH, T.L. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U 50488H and L-PIA on the formalin test and an isobolographic analysis of the NSAID interaction. *Anesthesiology*, v. 79, p. 270-281, 1993.

MARTINEZ, M.A.; BARREIRA, P. *Caju - Uma planta de mil utilidades*, Editora Ícone São Paulo , 1992.

MASUOKA, N. AND KUBO, I. Characterization of xanthine oxidase inhibition by anacardic acids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1688 , p.245– 249, 2004.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Gastroprotections of escins Ia, Ib, IIa and IIb on ethanol-induced gastric mucosa lesions in rats. *European Journal of Pharmacology*; v. 373, p. 63-70, 1999.

MCBRIDE, O.W.; MITCHELL, A.; LEE, B.J.; MULLENBACH, G.; HATFIELD, D. Gene for selenium-dependent glutathione peroxidase maps to human chromosomes 3, 21 and X. *BioFactors*, v.1, p. 285-292, 1988.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244(22), p. 6049-6055, 1969.

McEVER, R.P. Leukocyte interactions mediated by selectins. *Thromb. Haemost.*, v.66, p. 80-87, 1991.

MCMAHON, S. B.; KOLTZENBURG, M. Novel classes of nociceptors: beyond Sherrington. *Trends Neurosci.*, v. 13, p. 199, 1990.

MÉGRAUD, F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v. 22, p. 73-88, 1993.

MELZACK, R.; LOESER, J.D. Pain: an overview. *Pain*, v. 353, p.1607-1609, 1999.

MENEZES, R. A. Neuroanatomofisiologia da Dor. IN: MENEZES, R. A. (org.). *Síndromes Dolorosas – Diagnóstico-Terapêutico – Saúde Física e Mental*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, p. 9-19, 1999.

MILANI, S.; CALABRO, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc. Res. Tech.*, 53(5), p. 360-371, 2001.

MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, v. 57, p.1-64, 1999.

MILLER, T.A. ; HENAGAN, J.M . Indomethacin decreases resistance of gastric barrier to disruption by alcohol, *Dig. Dis. Sci.* 29 (1984) 141–149.

MITCHELL, J.D., MORI, S.A. *The Cashew and Its Relatives (anacardium: Anacardiaceae)*, Memoirs of The New York Botanical Garden, New York, 1987.

MITSCHER, L.A.; DRAKE, S.; GOLLAPUDI, S.R.; OKUNTE, K. A modern look at folkloric use of antiinfective agents. *J. Nat. Prod.*; v. 50, p. 1025-1240, 1987.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, v. 43, p. 109-142, 1991.

MOTA, M. R. L. Estudo da atividade antiinflamatória e antinociceptiva da lectina isolada de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth. Tese (Doutorado em Farmacologia). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

MOVAT, H. Z. *The inflammatory Reaction*. Oxford: Elsevier, p.49-71 , 1985.

MUROI, H.; KUBO, I. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 41, p. 1780-1783, 1993.

MUROI, H.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K.; KUBO, I. Synergistic effects of anacardic acids and methicillin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.12, p.583-587. 2004.

MUSCARA, M.N.; WALLACE, J.L. Nitric oxide. V. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors. *Am. J. Physiol.*; v. 276, p. 1313-1316, 1999.

MWALONGO, G. C. J.; MKAYULA, L. L.; DAWSON-ANDOH, B.; MUBOFU, E. B.; SHIELDS, J.; MWINGIRA, B. A. *Green Chem.* 1999.

MYTHILYPRIYA, R.; SHANTHI, P.; SACHDANANDAM, P. Analgesic, Antipyretic and Ulcerogenic Properties of an Indigenous Formulation – Kalpaamruthaa. *Phytother. Res.* 21, 574–578, 2007.

NAHAVANDI, A.; DEHPOUR, A.R.; MANI, A.R.; HOMAYOUNFAR, H.; ABDOLI, A. NG-nitro-L-arginine methylester is protective against ethanol-induced gastric damage in cholestatic rats. *European Journal of Pharmacology*; v. 370, p. 283-286, 1999.

NAIR, A. G. R.; KOTIYAL, J. P.; BHARDWAJ, D. K.; *Phytochemistry*, v. 22, p. 318, 1983.

NATALE, G.; LAZZERI, G.; LUBRANO, V.; COLUCCI, R.; VASSALLE, C.; FORNAI, M.; BLANDIZZI, C.; DEL TACCA, M. Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 195, p. 62-72, 2004.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. *Nature*, v. 420, p. 846-852, 2002.

NESS, T. J.; GEBHART, G.F Visceral pain: a review of experimental studies. *Pain*, v. 41, p. 167-234, 1990.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Product*, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NISHIO, H.; HAYASHI, Y.; TERASHIMA, S.; TAKEUCHI, K. Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodoacetamide treatment. *Life Sciences*, v. 79, p. 1523-1530, 2006.

NOMA, A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature*; v. 305, n. 5930, p. 147-148, 1983.

OJEWOLE, J. A. Potentiation of the antiinflammatory effect of *Anacardium occidentale* (Linn.) stem-bark aqueous extract by grapefruit juice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 26(3): 183, 2004.

OJEWOLE, J. Anti-inflammatory, analgesic and hypoglycaemic effects of *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 27(8): 547, 2005.

OKUSE, K. Pain signaling pathways: From cytokines to ion channels. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Nov. 2006.

OLAJIDE, O.A.; ADEROGBA, M.A.; ADEDAPO, A.D.; MAKINDE, J.M. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. *J. Ethnopharmacol.*, v. 95, p. 139-142, 2004.

OLIVEIRA, M.S. Atividade antinociceptiva, antipirética e antiinflamatória do extrato bruto e do ácido fumarprotocetrárico isolado de *Cladonia verticillaris* (LÍQUEN). 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

OLIVEIRA, F.A. ; LIMA JÚNIOR, R.C.P.; SILVA, R.M.DA ; SANTOS, F.A. ; RAO V.S. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacological Research*, Itália, v. 49, n. 2, p. 105-111, 2004a.

OLIVEIRA, F.A.; VIEIRA-JUNIOR, G.M.; CHAVES, M.H.; ALMEIDA, F.R.; SANTOS, K.A.; MARTINS, F.S.; SILVA, R.M.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S. Gastroprotective effect of the mixture of alpha- and beta-amyrin from *Protium heptaphyllum*: role of capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *Planta Medica.*, v.70, nº 8, p. 780-782, 2004b.

ORHAN, I.; KÜPELI, L.; ASLAN, M.; KARTAL, M.; YESILADA, E. Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L. *Journal of Ethnopharmacology* 105 , p. 235–240, 2006.

PALMER, R.M.; ASHTON, D.S.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, v. 16, p. 664-666, 1988.

PANDIAN, R.S.; ANURADHA, C.V.; VISWANATHAN, P. Gastroprotective effect of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats. *J. Ethnopharmacology*, v. 81, p. 393-397, 2002.

PARAMASHIVAPPA, R.; P. P. KUMAR; P. J. VITHAYATHIL; A. SRINIVASA RAO, J. Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. *Agric. Food Chem.*, v.49, p. 2548-2551, 2001.

PARAMASHIVAPPA, R.; PHANI KUMAR, P.; SUBBA RAO, P.V.; AND SRINIVASA RAO, A. Synthesis of Sildenafil Analogues from Anacardic Acid and Their Phosphodiesterase-5 Inhibition. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (26), p. 7709-7713, 2002.

PARK, J.S.; CHOI, M.A.; KIM, B.S.; HAN, I.S. KURATA, T.; YU, R. Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats. *Life Science*; v. 67, n. 25, p. 3087-3093, 2000.

PATEL, R. N., BANDYOPADHYAY, S., GANESH, A., Economic appraisal of supercritical fluid extraction of refined cashew nut shell liquid, *Journal of Chromatography A*, v.1124, p. 130-138, 2006.

PAUL, V.J.; YEDDANAPALLI, L.M. "Olefinic Nature of Anacardic Acid from Indian Cashew-nut Shell Liquid". *Nature*, v. 174, p. 604, 1954.

PECHANOVA, O. & SIMKO, F. The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance. *Physiological Research*, 56: S7-S16, 2007.

PEIXOTO, A. Caju - Produtos Rurais, Ministério da Agricultura, Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 1960

PESKAR, B.; M. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defence. *Journal of Physiology-Paris*, v. 95, p. 3-9, 2001.

PESKAR, B.M.; EHRLICH, K.; PESKAR, B.A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 301, p. 969-974, 2002.

PESSOA, P. F. A. D. P.; LEITE, L. A. D. S. Cadeia Produtiva do Caju: subsídios

para pesquisa e desenvolvimento

http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_582.pdf, p.1-36. 2006

PETERSEN, H.; JOHANNESSEN, T.; KLEVELAND, P.M.; FJOSNE, U.; DYBDAHL, J.H.;WALDUM, H.L. Do we need to listen to the patient? The predictive value of symptoms.Scand. J. Gastroenterol. Suppl., v. 155, p. 30-36, 1988.

PFEIFFER, S.; LEOPOLD, E.; SCHMIDT, K.; BRUNNER, F.;MAYER, B.
Inhibition of nitric oxide synthesis by NG-nitro-L-arginine methyl ester (LNAME): requirement for bioactivation to the free acid, NG-nitro-L-arginine.
Br. J. Pharmacol., 118(6), p. 1433-1440, 1996.

PHILIP, M.; ROWLEY, D.A.; SCHEREIBER, H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. In: Seminars in Cancer Biology, v.14, p. 433-439, 2004.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. Quím. Nova, v.25, Supl. 1, p. 45-61, 2002.

PIO CORRÊA, M.; Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, Ministério da Agricultura-IBDF, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, v.1, 1984.

PRITHIVIRAJ, B.; MANICKAM, M.; SINGH, U. P.; RAY, A. B. Antifungal activity of anacardic acid , a naturally occurring derivative of salicylic acid. Can. J. Bot., 75, 207, 1997.

RADOMSKI, M.W.; MONCADA, S. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide. Thromb. Haemostat., v. 70, p. 36-41, 1993.

RAINSFORD, K.D. An analysis of the gastro-intestinal side-effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs, with particular reference to comparative studies in man and laboratory species. Rheumatology International, v. 2, p. 1-10, 1982.

RAJA, S. N.; MEYER, R.A.; RINGKAMP, M.; CAMPBELL, J. N Peripheral neural mechanisms of nociception. In: Textbook of pain . Churchill Livingstone, London: P.D. M. WALL, R. p 11-57, 1999.

RAMABADRAM, K. AND BANSINATH, M. The role of endogenous opioid peptides in the regulation of pain. Crit. Rev. Neurobiol., v.6, p. 13-32, 1990.

RAMPRASATH, V. R.; SHANTHI, P.; SACHDANANDAM, P. Anti-inflammatory Effect of *Semecarpus anacardium* LINN. Nut Extract in Acute and Chronic Inflammatory Conditions. *Biol. Pharm. Bull.* 27(12) 2028—2031 , 2004.

RANG, H.P.; BEVAN, S.; DRAY, A. Chemical activation of nociception peripheral neurons. Br. Med. Bull., v. 47, n. 3, p. 534, 1991.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. Local hormones , inflammation and immune reactions. In: Pharmacology. Edinburgh: Churchill Livingstone , 2003.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier Editora. Tradução da 5ª edição americana, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. Pharmacology. Elsevier. 6th Edition, 2007.

RAO, C.V.; OJHA, S.K.; RADHAKRISHNAN, K.; GOVINDARAJAN, R.; RASTOGI, S.; MEHROTRA, S.; PUSHPANGADAN, P. Antiulcer activity of *Urtica salicifolia* rhizome extract. *J. Ethnopharmacology*; v. 91, p. 243-249, 2004.

REED, D.J.; FARISS, M.W. Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol. Rev.*; v. 36, p. 25, 1984.

REITMAN, S. Gastric secretion. In: FRANKEL, S.; REITMAN, S.; SONNENWORTH, A.C. (Ed.). *Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis*. London: Mosby, p. 1949- 1958, 1970.

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*, 35(5), p. 523-534, 2002.

RESHMA SHETTY, K. VIJAY KUMAR, M.U.R. NAIDU, K.S. RATNAKAR. Effect of *Gingko biloba* extract on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, v. 32, p. 313-317, 2000.

RIBEIRO, R.A.; FLORES, C.A.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. IL-8 cause in vivo neutrophil migration by a cell dependent mechanism. *Immunology*, v. 73, p. 472-477, 1991.

RIBEIRO, R.A.; SOUZA-FILHO, M.V.P.; SOUZA, M.H.L.P.; OLIVEIRA, S.H.P.; COSTA, C.H.S.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H.P. Role of resident mast cells and macrophages in the neutrophil migration induced by LTB₄, fMLP and C5a des arg. *Int. Arch. Allergy. Immunol.*, v. 112, p. 27-35, 1996.

RIBEIRO, R.A. ; VALE, M. L. ; THOMAZZI, S.M.; CUNHA, F.Q. AND FERREIRA, S.H. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur J Pharmacol* **387**:111–118, 2000.

ROBBINS, S. L. ;COTRAN, R.S.; KUNAR, K. *Patologia estrutural e funcional*. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2000.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. *As Bases Patológicas das Doenças*. Cap 3: Inflamação e reparo. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 48-79, 2005.

ROBERT, A.; NEZAMIS, J.; LANCSATER, C.; HANCHAR, J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology*, v. 77, p. 433-443, 1979.

RODRIGUES, P. A. Atividade gastroprotetora e antioxidante de extratos e constituintes químicos de *Byrsonima sericea* dc. e *Plectranthus grandis* cramer (willenssem). 2008. 146 f.

Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)- Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.

RODRÍGUEZ-TÉLLEZ, M.; ARGÜELLES, F.; HERRERÍAS, J. M. Jr.; LEDRO, D.; ESTEBAN, J. & HERRERÍAS, J. M. Antiinflammatory agents less dangerous for gastrointestinal tract. *Current Pharmaceutical Design*, v. 7, p. 951-976, 2001.

ROSEN, G.M.; POU, S.; RAMOS, C.L.; COHEN, M.S.; BRITIGAN, B.E. Free radicals and phagocytic cells. *FASEB J.*, 9(2), p. 200-209, 1995.

RUJJANAWATE, C.; KANJANAPOTHI, D.; AMORNLERDPISON, D.; POJANA, S. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 102, p. 120-122, 2005.

SAADÈ, NE; MASSAAD, CA; OCHOA-CHAAR, CI; JABBUR, SJ, SAFIEH-GARABEDIAN, B.; ATWEH, SF. Up regulation of proinflammatory cytokines and nerve growth factor by intraplantar injection of capsaicin in rats. *J. Physiol.*, p.241-53, 2002.

SAKAI, H.; KUMANO, E.; IKARI, A.; TAKEGUCHI, N. A gastric housekeeping Cl channel activated via prostaglandin EP3 receptor-mediated Ca² nitric oxide/ cGMP pathway. *J. Biol. Chem.*, v. 270, p. 18781-18785, 1995.

SANTOS, F.A.; RAO, V.S. 1,8-Cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric-injury in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 46, p. 331-337, 2001.

SBED-Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. 2009. Disponível em: <http://www.dor.org.br/impactosdor.asp>>. Acesso em: 13 de julho 2009.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G. Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC. Capítulo 15., p. 301-332, 2001.

SCHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Ciência Rural*, v. 36, nº 1, p. 149- 154, 2006.

SCHMIDT, B.; RIBNICKY, D. M.; POULEV, A., et al. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism Clinical and Experimental*, 57 (Suppl 1) S3–S9, 2008.

SCHULTZ, D.J.; OLSEN, C.; COBBS, G.A.; STOLOWICH, N.J. AND PARROTT, M.M. Bioactivity of Anacardic Acid against Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) Larvae. *J. Agric. Food Chem.*, 54, p. 7522-7529, 2006.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, v. 25, p. 192-205, 1968.

SHAH, V.; LYFORD, G.; GORES, G.; FARRUGIA, G. Nitric Oxide in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology*, v.126, p. 903-913, 2004.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H. et al. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain*, v.38, p. 347-352, 1989.

SHIRIN, H.; PINTO, J.T.; LIU, L.U.; MERZIANU, M.; SORDILLO, E.M.; MOSS, S.F. Helicobacter pylori decreases gastric mucosal glutathione. *Cancer Lett.*, v. 26, n. 2, p. 127-33, 2001.

SHOBHA, S.V.; KRISHNASWAMY, P.R.; RAVINDRANATH, B. Phenolic lipid composition during development of cashew. *Phytochemistry*, v.31, nº 7, p.2295-2297, 1992.

SICKER, T.; WUCHOLD, F.; KAISER, B.; GLUSA, E.. Systemic vascular effects of thrombin and thrombin receptor activating peptide in rats. *Thrombosis Res.*, v. 101, p. 467-475, 2001.

SINGH, S.; MAJUMDAR, D.K. Evaluation of the gastric anti-ulcer activity of fixed oil of *cimum sanctum* (Holy Basil). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 65, n.1, p.13-19, 1999.

SIQUEIRA, J.R.; DANTAS, C.J.S. Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação. Rio de Janeiro: Medsi, p. 238, 2000.

SMITH, R. L.; MALALUAN, R. M.; SETIANTO, W. B.; INOMATA, H.; ARAI, K. *Bioresource Technology*, v.88, p.1-7. 2003.

SOARES, J. B. O caju: aspectos tecnológicos. Fortaleza: Ed. do Banco do Nordeste do Brasil, p. 256, 1986.

SOKENG, S. D.; KAMTCHOUING, P.; WATCHO, P.; JATSA, H. B.; MOUNDIPA, P. F.; NGOUNOU, F. N.; LONTSI, D.; BOPELET, M. Hypoglycemic activity of *Anacardium occidentale* L. aqueous extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes research*, v. 36, n° 1, p. 1-9, 2001.

SPRUCE, A.E.; STANDEN, N.B.; STANFIELD, P.R. Voltage-dependent ATP-sensitive potassium channels of skeletal muscle membrane. *Nature*, v. 316, n° 6030, p. 736-738, 1985.

STANDEN, N.B.; QUAYULE, J.M.; DAVIES, N.W.; BRAYDEN, J.E.; HUANG, Y.; NELSON, M.T. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. *Science*, v. 14, p. 177-180, 1989.

STICKNEY, J.C.; NORTHUP, D.W. Effect of gastric emptying upon propulsive motility of small intestine in rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 101, p. 582, 1959.

STOWE, D.F.; HEISNER, J.S.; CHUNG, W.W.; FUJITA, S.. Volatile anaesthetics restore bradykinin and serotonin-induced coronary vasodilation after blocking nitric oxide synthase: lack of anaesthetic effects on K_{ATP} channels and prostaglandin pathways. *Eur. J. Anaesthes.*, v. 18, p. 219-230, 2001.

SULLIVAN, J. T.; RICHARDS, C. S.; LLOYD, H. A.; KRISHNA, G. *Planta Med.*44, p. 175, 1982.

SUNG, B.; Pandey MK, Ahn KS, Yi T, Chaturvedi MM, Liu M, Aggarwal BB. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappaB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappaBalpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. *Blood.*, v.15, 111(10):4880-91, 2008.

SZABO, S.; TRIER, J.S.; FRANKEL, P.W. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science*, v. 214, p. 200-202, 1981.

SZABO, S.; TRIER, J.S.; BROWN, A.; SCHNOOR, J. Early vascular injury and increase vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in rat. *Gastroenterology*, v. 88, p. 228, 1985.

SZABO, S. Mechanisms of gastric mucosal injury and protection, *J. Clin. Gastroenterol.*, v.13, S21-34, 1991.

SZABO, S.; SZELENYI, I. 'Cytoprotection' in gastrointestinal pharmacology. *TIPS*, v. 8, p. 149-154, 1987.

SZABO, S. & VINCZE, Á. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *Journal of Physiology*, v. 94, p. 77-81, 2000.

SZOLCSANYI, J.; BARTHO, L. Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. *J. Physiol.*, v. 95, n. 1-6, p. 181-188, 2001.

TAKAISHI, K.; ALEN, Y.; KAWAZU, K.; BABA, N.; NAKAJIMA, S. Synthesis and Antinematodal Activity of 3-n-Alquil fenóis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, v.68, p. 2398-2400, 2004.

TAN, P.V.; NYASSE, B.; DIMO, T.; MEZUI, C. Gastric cytoprotective anti-ulcer effects of the leaf methanol extract of *Ocimum suave* (Lamiaceae) in rats. *J. Ethnopharmacol.*, v.82, p. 69-74, 2002.

TAKAGI, K.; KASUYA, Y.; WATANABE, K. Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*; v. 12, p. 465-472, 1964.

TAKAGI, K.; OKABE, S. The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *Japanese Journal of Pharmacology*, v. 18, p. 9-18, 1968.

TEIXEIRA, M.J.; PIMENTA, C.A. M. Introdução: a evolução do conhecimento. In Limay. Dor: conceitos gerais. São Paulo: M. J. Teixeira, p. 3-7, 1994.

TÉTREAULT, M.P.; CHAILLER, P.; BEAULIEU, J.F.; RIVARD, N.; MÉNARD, D. Epidermal growth factor receptor-dependent PI3K-activation promotes restitution of wounded human gastric epithelial monolayers. *Journal of Cellular Physiology*, v. 214, Issue 2, p. 545 - 557, 2007.

TJØLSEN, A.; BERGE, O.G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, v. 51, p. 5-17, 1992.

TREVISAN, M.T.S; PFUNDSTEIN, B; HAUBNER R; WÜRTELE, G; SPIEGELHALDER, B; BARTSCH, H; OWEN, R.W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, p. 188–197, 2006.

THOMOPOULOS, K.C.; VAGENAS, K.A.; VAGIANOS, C.E.; MARGARITIS, V.G.; BLIKAS, A.P.; KATSAKOULIS, E.C.; NIKOLOPOULOU, V.N. Changes in aetiology and clinical outcome of acute upper gastrointestinal bleeding during the last 15 years. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, v. 16, n. 2, p. 177-182, 2004.

THOMPSON, M.J.; HEIMENDINGER, J.; DIKER, A.; O'NEILL, C.; HAEGELE, A.;

HEINECKE, B.; WOLFE, P.; SEDLACEK, S.; ZHU, Z.; JIANG, W. Dietary botanical diversity affects the reduction of oxidative biomarkers in women due to high vegetable and fruit intake. *J. Nutr.*, v. 136, p. 2207–2212, 2006.

TOMA, W.; GRACIOSO, J.S.; ANDRADE, F.D.P.; HIRUMA-LIMA, C.A.; VILEGAS, W.;BRITO, A.R.M.S. Antiulcerogenic activity of four extracts from the barks wood of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Biol. Pharm. Bull.*, v. 25, n. 9, p. 1151-1155, 2002.

TOROUDI, H.P.; RAHGOZAR, M.; BAKHTIARIAN, A.; DJAHANGUIRI, B. Potassium channel modulators and indometacin-induced gastric ulceration in rats. *Scand. J. Gastroenterology*, v. 34, n° 10, p. 962-966, 1999.

TOYOMIZU, M.; SUGIYAMA, S.; JIN, R.L.; NAKATSU, T. α -Glucosidase and aldose reductase inhibitors: constituents of Cashew, *Anacardium occidentale*, nut shell liquid. *Phytotherapy Research*, v. 7, p. 252-254, 1993.

TOYOMIZU, M.; OKAMOTO, K.; ISHIBASHI, T.; CHEN, Z.; NAKATSU, T. Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria. *Life Sciences*, v. 66, p. 229-234, 2000.

TREEDE, R D.; MEYER, R A.; RAJA, S. N.; CAMPBELL, J. N. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol*, v. 38, n. A, p. 397- 421, 1992.

TYMAN, J.H.P. *The Chemistry of Non-Isoprenoid Phenolic Lipids, Studies in Natural Products Chemistry* (ed. Atta-ur-Rahan), Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 9, 313, 1991.

USHANANDINI, S.; NAGARAJU, S.; NAYAKA, S.C.; KUMAR, K.H.; KEMPARAJU, K.; GIRISH KS. The anti-ophidian properties of *Anacardium occidentale* bark extract. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, Vol. 0, n° 0, p. 1-9, 2009.

VASQUEZ-RAMIREZ, R., OLGUIN-MARTINEZ, M., KUBLI-GARFIAS, C.,

HERNANDEZ-MUNOZ, R. Reversing gastric mucosal alterations during ethanol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *World J. Gastroenterol.*, 12(27), p. 4318-24, 2006.

VIEGAS-JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quim. Nova*, v. 29, nº 2, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, T.S. Estudos visando à síntese de novos derivados do LCC com potencial atividade no tratamento da doença de Alzheimer. Dissertação (Mestrado em Química)- Instituto de Química. Universidade de Brasília. Brasília, 2007.

VILCEK, J.; FELDMAN, M.; Historical review: cytokines as therapeutic and targets of therapeutics. *trends Pharmacologic sciences*. v.25, n. 4, p. 201-209, 2004.

WALLACE, J.L.; GRANGER, D.N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J.*, v. 10, p. 731-740, 1996.

WALLACE, J.L. Nitric oxide, aspirin-triggered lipoxins and NO-aspirin in gastric protection, *Inflamm. Allergy Drug Targets* 5, p. 133-137, 2006.

WILLIAMS, T.J. Prostaglandin E₂, Prostaglandin I₂ and the vascular changes of inflammation. *Br J Pharmacol*, v. 65, p. 517-524, 1979.

WINTER, C.A.; PORTER, C.C. Effect of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glucogen activities of hydrocortisone esters. *J. Am. Pharm. Ass. Ed.*, v. 46, p. 515-519, 1957.

WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 3, p. 544-547, 1962.

WHITTLE, B.J.; OREN-WOLMAN, N.; GUTH, P.H. Gastric vasoconstrictor actions of leukotriene C₄, PGF₂ alpha, and thromboxane mimetic U-46619 on rat submucosal microcirculation in vivo *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, v. 248, p. G580-G586,

1985.

WHITTLE, B.J.R.; VANE, J.R. Prostanoids as regulators of gastrointestinal function. In: Physiology of the Gastrointestinal Tract, ed. By L.R. Johnson, 2nd ed.; Raven Press, New York, p. 143-180, 1987.

WOTHERSPOON, F.; BROWNE, D.L.; MEEKING, D.R.; ALLARD, S.E.; MUNDAY, L.J.; SHAM, K.M.; CUMMINGS, M.H.. The contribution of nitric oxide and vasodilator prostanoids to bradykinin-mediated vasodilation in type 1 diabetes. Diabetic Medicine, v. 22, p. 697-702, 2005.

YASKSH, T.I. ; RUDY, T.A. Studies on the direct spinal action of narcotics on the production of analgesia in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 202, p. 411-428, 1977.

YOKOYAMA, C.; TANABE, T.; Cloning of human gene encoding prostaglandin endoperoxidase synthase and primary structure of enzyme. Biochem. Biophys. Res. Commun. v. 1665, p. 3746-3752, 1989.

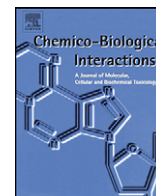
YOUSIF, M.H.M. Histamine-induced vasodilation in the perfused kidney of STZ diabetic rats: Role of EDNO and EDHF. Pharmacol. Res., v. 51, p. 515-521, 2005.

YUNES, R. A. ; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Quim. Nova, v. 24, p.1, 2001.

ANEXO

10. ANEXO

Anexo 1. Artigo aceito para publicação referente à Dissertação de Mestrado.



Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice

Talita C. Morais^a, Natália B. Pinto^a, Karine Maria M.B. Carvalho^b, Jeison B. Rios^c,
Nagila Maria P.S. Ricardo^c, Maria Teresa S. Trevisan^c, Vietla S. Rao^a, Flávia A. Santos^{a,*}

^a Department of Physiology and Pharmacology, Biomedical Institute of Brazilian Semi-arid, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

^b Post-Graduation Programme in Medical Sciences, Federal University of Ceará, Faculty of Medicine, Fortaleza, CE, Brazil

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

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 June 2009

Received in revised form 2 October 2009

Accepted 12 October 2009

Available online 22 October 2009

Keywords:

Anacardium occidentale

Anacardic acids

Gastroprotection

Gastric mucosal damage

Absolute ethanol

ABSTRACT

Cashew nut-shell liquid and the contained anacardic acids (AAs) have been shown to possess antioxidant, lipoxygenase inhibitory, anti-*Helicobacter pylori* and antitumor properties. Despite these known effects, hitherto there were no published reports on their likely gastroprotective effects. The present study was designed to verify whether AAs afford gastroprotection against the ethanol-induced gastric damage and to examine the underlying mechanism(s). Gastric damage was induced by intragastric administration of 0.2 mL of ethanol (96%). Mice in groups were pretreated orally with AAs (10, 30 and 100 mg/kg), misoprostol (50 µg/kg), or vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg), 45 min before ethanol administration. They were sacrificed 30 min later, the stomachs excised, and the mucosal lesion area (mm²) measured by planimetry. Gastroprotection was assessed in relation to inhibition of gastric lesion area. To study the gastroprotective mechanism(s), its relations to capsaicin-sensitive fibers, endogenous prostaglandins, nitric oxide and ATP-sensitive potassium channels were analysed. Treatments effects on ethanol-associated oxidative stress markers GSH, MDA, catalase, SOD, and total nitrate/nitrite levels as an index of NO were measured in gastric tissue. Besides, the effects of AAs on gastric secretory volume and total acidity were analysed in 4-h pylorus-ligated rat. AAs afforded a dose-related gastroprotection against the ethanol damage and further prevented the ethanol-induced changes in the levels of GSH, MDA, catalase, SOD and nitrate/nitrite. However, they failed to modify the gastric secretion or the total acidity. It was observed that the gastroprotection by AAs was greatly reduced in animals pretreated with capsaicin, indomethacin, L-NAME or glibenclamide. These results suggest that AAs afford gastroprotection principally through an antioxidant mechanism. Other complementary mechanisms include the activation of capsaicin-sensitive gastric afferents, stimulation of endogenous prostaglandins and nitric oxide, and opening of K⁺_{ATP} channels. These combined effects are likely to be accompanied by an increase in gastric microcirculation.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Peptic ulcer disease and gastric dyspepsia-associated with chronic use of therapeutics such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and anticancer agents are the two major causes that adversely affect the life quality. Presently used antisecretory agents like proton pump inhibitors may represent a key option in peptic ulcer therapy [1] but their prolonged use seems to be associated with high incidence of hip fractures [2]. NSAIDs-induced gastropathy remains a major clinical problem [3] which has not been solved through the introduction of selective inhibitors

of cyclooxygenase-2 (COX-2) due to cardiac side effects [4]. Similar to NSAIDs, many cancer chemotherapeutics such as cisplatin, and bisphosphonates like alendronate can induce gastric dyspepsia [5,6]. In recent years, there is an active search to discover novel and alternative agents useful to combat gastric dyspepsia, and peptic ulcer disease.

Anacardium occidentale Linn (cashew), an important member of the family Anacardiaceae, popularly known as “caju”, is a tropical tree originally indigenous to Brazil, which is now being extensively cultivated in India and East Africa. The tree also yields the so-called cashew apple to which the nut is attached. Brazil is the major exporter of cashew nut. The fruit is very juicy, fibrous and also edible and thus the plant have a commercial value [7]. The leaves and bark extracts have been traditionally used for the treatment of mouth ulcers, washing wounds and in dyspepsia [8]. The cashew

* Corresponding author. Tel.: +55 85 3366.8341; fax: +55 85 3366.8333.
E-mail address: flavia@ufc.br (F.A. Santos).

nut-shell liquid (CNSL) is an important agricultural by-product of cashew nut production and chemical analysis on CNSL showed the presence of a high amount of anacardic acids. Anacardic acids are found in not only the cashew nut-shell oil but also the nut and fruit juice [9]. Biological and pharmacological investigations carried out on these anacardic acids revealed several interesting activities such as lipoxygenase inhibition [10], parasitocidal [11,12], inhibition of NF- κ B [13], antioxidant [7,14], antibacterial and anti-*Helicobacter pylori* [15,16] and histidine acetylase (HDAC) inhibition [13]. HDAC inhibitors are believed to exert their antiproliferative effects by inducing a small set of genes involved in regulating cellular activities such as proliferation and differentiation, and thus may have potential role for the treatment of cancer and chronic inflammatory diseases [13,17].

A recent study has addressed on the antiulcerogenic effect of *A. occidentale* leaf extract [18] but there are no published reports on the gastroprotective effect of anacardic acids obtained from *A. occidentale* despite their potential to act as lipoxygenase inhibitors and anti-*Helicobacter pylori*. Therefore, in the present study we investigated the possible gastroprotective activity of anacardic acids with the underlying mechanism using the ethanol-induced gastric damage in mice as the test model.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Male Swiss mice (25–30 g) and Male Wistar rats (150–200 g) obtained from the Central Animal House of this University were used. Experimental groups consisted of 8 animals per group. They were housed at $24 \pm 2^\circ\text{C}$ under a 12-h light/12-h dark cycle and had free access to standard pellet diet (Purina chow) and tap water. The animals were deprived of food for 18 h before experimentation, but had free access to drinking water. The Institutional Ethics Committee on the Care and Use of Animals for experimentation approved the experimental protocols (protocol number 78/08), and all experiments were performed in accordance with the guidelines of National Institute of Health, Bethesda, USA.

2.2. Chemicals

Capsaicin, indomethacin, glibenclamide, diazoxide, L-arginine, N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) were purchased from Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, USA). Tween 80 (Merck AG, Darmstadt, Germany). Absolute ethanol was obtained from Synth (Brazil) and prostaglandin analog 16,16-dimethyl PGE2 (Misoprostol) from Continental Pharma (Cytotec[®], Italy). The chemicals used and other solutions were all of analytical grade. The anacardic acids from *Anacardium occidentale* were dissolved in 2% Tween 80 and diluted just before use in 0.9% saline.

2.3. Plant material

The cashews (*A. occidentale*) were harvested at the Embrapa Tropical Agroindustry Experimental Station, located at Paraipaba, Ceará, Brazil during the 2007 season. The fruits were from a commercial cultivar (CCP-76), and the genetic material is maintained on the Embrapa's germplasm bank. The fresh cashew apples were manually separated from the nut.

2.4. Extraction and isolation of anacardic acids

Cashew nut-shell liquid extracted from *A. occidentale* cashew shell was obtained as a kind gift from Dr. Edy Sousa de Brito (Embrapa, Fortaleza, Brasil). CNSL extract contained a mixture of anacardic acids with cardol and cardanol. In the isolation process,

CNSL (20 g) was dissolved in 5% aqueous methanol (120 mL) and calcium hydroxide (10 g) was added under stirring. The mixture was kept at 50°C under stirring for 3 h. The supernatant solution was monitored by TLC for the absence of anacardic acid. The precipitated calcium anacardate was filtered and washed with methanol. Calcium anacardate was dissolved in distilled water acidified with 11 M HCl. The solution was extracted with ethyl acetate, the ethyl acetate layer was washed with distilled water and dried over anhydrous sulfate, and concentrated under reduced pressure to yield 12 g of mixture of anacardic acid free from cardanol and cardol [19]. All the structures were stabilised by comparing spectral and physical data with those reported previously in the literature [17], and by direct comparison with authentic samples.

2.5. Ethanol-induced gastric ulcer

Groups of mice ($n=8$) were treated with anacardic acids (10, 30 and 100 mg/kg, p.o.), misoprostol (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, p.o.), or vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg). Forty-five minutes after treatment, each animal was given orally 0.2 mL of ethanol (96%) and they were sacrificed 30 min later [20]. The stomachs were excised, opened along the greater curvature, rinsed with saline (0.9%) and the mucosal lesion area (mm^2) was measured by planimetry using a transparent grid (area: 1 mm^2) placed on the glandular mucosal surface and was expressed in percentage (%) in relation to total area of corpus.

2.6. Effects of capsazepine and indomethacin pretreatments on anacardic acids gastroprotection

Groups of mice ($n=8$) were pretreated with vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), capsaicin (0.3 mg/kg, p.o.), and misoprostol (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, p.o.), alone, or in their combinations with capsazepine (5 mg/kg, i.p.), indomethacin (10 mg/kg, p.o.) prior to the oral administration of 0.2 mL of ethanol (96%). When given alone, anacardic acids, capsaicin, and misoprostol were administered 45 min before ethanol. Indomethacin and capsazepine were administered 2 h, and 30 min, respectively, prior to ethanol.

2.7. Role of nitric oxide on the gastroprotective effect of anacardic acids

To investigate the influence of endogenous NO in the gastroprotective effect [21], mice ($n=8$ per group) were pretreated with vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), L-arginine (600 mg/kg, i.p.) alone, or in their combinations with L-NAME (20 mg/kg, i.p.) prior to induction of gastric damage with ethanol (0.2 mL of ethanol, 96%). While anacardic acids was administered 45 min before, L-NAME and L-arginine, were given 30 min prior to ethanol.

2.8. Role of K_{ATP} channels on the gastroprotective effect of anacardic acids

To verify a likely activation of ATP-sensitive potassium channels in the gastroprotective effect [22], groups of mice ($n=8$) were pretreated with vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), diazoxide (3 mg/kg, i.p.) alone, or in their combinations with glibenclamide (5 mg/kg, i.p.) prior to the oral administration of 0.2 mL of ethanol (96%). Anacardic acids were given 45 min before, whereas diazoxide was administered 30 min prior to ethanol or glibenclamide. Glibenclamide was administered 30 min before anacardic acids.

2.9. Effect of anacardic acids on gastric markers of oxidative stress

Groups of mice ($n=8$) were pretreated with vehicle (2% Tween 80 in saline, 10 mL/kg), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), N-acetylcysteine (NAC, 750 mg/kg, p.o.) alone, or in their combinations prior to the oral administration of 0.2 mL of ethanol (96%). Anacardic acids and NAC were administered 45 and 60 min before ethanol, respectively. Thirty minutes after ethanol, the animals were sacrificed, stomachs excised and the glandular part of the stomach was collected for biochemical analysis.

2.9.1. Gastric non-protein sulfhydryls (NP-SHs)

The gastric mucosal NP-SHs (reduced glutathione, GSH) were determined by Ellman's reaction using 5'5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) [23]. Aliquots of 4 mL of the homogenates in ice-cold ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA; 0.02 mol/L; pH 8.9) were mixed with 3.2 mL of distilled water and 0.8 mL of 50% trichloroacetic acid (TCA). The tubes were centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The supernatant (2 mL) was mixed with 4 mL Tris buffer (0.4 mol/L; pH 8.9) and 0.1 mL of DTNB (0.01 mol/L). The absorbance was measured within 5 min after addition of DTNB at 412 nm. The absorbance values were extrapolated from a glutathione standard curve and expressed as $\mu\text{g/g}$ of stomach tissue.

2.9.2. Malondialdehyde (MDA)

The concentration of gastric mucosal lipid peroxidation was determined by estimating MDA using the thiobarbituric acid test [24]. The gastric corpus mucosa was homogenized in 10 mL of 100 g/L KCl (pH 7.4). The homogenate (250 μL) was maintained in a water bath for 60 min at 37 °C. 400 μL of 35% perchloric acid was added to the homogenate and centrifuged for 10 min at 14,000 rpm. The supernatant (600 μL) was mixed with 200 μL 1.2% thiobarbituric acid and the mixture was heated at 98 °C for 30 min. After cooling to room temperature, the absorbance was measured at 532 nm. The standard curve was obtained by using 1,1,3,3-tetramethoxypropane. The results were expressed as nanomoles MDA per gram of wet tissue (nmol/g tissue).

2.9.3. Catalase

Catalase (CAT) activity was measured according to a previously described method [25]. About 20 μL gastric homogenate in phosphate buffer (50 mM, pH 7) was added to 2 mL potassium phosphate buffer (50 mM, pH 7) containing 10 mM H_2O_2 . CAT activity was defined as the amount of enzyme required to decompose 1 nmol of H_2O_2 per minute, at 25 °C and pH 7. Results were expressed as millimoles per minute per gram of tissue (mmol/min/g tissue).

2.9.4. Superoxide dismutase (SOD)

The gastric mucosal SOD activity was assayed as described earlier [26]. In brief, the stomach tissue was homogenized in 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8) and centrifuged at 3600 rpm for 10 min at 4 °C. The supernatant (10 μL) was mixed with 1 mL of reaction mixture contained 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 100 nM EDTA and 13 mM L-methionine, 150 μL of nitroblue tetrazolium chloride (NBT, 750 μM), and 300 μL riboflavin (2 μM). The absorbance was measured after 15 min at 560 nm. The enzyme activity was expressed as the amount of enzyme that inhibited the reduction of NBT by 50% which was equal to 1 unit (Fig. 1).

2.9.5. Gastric nitrate/nitrite levels

Gastric nitric oxide levels were measured as total nitrate/nitrite levels with the use of the Griess reagent [27]. The stomach was homogenized in 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8) and centrifuged at 11,000 $\times g$ for 15 min at 4 °C. 100 μL of the supernatant was mixed with 100 μL Griess reagent (0.1% N-(1-naphthyl)

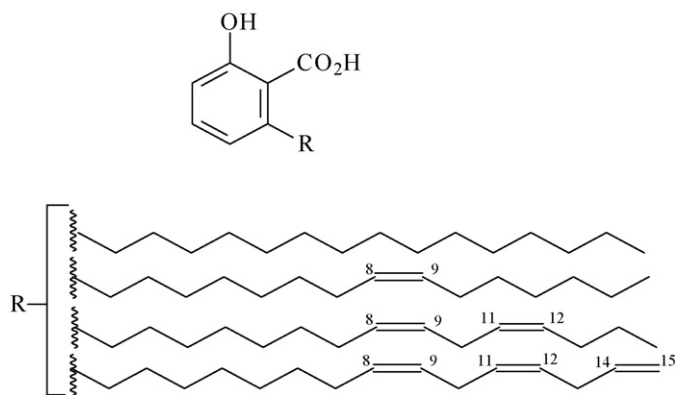


Fig. 1. Chemical structures of the anacardic acids.

ethylenediamide dihydrochloride, 1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid) and after 10 min the absorbance was measured at 540 nm. The standard curve was obtained by using sodium nitrite. The results were expressed as micromoles nitrate/nitrite per gram of protein. The protein concentration of the sample was determined by the Bradford assay [28].

2.10. Effect of anacardic acids on gastric secretion in 4-h pylorus-ligated rats

Gastric acid secretion was stimulated by a 4-h pylorus ligation [29]. Groups of rats ($n=6$) fasted for 24 h period were anaesthetized using ketamine (50 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), the abdomen was incised, and the pylorus ligated. Anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), cimetidine (100 mg/kg, p.o.) or vehicle was administered intraduodenally, immediately after pylorus ligation. Four hours after pylorus ligation, the rats were killed, stomachs removed, and the gastric contents centrifuged at 3500 rpm for 15 min. The supernatant volume (mL) was measured and total acidity determined by titration with 0.1N NaOH using 2% phenolphthalein indicator, and the results were expressed as $\mu\text{Eq/h}$.

2.11. Statistical analysis

Results are expressed as the mean \pm standard error of mean (SEM) deviation from 8 animals per group. Statistical evaluation was done by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Student Newman-Keul's multiple comparisons test. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

3. Results

The effect of orally administered anacardic acids on gastric damage induced by absolute ethanol is shown in Table 1. The control animals that received absolute ethanol presented gastric lesions in the form of hemorrhagic streaks with a total area of

Table 1
The effect of anacardic acids on gastric damage induced by absolute ethanol in mice.

Treatment	Dose	Ethanol lesion area (mm^2)
Control (vehicle)	–	20.49 \pm 2.28
Anacardic acids	10 mg/kg, p.o.	15.30 \pm 0.93* (25.3%)
	30 mg/kg, p.o.	7.46 \pm 0.86* (63.6%)
	100 mg/kg, p.o.	3.52 \pm 0.46* (82.8%)
Misoprostol	50 $\mu\text{g/kg}$, p.o.	7.62 \pm 0.56* (62.8%)

The results are mean \pm SEM for 8 animals/group. Statistical comparison was performed using ANOVA followed by the Student Newman-Keul's multiple test.

* $p < 0.05$ compared with the control (vehicle) group.

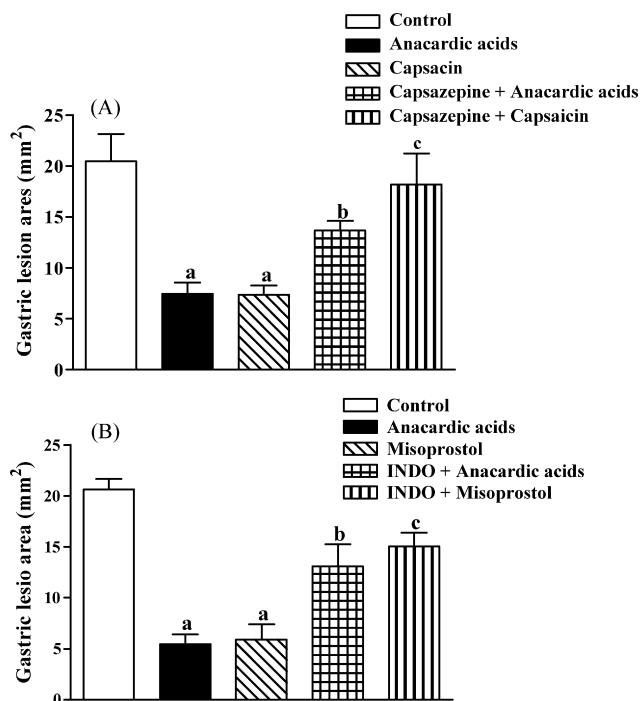


Fig. 2. Role of capsaicin-sensitive sensory afferents (A) and prostaglandins (B) in the gastroprotective effect of anacardic acids against ethanol-induced gastric damage in mice. (A) Mice were pretreated with vehicle (control), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), capsaicin (0.3 mg/kg, p.o.), capsazepine (3 mg/kg, i.p.) + anacardic acids or capsazepine + capsaicin. (B) Mice were pretreated with vehicle (control), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), misoprostol (50 μ g/kg, p.o.), indometacin (INDO, 10 mg/kg, p.o.) + Anacardic acids or indometacin (INDO) + misoprostol. Data are presented as mean \pm SEM from 8 animals. ^a $p < 0.05$ compared with vehicle (control) group; ^b $p < 0.05$ compared with anacardic acids group; ^c $p < 0.05$ compared with corresponding control.

$20.49 \pm 2.28 \text{ mm}^2$. Animal groups pretreated with the anacardic acids (10, 30 and 100 mg/kg, p.o.) exhibited a dose-dependent reduction of gastric damage against ethanol-induced gastric ulceration. The extent of inhibitions for the respective doses employed was 25.3, 63.6 and 82.8%, respectively (Table 1). Misoprostol, the positive control included for the study also offered significant protection against ethanol (62.8% inhibition)-induced gastric lesions (Table 1).

In mice pretreated with vanilloid antagonist capsazepine, the gastroprotective effect of anacardic acids (30 mg/kg) and capsaicin (0.3 mg/kg, p.o.) on ethanol damage was prevented (Fig. 2A). Indometacin (10 mg/kg, p.o.) pretreatment reduced the protective effect of anacardic acids and that of misoprostol (50 μ g/kg) (Fig. 2B).

L-NAME (20 mg/kg, i.p.), an inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) significantly blocked the gastroprotection produced by anacardic acids (30 mg/kg) and L-arginine (600 mg/kg, i.p.), a substrate for NOS (Fig. 3A).

The K^+ ATP channel blocker, glibenclamide (5 mg/kg, i.p.) partially abrogated the gastroprotective effect of anacardic acids (30 mg/kg) whereas that of diazoxide (3 mg/kg, i.p.) was completely antagonized, indicating a role for K^+ ATP channels in the gastroprotection (Fig. 3B).

Ethanol significantly depleted gastric NP-SHs in mice that received the vehicle ($442.30 \pm 49.81 \mu\text{g/g}$), when compared to basal value seen in normal control ($638.20 \pm 39.63 \mu\text{g/g}$) (Table 2). In contrast, ethanol-induced depletion of NP-SHs was significantly less in animal groups treated with anacardic acids ($603.40 \pm 32.16 \mu\text{g/g}$), or NAC ($737.20 \pm 73.19 \mu\text{g/g}$), a sulfhydryl donor (Table 2).

Table 3 shows the treatment effects of anacardic acids on the levels of SOD, catalase, MDA and nitrite/nitrate, in mice exposed to

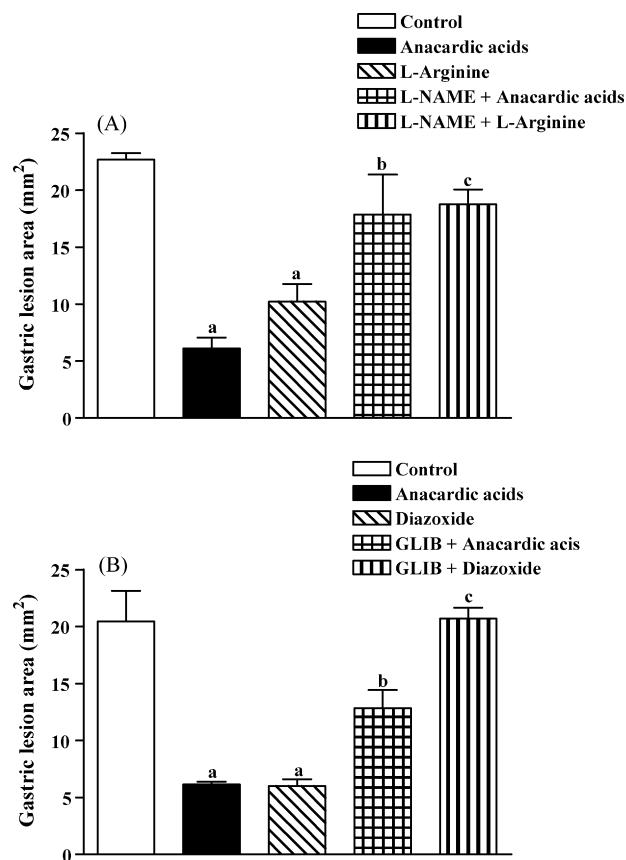


Fig. 3. Role of nitric oxide (A) and K^+ ATP channels (B) in the gastroprotective effect of anacardic acids against ethanol-induced gastric damage in mice. A. Mice were pretreated with vehicle (control), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), L-arginine (600 mg/kg, i.p.), L-NAME (20 mg/kg, i.p.) + anacardic acids or L-arginine + L-NAME. B. Mice were pretreated with vehicle (control), anacardic acids (30 mg/kg, p.o.), diazoxide (3 mg/kg, i.p.), glibenclamide (GLIB, 5 mg/kg, i.p.) + anacardic acids, or diazoxide + glibenclamide (GLIB). Data are presented as mean \pm SEM from 8 animals. ^a $p < 0.05$ compared with vehicle (control) group; ^b $p < 0.05$ compared with anacardic acid group; ^c $p < 0.05$ compared with corresponding control.

intragastric ethanol. The ethanol administration while significantly elevated the gastric mucosal MDA ($4.349 \pm 0.149 \text{ nmol/g}$ tissue) when compared to normal control value ($3.633 \pm 0.094 \text{ nmol/g}$ tissue), it significantly decreased the gastric mucosal catalase and SOD activities, reaching $0.968 \pm 0.058 \text{ mmol/mg}$ tissue for catalase and $332.9 \pm 42.86 \text{ U/g}$ protein for SOD compared to normal control ($1.617 \pm 0.163 \text{ mmol/min/g}$ tissue for catalase and $517.5 \pm 31.44 \text{ U/g}$ protein for SOD). AAs and NAC pretreatments greatly lowered the gastric mucosal MDA almost to the levels seen in normal control (3.734 ± 0.084 and $3.764 \pm 0.185 \text{ nmol/g}$ tissue, respectively). Catalase and SOD activities were, however, increased by pretreatments with AAs and NAC.

Table 2

Effect of anacardic acids on the levels of non-protein sulphhydryl groups (NP-SHs) in glandular stomach of mice treated with absolute ethanol.

Treatment	Dose	NP-SHs ($\mu\text{g/g}$)
Control (normal)	–	638.20 ± 39.63
Control (vehicle)	–	442.30 ± 49.81^a
Anacardic acids	30 mg/kg, p.o.	603.40 ± 32.16^b
N-acetylcysteine	750 mg/kg, p.o.	737.20 ± 73.19^b

The results are mean \pm SEM for 8 animals/group. Statistical comparison was performed using ANOVA followed by the Student Newman-Keul's multiple test.

^a $p < 0.05$ compared with the control (normal) group;

^b $p < 0.05$ compared with the control (vehicle) group.

Table 3
Effect of anacardic acids on the levels of superoxide dismutase (SOD), catalase, lipid peroxidation (MDA) and nitrate/nitrite in glandular stomach of mice treated with absolute ethanol.

Treatment	Dose	MDA (nmol/g tissue)	Catalase (mmol/min/g tissue)	SOD (U/g protein)	Nitrate/Nitrite ($\mu\text{M/g}$ protein)
Control (normal)	–	3.633 \pm 0.094	1.617 \pm 0.163	517.5 \pm 31.44	722.20 \pm 117.20
Control (vehicle)	–	4.349 \pm 0.149 ^a	0.968 \pm 0.058 ^a	332.9 \pm 42.86 ^a	285.20 \pm 35.37 ^a
Anacardic acids	30 mg/kg, p.o.	3.734 \pm 0.084 ^b	2.006 \pm 0.258 ^b	731.3 \pm 75.79 ^b	548.40 \pm 76.05 ^b
N-acetylcysteine	750 mg/kg, p.o.	3.764 \pm 0.185 ^b	2.263 \pm 0.154 ^b	748.6 \pm 76.86 ^b	583.80 \pm 69.42 ^b

The results are mean \pm SEM for 8 animals/group. Statistical comparison was performed using ANOVA followed by the Student Newman–Keul's multiple test.

^a $p < 0.05$ compared with the control (normal) group;

^b $p < 0.05$ compared with the control (vehicle) group.

Ethanol significantly reduced the gastric mucosal nitrate/nitrite levels by about 60% (from 722.20 \pm 117.20 to 285.20 \pm 35.37 $\mu\text{M/g}$ protein) whereas pretreatments with AAs and NAC significantly but marginally enhanced the nitrate/nitrite content (548.40 \pm 76.05 and 583.80 \pm 69.4 $\mu\text{M/g}$ protein, respectively). In 4-h pylorus-ligated rats, AAs applied intraduodenally did not modify either the gastric secretory volume or the total acidity (data not shown).

4. Discussion

This study is the first time demonstration of the gastroprotective property of anacardic acids (AAs), isolated from *A. occidentale*. AAs pretreatment at doses of 10, 30 and 100 mg/kg markedly reduced the gastric damage induced by ethanol in a dose-related manner. Since ethanol-evoked gastric damage is multifactorial and oxidative stress is believed to play an intimate role, we studied the gastroprotective mechanism using this model and choosing a 30 mg/kg dose of AAs.

In order to verify the role of prostaglandins and capsaicin-sensitive afferents on the gastroprotection afforded by AAs, mice were pretreated with indomethacin, a non-selective cyclooxygenase inhibitor and capsazepine an antagonist of capsaicin. In mice pretreated with capsazepine (3 mg/kg, i.p.), the gastroprotective effect of both AAs (30 mg/kg) and capsaicin (0.3 mg/kg, p.o.) on ethanol damage was attenuated. In a similar way indomethacin (10 mg/kg, p.o.), a non-selective COX inhibitor also could effectively block the protection afforded by AAs and misoprostol, a synthetic prostaglandin. However, the blockade produced by capsazepine and indomethacin, although significant was only partial indicating a limited participation of capsaicin-sensitive primary afferents and endogenous prostaglandins in the gastroprotective effect of anacardic acids.

Nitric oxide (NO) also appears to be a key mediator of gastrointestinal mucosal defence. NO, produced via activity of NO-synthase, appears to be one of the major factors, involved in the regulation of the gastric blood flow (GBF) and gastric microcirculation [30]. NO releasing drugs protect against ethanol-induced gastric lesions, and conversely, inhibition of NO synthesis increases the susceptibility of the stomach to ethanol injury [31]. In this study, the gastroprotection by both L-arginine (600 mg/kg) and anacardic acids (30 mg/kg) was reversed in animals pretreated with L-NAME, a non-selective NOS inhibitor, suggesting that NO also participates in the gastroprotective effect of anacardic acids. Our findings on nitrate/nitrite levels in the gastric tissue further confirm this view. Total nitrate/nitrite, a marker of endogenous nitric oxide that was markedly reduced by ethanol treatment was found to be significantly elevated in mice pretreated with AAs. NO is considered an effective chain breaking antioxidant in free radical-mediated lipid peroxidation [32]. Moreover it interacts with prostanoids and sensory neuropeptides in the regulation of gastric mucosal blood flow and thus improves microcirculation [33].

A role for ATP-sensitive potassium channels in gastroprotection has been described [22]. In our study, the K⁺_{ATP} channel blocker, glibenclamide partially abrogated the gastroprotective effect of

anacardic acids, indicating a role for K⁺_{ATP} channels in the gastroprotection. Since the protection afforded by anacardic acids is additionally indomethacin-sensitive, we assume that endogenous prostaglandins and nitric oxide act as activators of K⁺_{ATP} channels and thus might contribute to enhanced gastric microcirculation.

Control of gastric acid secretion has been the cornerstone of therapy in the successful management of gastric ulcer disease. In ethanol-induced gastric damage, gastric acid does not seem to play a role [34]. In this study, AAs failed to demonstrate a modulatory effect on gastric acid secretion and total acidity. One of the factors that play a central role in alcohol-induced damage is oxidative stress that results from enhanced generation of reactive oxygen species [35]. Intracellular antioxidant, such as glutathione (NP-SH/GSH) is critical for cellular protection in the gastric tissues. Sulfhydryl compounds and glutathione have a prominent role to play in tissue repair when reactive oxygen species are involved [36]. It was reported that, in humans, a reduction in gastric glutathione and cysteine can occur following ethanol consumption and glutathione pretreatment could subside the gastric damage [37]. In this study, AAs with its free radical-scavenging property [7] prevented the GSH depletion, affording gastroprotection from ethanol damage, similar to N-acetylcysteine, a replenisher of GSH.

Treatment of animals with ethanol decreased the levels of superoxide dismutase and catalase. Lowering of the levels of these enzymes can result into accumulation of highly reactive free radicals that cause deleterious effects on cell membrane integrity and function. Superoxide dismutase catalyses the reactions of superoxide anion radicals, dismutation of hydrogen peroxide (H₂O₂), while catalase degrades H₂O₂ into a molecule of oxygen and water [38]. Treatment with AAs and NAC resulted in significant increases in the activities of SOD and catalase and a decrease in MDA formation, reflecting their antioxidant potential.

The present findings are consistent with earlier reports that showed the antiulcerogenic effect of leaf extract of *A. occidentale* against HCl/ethanol-induced gastric lesions in rats [18] and the antioxidant potential of anacardic acids [7,14] as well as the lipoxygenase inhibitory effect [10]. Anacardic acids in general were shown to be relatively non-toxic to non-malignant human cell lines [39], and are free from chromosomal damage [18,40].

5. Conclusion

In conclusion, the results of this study indicate a gastroprotective role for anacardic acids against gastric mucosal damage induced by ethanol. The observed gastroprotection is possibly mediated to a major extent by an antioxidant mechanism as the anacardic acids were able to restore the NP-SH, catalase, SOD and nitric oxide levels depleted by ethanol almost towards normal levels seen in controls. Other complementary mechanisms may include the activation of capsaicin-sensitive gastric afferents, stimulation of endogenous prostaglandins and nitric oxide, and opening of K⁺_{ATP} channels. These combined effects are likely to be accompanied by an increase in gastric microcirculation. The present finding of gastroprotection by anacardic acids not only supports the

traditional use of *A. occidentale* in gastric disorders but is also of potential therapeutic interest in developing anacardic acids as anti-cancer agents.

Conflict of interest

There is no conflict of interest.

Acknowledgments

This research was supported by the grants and fellowships from CNPq/Brazil (Proc. No. 564874/2008-6; 305865/2007-2; 304383/2007-4; 500378/2008-8) and FUNCAP/Ceará (Proc. No. 2401/08). The authors (FAS and VSR) are grateful to Dr. Edy Sousa de Brito for the supply of plant material used in this study and to Francisco Alison Quintino Braga and Anyssa Quintino de Miranda for excellent technical assistance.

References

- [1] J.P. Gisbert, Potent gastric acid inhibition in *Helicobacter pylori* eradication, *Drugs* 65 (2005) 83–96.
- [2] Y.X. Yang, J.D. Lewis, S. Epstein, D.C. Metz, Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture, *JAMA* 296 (2006) 2947–2953.
- [3] J. Jones, J.N. Raud, Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated dyspepsia: basic mechanisms and future research, *Am. J. Med.* 110 (2001) 145–185.
- [4] B.I. Juddutt, Cyclooxygenase inhibition and adverse remodeling during healing after myocardial infarction, *Circulation* 115 (2007) 288–291.
- [5] K.A. Nelson, T.D. Walsh, F.G. Sheehan, P.B. O'Donovan, G.W. Falk, Assessment of upper gastrointestinal motility in the cancer-associated dyspepsia syndrome, *J. Palliat. Care* 9 (1993) 27–31.
- [6] D.Y. Graham, What the gastroenterologist should know about the gastrointestinal safety profiles of bisphosphonates, *Dig. Dis. Sci.* 47 (2002) 1665–1678.
- [7] M.T. Trevisan, B. Pfundstein, R. Haubner, G. Würtele, B. Spiegelhalder, H. Bartsch, R.W. Owen, Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity, *Food Chem. Toxicol.* 4 (2006) 188–197.
- [8] A. Luiz-Ferreira, M. Cola-Miranda, V. Barbastefano, C.A. Hiruma-Lima, W. Vilegas, A.R. Souza Brito, Should *Anacardium humile* St. Hil be used as an antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge, *Fitoterapia* 79 (2008) 207–209.
- [9] M. Toyomizu, K. Okamoto, T. Ishibashi, Z. Chen, T. Nakatsu, Uncoupling effect of anacardic acids from cashew nut shell oil on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria, *Life Sci.* 66 (2000) 229–234.
- [10] I. Kubo, T.J. Ha, K. Tsujimoto, F.E. Tocoli, I.R. Green, Evaluation of lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids, *Z. Naturforsch [C]* 63 (2008) 539–546.
- [11] L. Cui, J. Miao, T. Furuya, Q. Fan, X. Li, P.K. Rathod, X.Z. Su, L. Cui, Histone acetyltransferase inhibitor anacardic acid causes changes in global gene expression during *in vitro* Plasmodium falciparum development, *Eukaryot. Cell* 7 (2008) 1200–1210.
- [12] J.M. Pereira, R.P. Severino, P.C. Vieira, J.B. Fernandes, M.F. da Silva, A. Zottis, A.D. Andricopulo, G. Oliva, A.G. Corrêa, Anacardic acid derivatives as inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*, *Bioorg. Med. Chem.* 19 (2008) 8889–8895.
- [13] B. Sung, M.K. Pandey, K.S. Ahn, T. Yi, M.M. Chaturvedi, M. Liu, B.B. Aggarwal, Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappaB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappaB/alpha kinase, leading to potentiation of apoptosis, *Blood* 111 (2008) 4880–4891.
- [14] N. Masuoka, I. Kubo, Characterization of xanthine oxidase inhibition by anacardic acids, *Biochim. Biophys. Acta* 1688 (2004) 245–249.
- [15] I. Castillo-Juárez, F. Rivero-Cruz, H. Celis, I. Romero, Anti-*Helicobacter pylori* activity of anacardic acids from *Amphipterygium adstringens*, *J. Ethnopharmacol.* 114 (2007) 72–77.
- [16] I. Kubo, K. Nihei, K. Tsujimoto, Antibacterial action of anacardic acids against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 7624–7628.
- [17] H. Hess-Stumpp, Histone deacetylase inhibitors and cancer: from cell biology to the clinic, *Eur. J. Cell Biol.* 84 (2005) 109–121.
- [18] N.A. Konan, E.M. Bacchi, Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves, *J. Ethnopharmacol.* 112 (2007) 237–242.
- [19] R. Paramashivappa, P. Phani Kumar, P.J. Vithayathil, A. Srinivasa Rao, Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid, *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 2548–2551.
- [20] A. Robert, Cytoprotection by prostaglandins, *Gastroenterology* 77 (1979) 761–767.
- [21] J. Arrieta, J. Benitez, E. Flores, C. Castillo, A. Navarrete, Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons, *Planta Med.* 69 (2003) 905–909.
- [22] B.M. Peskar, K. Ehrlich, B.A. Peskar, Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 301 (2002) 969–974.
- [23] J. Sedlak, R.H. Lindsay, Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal. Biochem.* 25 (1968) 192–205.
- [24] E. Agar, M. Boşnak, R. Amanvermez, S. Demir, M. Ayyıldız, C. Celik, The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat, *Neuroreport* 10 (1999) 1799–1801.
- [25] H. Aebi, Catalase, *in vitro*, in: H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2, Academic Press, NY, 1974, pp. 673–684.
- [26] C. Beauchamp, I. Fridovich, Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Anal. Biochem.* 44 (1971) 276–287.
- [27] L.C. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski, P.L. Skipper, J.S. Wishnok, S.R. Tannenbaum, Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids, *Anal. Biochem.* 10 (1982) 131–138.
- [28] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72 (1976) 248–254.
- [29] H. Shay, S.A. Komarov, S.S. Fels, D. Meranze, M. Gruenstein, H.A. Siple, A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat, *Gastroenterology* 5 (1954) 43–61.
- [30] J.L. Wallace, Nitric oxide, aspirin-triggered lipoxins and NO-aspirin in gastric protection, *Inflamm. Allergy Drug Targets* 5 (2006) 133–137.
- [31] S. Kawano, S. Tsuji, Role of mucosal blood flow: a conceptual review in gastric mucosal injury and protection, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 15 (2000) D1–6.
- [32] K. Hiramoto, T. Ohkawa, N. Oikawa, K. Kikugawa, Is nitric oxide (NO) an antioxidant or a prooxidant for lipid peroxidation? *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 51 (2003) 1046–1050.
- [33] B.J. Whittle, Thirteenth Gaddum Memorial Lecture. Neuronal and endothelium-derived mediators in the modulation of the gastric microcirculation: integrity in the balance, *Br. J. Pharmacol.* 110 (1993) 3–17.
- [34] T.A. Miller, J.M. Henagan, Indomethacin decreases resistance of gastric barrier to disruption by alcohol, *Dig. Dis. Sci.* 29 (1984) 141–149.
- [35] A. Terano, H. Hiraishi, S. Ota, J. Shiga, T. Sugimoto, Role of superoxide and hydroxyl radicals in rat gastric mucosal injury induced by ethanol, *Gastroenterol. Jpn.* 24 (1989) 488–493.
- [36] S. Szabo, Mechanisms of gastric mucosal injury and protection, *J. Clin. Gastroenterol.* 13 (1991) S21–34.
- [37] C. Loguercio, D. Taranto, F. Beneduce, C. del Vecchio Blanco, A. de Vincentiis, G. Nardi, M. Romano, Glutathione prevents ethanol induced gastric mucosal damage and depletion of sulfhydryl compounds in humans, *Gut* 34 (1993) 161–165.
- [38] R. Saravanan, N. Rajendra Prasad, K.V. Pugalendi, Effect of Piper betle leaf extract on alcoholic toxicity in the rat brain, *J. Med. Food* 6 (2003) 261–265.
- [39] E.D. Eliseeva, V. Valkov, M. Jung, M.O. Jung, Characterization of novel inhibitors of histone acetyltransferases, *Mol. Cancer Ther.* 6 (2007) 2391–2398.
- [40] H.R. Acevedo, M.D. Rojas, S.D. Arceo, M. Soto Hernández, M. Martínez Vázquez, T. Terrazas, G.V. del Toro, Effect of 6-nonadecyl salicylic acid and its methyl ester on the induction of micronuclei in polychromatic erythrocytes in mouse peripheral blood, *Mutat. Res.* 609 (2006) 43–46.