



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

PÉROLA PALOMA SILVA DO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E GASTROPROTETORA DO DECOCTO DA
CASCA DO CAULE DE *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (POLYGONACEAE)**

RECIFE, PE
2021

PÉROLA PALOMA SILVA DO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E GASTROPROTETORA DO DECOCTO DA
CASCA DO CAULE DE *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (POLYGONACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia do Centro de Biociências da
Universidade Federal de Pernambuco como requisito para
obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva-Neto

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

**RECIFE, PE
2021**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Elaine Cristina Barroso, CRB-4/1728

Nascimento, Pérola Paloma Silva do
Atividade antioxidante e gastroprotetora do decocto da casca do caule de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae) / Pérola Palmo Silva do Nascimento. – 2021.

68 f.: il., fig., tab.

Orientador: Jacinto da Costa Silva Neto

Coorientador: Rafael Matos Ximenes

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Plantas medicinais 2. Úlcera péptica 3. Metabólitos I. Silva Neto, Jacinto

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2022-083

PÉROLA PALOMA SILVA DO NASCIMENTO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E GASTROPROTETORA DO DECOCTO DA
CASCA DO CAULE DE *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia da Universidade Federal de
Pernambuco como requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva-Neto
Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

Aprovada em 30/04/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto (Presidente)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Ivone Antonia de Souza (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Francisca Janaína Soares Rocha (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Cynthia Layse Ferreira de Almeida (Examinador Externo)

Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof^a. Dr^a. Juliana Pinto de Medeiros (Suplente Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Carina Scanoni Maia (Suplente Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a minha mãe e minha irmã, mas em especial ao meu pai que partiu cedo, mais que está vendo lá de cima a conclusão de todo esforço que me fez chegar na reta final com uma caminhada longa e cheia de obstáculos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado fé, perseverança, sabedoria e paz, e me mostrar que não há obstáculo que não possa ser superado.

Aos meus pais: Marinaldo do Nascimento e Ilka Nascimento pelo grandioso amor, apoio e incentivo. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, seja em lembranças e presença me fazendo bastante feliz.

A minha querida irmã Mellissa Nascimento, que tanto amo e admiro! Obrigada por sua sinceridade, lealdade e por estar sempre ao meu lado comemorando minhas conquistas e me ajudando a superar minhas limitações.

Aos meus orientadores, prof. Dr. Jacinto Costa e prof. Dr. Rafael Ximenes, pela oportunidade de realizar este trabalho, por sua disponibilidade, incentivo e paciência.

Aos meus amigos e irmãos, Maria de Fátima e José Wellinton que sempre me incentivaram e pela atenção e disposição em escutar e me ajudar sempre independente de dia e hora.

Aos meus grandes amigos do Laboratório de Etnofarmacologia e Fitoquímica – ETNO – UFPE: Maria de Fátima, José Wellinton, Jucielma Lima, Camila Alves, Raudiney Frankilin, João Alberto e Thalita Souza por terem proporcionado momentos produtivos, agradáveis e descontraídos durante esse período de convivência. Com vocês aprendi o quanto é bom ter amigos de verdade e principalmente conviver com eles...vocês são bastante especiais em minha vida!

Aos (as) meus (minhas) amigos (as), Anilma Barreto, Neuma Barreto, Laíze Meirelly, Jéssika Leite, Antônio Júnior e Ewerton Fylype pela compreensão diante de muitas ausências.

Aos meus colegas de trabalho, Jorge Martins, Evani Santos e Rosângela Maria por toda apoio e compreensão diante toda essa jornada.

Agradeço também a Silvania Paz pela amizade e carinho nos trabalhos prestados.

Aos professores do Programa em Morfotecnologia - UFPE pelos ensinamentos, dedicação e incentivo transmitidos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização e sucesso deste trabalho.

Muito obrigado a todos.

*Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para
todo o propósito debaixo do céu.*

Eclesiastes 3:1

RESUMO

A úlcera péptica é uma doença multifatorial caracterizada por lesão na mucosa estomacal/duodenal devido à hipersecreção de HCl e pepsina, estando associada à infecção por *Helicobacter pylori*, ao uso indiscriminado de anti-inflamatórios não-esteroides e/ou corticosteroides, além de outros fatores ambientais e hábitos de vida. Na prevenção e tratamento da úlcera péptica, as plantas medicinais têm sido amplamente empregadas pela medicina popular. Estudos etnobotânicos relatam duas espécies pertencentes a família Polygonaceae que são comumente conhecidas como pajeú ou pau-caixão, *Ruprechtia laxiflora* Meisn. e *Triplaris gardneriana* Wedd., as quais são utilizadas como anti-inflamatórias, analgésicas e gastroprotetoras. O presente trabalho investigou a atividade antioxidante e gastroprotetora do decocto da casca do caule de *R. laxiflora* em modelos experimentais agudos e crônico de úlcera péptica, bem como sua toxicidade em roedores. Na prospecção fitoquímica, foram encontrados flavonoides, taninos hidrolisáveis e proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas na cromatografia em camada delgada, e no UPLC-DAD-qTOF-MS/MS obteve-se 16 picos, em que apenas 3 foram identificados, sendo eles, quercetina (pico 16), taxifolina-O-pentosídeo (pico 2,3) e dihidrokaempferol (pico 10). O RLAE apresentou níveis de atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ATT e FRAP comparáveis àqueles descritos na literatura. No ensaio de toxicidade aguda os animais não apresentaram nenhuma alteração comportamental e fisiológica durante o período de observação. No modelo agudo de etanol foram utilizadas as doses de 10, 30, 100 mg/kg, sendo está última mostrando um potencial de inibição de 53,75%, sendo a dose escolhida para seguir com os próximos modelos de úlcera. No modelo agudo de etanol/HCl, o poder de inibição foi de 45,99%, e no modelo crônico de ácido acético seu poder de inibição foi de 67,5% mostrando um efeito cicatrizante. No modelo de barreira física a via oral e a via intraperitonal as áreas de lesão foram de $25,68 \pm 8,87 \text{ mm}^2$ e $28,28 \pm 5,44 \text{ mm}^2$, mostrando que há uma possibilidade de o extrato ser biodisponível por ambas as vias. No modelo de ligadura de piloro o extrato não atuou na secreção gástrica, ou seja, não atuou revertendo pH, não reduziu a concentração de conteúdos gástricos e nem a concentração de íons H^+ total. Este é o primeiro trabalho que mostra gastroproteção e cicatrização do uso desta planta como medicinal.

Palavra-chave: úlcera péptica; plantas medicinais; metabólitos secundários.

ABSTRACT

Peptic ulcer is a multifactorial disease characterized by injury to the stomach / duodenal mucosa due to hypersecretion of HCl and pepsin, induced by *Helicobacter pylori* infection, the indiscriminate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and / or corticosteroids, in addition to other environmental and habits of life. In the prevention and treatment of peptic ulcer, medicinal plants have been widely used by folk medicine. Ethnobotanical studies report two species belonging to the Polygonaceae family that are commonly known as pajeú or pau-casão, *Ruprechtia laxiflora* Meisn. and *Triplaris gardneriana* Wedd., which are used as anti-inflammatory, analgesic and gastroprotective. The present work investigated the antioxidant and gastroprotective activity of the decoction of *R. laxiflora* stem bark in acute and chronic experimental models of peptic ulcer, as well as its toxicity in rodents. In phytochemical prospecting, flavonoids, hydrolysable tannins and condensed proanthocyanidins and leucoanthocyanidins were found in thin layer chromatography, and in UPLC-DAD-qTOF-MS / MS, 16 peaks were obtained, of which only 3 were identified, being they, quercetin (peak 16), taxifolin-O-pentoside (peak 2.3) and dihydrokaempferol (peak 10). The RLAE showed levels of antioxidant activity by the DPPH, ATT and FRAP assays comparable to those described in the literature. In the acute toxicity test, the animals did not show any behavioral and physiological changes during the observation period. In the acute ethanol model, doses of 10, 30, 100 mg / kg were used, the latter showing an inhibition potential of 53.75%, the dose chosen to be followed by the next ulcer models. In the acute model of ethanol / HCl, the inhibiting power was 45.99%, and in the chronic acetic acid model, its inhibiting power was 67.5% showing a healing effect. In the physical barrier model, the oral route and the intraperitoneal route, the lesion areas were $25.68 \pm 8.87 \text{ mm}^2$ and $28.28 \pm 5.44 \text{ mm}^2$, showing that there is a possibility that the extract is bioavailable by both routes. In the pylorus ligation model, the extract does not act on gastric secretion, that is, it does not act by reversing pH, does not reduce the concentration of gastric contents or the concentration of total H⁺ ions. This is the first work that shows gastroprotection and healing of the use of this plant as medicinal.

Keyword: peptic ulcer; medicinal plants; secondary metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Regiões funcionais do estômago	18
Figura 2 -	Estrutura da glândula oxíntica, mostrando os vários tipos celulares que reveste a glândula.	19
Figura 3 -	Células gástricas e seus produtos de secreções	20
Figura 4 -	Espécie de <i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn. (Polygonaceae)	24
Figura 5 -	Espécie de <i>Triplaris gardneriana</i> Wedd. (Polygonaceae)	30
Figura 6 -	Cromatograma por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS do decocto das cascas de <i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn. (Polygonaceae).	41
Figura 7 -	Variação do peso dos animais em relação dos 14 dias de observação dos animais no modelo de Toxicidade.	46
Figura 8 -	Histopatologia dos órgãos de camundongos Swiss no modelo de toxicidade oral aguda.	47
Figura 9 -	Efeito da administração oral do RLAE em úlceras induzidas por etanol absoluto em camundongos Swiss.	48
Figura 10 -	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto. Controle (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), RLAE (10 mg/kg) (C), RLAE (30 mg/kg) (D), RLAE (100 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).	49
Figura 11 -	Efeito da administração oral do RLAE em úlceras induzidas por etanol/HCl em camundongos Swiss.	50
Figura 12 -	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol/HCL. Controle (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), RLAE (100 mg/kg) (C) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol/HC).	50
Figura 13 -	Efeito da administração por via oral e via intraperitonal do RLAE em úlceras induzidas por etanol/HCl em camundongos Swiss.	51
Figura 14 -	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral (v.o.) e intraperitoneal (i.p.) com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol. Controle (A), RLAE por via oral (100 mg/kg) (B), RLAE por via intraperitonal (100 mg/kg) (C) (Modelo de barreira física).	52

Figura 15 -	Efeito da administração oral de ranitidina e RLAE nas úlceras induzidas por ácido acético a 20% em ratos.	52
Figura 16 -	Estômagos de ratos pré-tratados por via com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Controle (A), RLAE por via oral (100 mg/kg) (B), RLAE por via intraperitoneal (100 mg/kg) (C) (Modelo de barreira física).	53
Figura 17 -	Histopatologia da mucosa gástrica de ratos em HE (hematoxilina-eosina), Tricrômico de Gomori e PAS (Ácido Periódico de Schiff).	54
Figura 18 -	Efeito da administração intraduodenal de RLAE e ranitidina sobre os parâmetros bioquímicos do suco gástrico após a ligadura do piloro em ratos.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Sistemas e reveladores utilizados na cromatografia em camada delgada	32
Tabela 2 -	Prospecção fitoquímica do decocto das cascas de <i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn.	39
Tabela 3 -	Análise antioxidante e fitoquímica do extrato aquoso de <i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn. (Polygonaceae).	40
Tabela 4 -	Compostos identificados no cromatograma por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS do decocto da casca de <i>Ruprechtia laxiflora</i> Meisn (Polygonaceae).	41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACh -	Acetilcolina
AINE -	Anti-inflamatório não-esteroides
Al³⁺ -	Íons alumínio
AMPc -	Monofosfato de adenosina cíclico
Ca²⁺ -	Íons cálcio
CCK2 -	Colecistocinina
Cl⁻ -	Íons cloreto
CO₂ -	Dióxido de carbono
COX-1 -	Ciclooxigenase-1
COX-2 -	Ciclooxigenase-1
d.p. -	Desvio padrão
DPPH -	2,2-difenil-1-picrihidrazil
ECL -	Células enterocromafins
EP1 -	Receptor de prostaglandina E1
EP3 -	Receptor de prostaglandina E3
et al. -	e outros; e colaboradores (latim, abrev. de et alii)
EtOH/H₂O -	Etanol/água
FeCl₃ -	Cloreto férrico
FeSO₄ -	Sulfato ferroso
FRAP -	Redução do íon férrico
<i>H. pylori</i> -	<i>Helicobacter pylori</i>
H⁺ -	Íons hidrogênio
H₂ -	Histamina 2
H₃ -	Histamina 3
HCl -	Ácido clorídrico
HCO₃⁻ -	Íons bicarbonato
HE -	Hematoxilina-Eosina
IC₅₀ -	Concentração inibitória
IFN-γ -	Interferon-gama
IL-1α/β -	Interleucina 1 alfa/beta
IL-2 -	Interleucina 2
IL-6 -	Interleucina 6
IL-9 -	Interleucina 9
ILU -	Índice de lesão ulcerativa
iNOS -	Óxido nítrico sintase
IPA -	Instituto Agrônomo de Pernambuco
JNK -	c-Jun N-terminal cinase
M₂ -	Receptores muscarínicos 2
M₃ -	Receptores muscarínicos 3
M₄ -	Receptores muscarínicos 4
MALT -	Tecido linfoide associado a mucosa

Mg²⁺ -	Íons magnésio
NaCl -	Cloreto de sódio
NF-kB -	Fator nuclear kappa B
NO -	Óxido nítrico
PAS -	Ácido periódico de Schiff
PGE2 -	Prostaglandina
pH -	Potencial hidrogeniônico
RAW -	Tipo de macrófago
RLAE -	Extrato aquoso de <i>Ruprechtia laxiflora</i>
ROS -	Espécies reativas de oxigênio
rpm -	Rotação por minuto
SUS -	Sistema Único de Saúde
TNF-α -	Fator de necrose tumoral alfa
v.i. -	Via intraperitoneal
v.o. -	Via oral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 ANATOMIA FUNCIONAL DO ESTÔMAGO	18
2.2 MECANISMO REGULATÓRIOS DA SECREÇÃO GÁSTRICA	21
2.3 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA	22
2.4 ÚLCERA PÉPTICA	23
2.5 TERAPÊUTICA DA ÚLCERA GÁSTRICA	24
2.6 PLANTAS MEDICINAIS	25
2.6.1 Família Polygonaceae	27
2.6.2 Gênero <i>ruprechtia</i>	27
2.6.3 Pajéu	28
3 OBJETIVOS	31
3.1 OBJETIVOS GERAL	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 MATERIAL BOTÂNICO E OBTENÇÃO DO DECOCTO	32
4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA	32
4.2.1 Cromatografia em camada delgada	32
4.2.2 Análise qualitativa por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS	33
4.2.3 Teor de compostos fenólicos	33
4.2.4 Quantificação de Flavonoides	34
4.2.5 Quantificação de Proantocianidinas	34
4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
4.3.1 Sequestro dos radicais DPPH	34
4.3.2 Atividade antioxidante total	35
4.3.3 Redução do íon férrico – FRAP	35
4.4 ANIMAIS E ASPECTOS ÉTICOS	35
4.5 TOXICIDADE ORAL AGUDA	36
4.6 ATIVIDADE GASTROPROTETORA	36
4.6.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto	36
4.6.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado	36

4.6.3 Barreira física	37
4.7 ATIVIDADE CICATRIZANTE	37
4.8 LIGADURA DE PILORO	37
4.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO	38
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA	39
5.1.1 Cromatografia em camada delgada	39
5.1.2 Análise qualitativa por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS	40
5.1.3 Teor de compostos fenólicos	43
5.1.4 Quantificação de Flavonoides	43
5.1.5 Quantificação de Proantocianidinas	44
5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	44
5.2.1 Sequestro dos radicais DPPH	44
5.2.2 Atividade antioxidante total	45
5.2.3 Redução de íons férrico – FRAP	45
5.3 TOXICIDADE ORAL AGUDA	45
5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DE <i>Ruprechtia laxiflora</i>	48
5.4.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto	48
5.4.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado	49
5.4.3 Barreira física	51
5.5 ATIVIDADE CICATRIZANTE	52
5.6 LIGADURA DE PILORO	55
6 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no tratamento de doenças é uma estratégia antiga utilizada por praticamente todas as populações do mundo. Registros históricos datados desde 4.000 a.C. comprovam a utilização de plantas na busca pela cura de enfermidades nos povos egípcios e chineses, entre outros (PINTO et al, 2013). Aproximadamente 48% dos medicamentos empregados na terapêutica advêm direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais (BALUNAS e KINGHORN, 2005). O Brasil possui a maior biodiversidade de plantas do mundo, contando atualmente 46.736 espécies registradas (FLORA DO BRASIL, 2020).

Dentre as plantas utilizadas como medicinais, temos a família Polygonaceae, que conta com 1200 espécies divididas em 49 gêneros, os quais estão distribuídas por todo o mundo (SANCHEZ et al, 2011). No Brasil, tem-se registrado dez gêneros e 95 espécies amplamente distribuídas, sendo elas: *Antigonon*, *Coccoloba*, *Emex*, *Muehlenbeckia*, *Oxytheca*, *Polygonum*, *Rumex*, *Ruprechtia*, *Symmeria* e *Triplaris* são as mais frequentes (FLORA DO BRASIL, 2020). As espécies que compõe a família são ricas em cumarinas, flavonoides, terpenos, polifenóis e taninos (YAGI et al, 1994; FURUTA et al, 1986; XIAO et al, 2000; JÁCOME et al, 2004).

A úlcera péptica é uma doença multifatorial do trato gastrointestinal caracterizada por lesões nas mucosas devido a hipersecreção do ácido gástrico que provoca uma corrosão no local (DEL VALLE, 2015). Esse tipo de lesão é comumente encontrado no estômago ou na parte inicial do duodeno, podendo ser localizado também no esôfago (RAMAKRISHNAN e SALINAS, 2007). A corrosão da mucosa gástrica dá origem a uma ferida, isso ocorre devido ao desequilíbrio entre o sistema protetor da mucosa (secreção de muco e bicarbonato, barreira epitelial, síntese de prostaglandinas) e fatores agressores (pepsina, ácido clorídrico, *Helicobacter pylori*). Dentre as etiologias mais comuns estão a infecção por *Helicobacter pylori* e o uso indiscriminado de anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), além de fatores como tabagismo, estresse, idade, consumo excessivo de álcool e hábitos alimentares, que acabam sendo fatores de risco para úlcera péptica (CARVALHO, 2013; YUAN et al, 2017).

Nos aspectos histopatológicos da úlcera, são mostradas regiões necróticas, tecido de granulação e fibrose. Essas características ocorrem principalmente quando as defesas da mucosa entram em desequilíbrio, o fluxo sanguíneo da mucosa é reduzido, ou a restituição do epitélio gástrico/duodenal está enfraquecido. Há também um aumento no

infiltrado inflamatório que é característico da gastrite, seja ela leve, moderada ou severa, que são frequentes no antro e corpo do estômago (HERNANDES, 2010).

Os antioxidantes desempenham uma importante função na defesa do corpo contra as espécies reativas de oxigênio (ROS). Esses compostos têm a capacidade de retardar, inibir ou remover o dano oxidativo de diversas macromoléculas, tais como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, as quais são afetados pelas ROS (FARIAS et al, 2013). Vários tipos de antioxidantes podem ser encontrados em plantas, como os tocoferoides e os compostos fenólicos. Estes apresentam diversas propriedades farmacológicas, como anti-inflamatórios, antivirais, antialérgicos, gastroprotetores e quimioprotetores (ASIF, 2015).

Ruprechtia laxiflora, popularmente conhecida como pajeú ou pau-caixão, está amplamente distribuída pelo Brasil, ocorrendo na Caatinga nordestina, no pantanal e na floresta latifoliada da bacia do Paraná (BFG, 2015). Essa espécie é bastante confundida pela população com *Triplaris gardneriana* e ambas são utilizadas como anti-inflamatória, analgésica, gastroprotetora e hipolipidêmica. Alguns autores aceitam a separação dos gêneros *Ruprechtia* e *Triplaris*, mas elas são bastantes semelhantes morfológicamente. Como na Caatinga nordestina ocorre a presença das duas espécies, o presente estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade aguda e atividade gastroprotetora do extrato aquoso da casca do caule de *R. laxiflora* em modelos experimentais de úlcera em roedores.

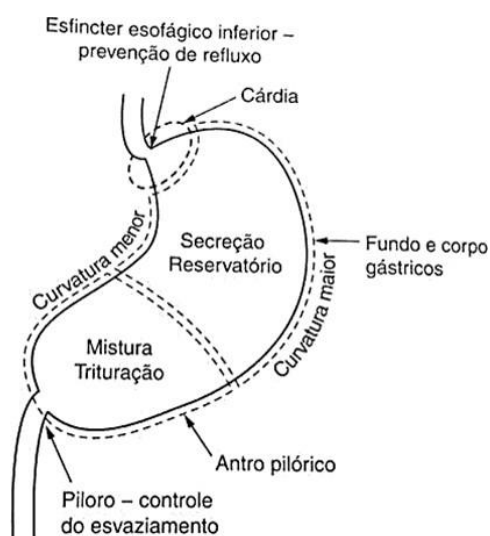
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia funcional do estômago

O desenvolvimento do estômago se dá a partir da quarta semana, onde ocorre uma dilatação do intestino anterior tubular. Ele se apresenta no local como uma protuberância fusiforme mediana, com isso o estômago aumenta e se alarga ventrodorsal. A borda dorsal cresce mais rapidamente que a borda ventral o que demarca a curvatura do estômago. Com o aumento do estômago, as bordas se movem de maneira oposta e durante a rotação a região cranial e caudal do estômago também se movem de forma oposta e em sentidos diferentes, dando a conformação final do órgão (MOORE, 2016).

Fazendo parte do sistema digestório, o estômago é um saco muscular de segmento dilatado, posicionado entre o esôfago e a porção inicial do intestino delgado, o duodeno, estando situado na parte esquerda do abdômen. Ele apresenta uma curvatura maior e uma curvatura menor. O estômago está dividido em três regiões principais: a cárdia, o fundo e o corpo gástrico e o antro pilórico, cada uma delas exercendo uma função específica, como é mostrado na figura 1 (BARRETT, 2015). A parede interna do estômago contém pregas gástricas e apresenta um epitélio superficial se invaginando com uma série de foveólos gástricos, onde cada uma dessas estruturas se abre em 4 a 5 glândulas gástricas de fundo cego. A principal função do estômago é realizar o processo digestão parcial dos alimentos, secretar enzimas e hormônios, mas ele também atua como reservatório que controla a taxa de distribuição do alimento para as próximas partes do trato gastrintestinal (BARRETT, 2015).

Figura 1. Regiões funcionais do estômago

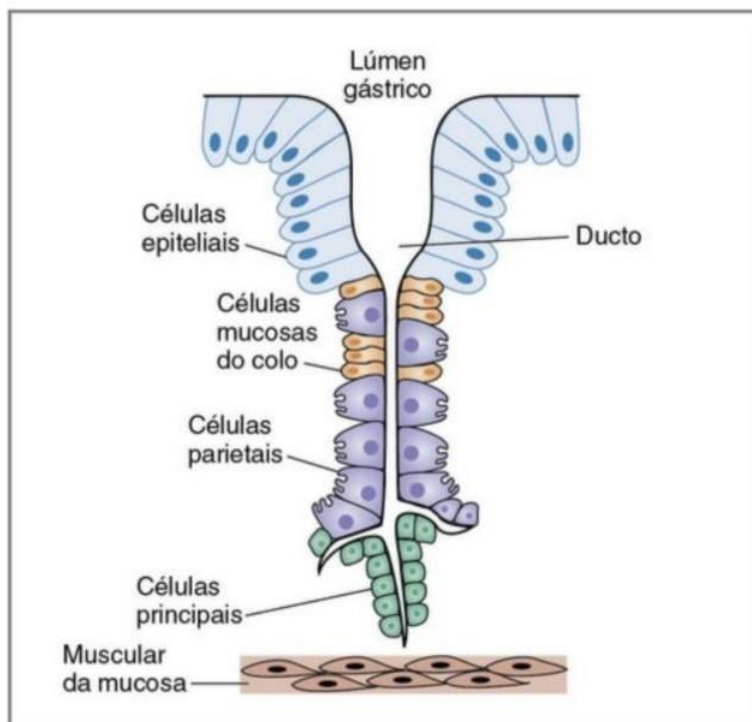


Fonte: BARRETT, 2015.

A parede do trato gastrointestinal é composta por quatro camadas: a serosa, com a presença das células mesoteliais escamosas; a muscular lisa, composta por uma camada muscular longitudinal externa e uma circular interna; a submucosa, constituída por tecido conjuntivo frouxo com presença de fibras do tipo colágeno e elastina; e a mucosa, a camada mais interna do estômago composta por epitélio do tipo colunar, lâmina própria e uma camada de músculo liso, a muscular da mucosa (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2018)

A mucosa gástrica apresenta um epitélio glandular, com a presença de glândulas tubulares, glândulas parietais ou oxínticas (figura 2) e as glândulas pilóricas, e uma camada muscular da mucosa separando-a da submucosa. Além disso, o epitélio que recobre a mucosa é do tipo colunar simples e todas as células presentes secretam um muco alcalino composto de 95% de água, glicoproteínas, lipídios e bicarbonato com um pH variando de 1 a 7. Para proteger as células contra a acidez do estômago é produzido um muco que reveste a superfície do conteúdo gástrico corrosivo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2018).

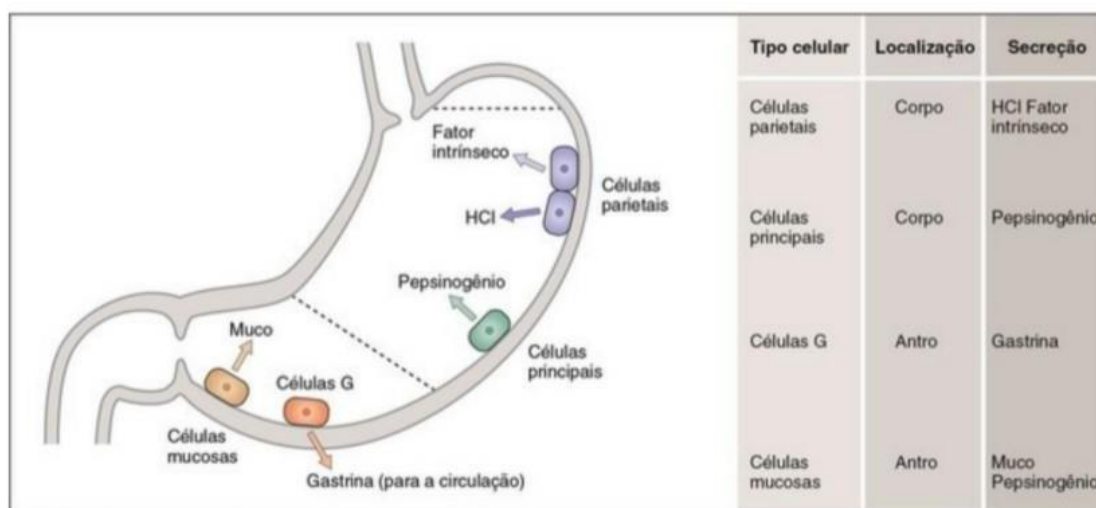
Figura 2. Estrutura da glândula oxíntica, mostrando os vários tipos celulares que reveste a glândula.



FONTE: Costanzo, 2014.

A primeira porção superior corresponde a 5% da área do estômago, conhecido como cárdia, no qual a sua primeira porção possui um esfíncter esofágico, que impede que ocorra um refluxo de ácido junto com o bolo alimentar. Essa região apresenta um epitélio escamoso do esôfago que depois se modifica em epitélio colunar que corresponde a porção seguinte do trato gastrointestinal. Ela secreta muco que protege contra a acidez do estômago, apresenta pregas gástricas e fovéolas gástricas que são entradas mais profunda e estreitas das glândulas gástricas. O fundo e o corpo gástrico são mais diversificados e contém cerca de 75% das glândulas gástricas, sendo constituída de células secretoras específicas, que compõe o suco gástrico (pepsina e ácido), como por exemplo, células parietais (oxínticas), células principais (zimogênicas) e células enteroendócrinas que estarão distribuídas por toda essa região (Figura 3). Por fim, a última porção do estômago, o antro pilórico (zona pilórica), é a região que apresenta intensa motilidade química devido a presença de glândulas que auxiliam na liberação de muco e de células G que quando estimuladas pela ação parassimpática liberam gastrina, que logo ativa a produção de ácido pelas células parietais (BARRETT, 2015; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2018).

Figura 3. Células gástricas e seus produtos de secreções



FONTE: Costanzo, 2014.

2.2 Mecanismo regulatórios da secreção gástrica

A secreção de ácido gástrico é influenciada por uma via neuro-hormonal central ou periférica que é executada por vários mediadores químicos, sendo regulada da seguinte forma: neural (acetilcolina), hormonal (gastrina) e parácrina (histamina, mecanismos de somatostatina) (BARRETT, 2015).

A acetilcolina (ACh) acetilcolina liberada pelas terminações nervosas vagais, que são estimuladas através do olfato, visão, paladar ou mastigação e plexo entérico do estômago, como também por substâncias hormonais secretadas pelo sistema nervoso entérico da parede estomacal que são estimuladas quando ocorre a distensão do estômago (HERSEY & SARCHS, 1995; GUYTON & HALL, 2011). Esse tipo de neurotransmissor estimula as células parietais pela via direta aos receptores M3 (muscarínicos 3) e por via indireta ao receptores M2 (muscarínicos 2) e M4 (muscarínicos 4) que estão associados a inibição da somatostatina e o aumento na secreção de histamina e gastrina (SCHUBERT, 2011; 2015).

A gastrina é armazenada nas células G localizadas no antro gástrico, e são liberadas através de estímulos de proteínas presentes nos alimentos por íons Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} , pela estimulação do nervo vagal, pelo pH básico do antro, pela distensão gástrica que atua de forma direta nas células G ou indireta nas células neuroendócrinas e nos neurônios adjacentes (HERSEY & SARCHS, 1995; SCHUBERT, 2010). Após a ingestão de alimentos que apresentam proteínas na sua composição, as células G são estimulada a liberar gastrina no sangue de modo que ela seja transportada até as células enterocromafins (ECL). Isso se deve a ligação da gastrina ao receptor de colecistocinina 2 (CCK-2) que permite a liberação de histamina pelas células oxínticas (parietais) como também estimula a secreção de ácido clorídrico (GUYTON & HALL, 2011; SCHUBERT, 2015).

As células enterocromafins (ECL) liberam histaminas, pela combinação entre a gastrina e a ACh, passando por entre espaços das células parietais adjacentes, que ativa receptores de H2 (histamina 2) de forma indireta e os receptores H3 (histamina 3) de forma indireta inibindo a secreção de somatostatina e aumentando a secreção de histamina e gastrina. As células parietais também expressão receptores para a ACh (M3) e para a gastrina (CCK2). Receptores de histamina do tipo H2 estão envolvidos na via de sinalização que envolvem o monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), que tem por finalidade permite a saída de íons H^+ para o lúmen do estômago (BARRETT, 2015).

2.3 Fatores protetores da mucosa gástrica

A mucosa gástrica possui mecanismos de proteção que agem impedindo, que ela mesmo seja degradada pela ação do suco gástrico. Tais mecanismo de proteção incluem a secreção de muco gástrico e bicarbonato, inibição de secreção de ácido gástrico, aumento do fluxo sanguíneo, renovação do epitélio estomacal, geração de prostaglandinas, óxido nítrico e agentes antioxidantes (YANDRAPU e SAROSEIK, 2015).

O muco gástrico tem aspecto em gel de textura viscosa e transparente, constituída de 95% de água e 5% de glicoproteínas. A espessura do estômago que varia entre 200 a 300µm, é um indicativo de que a proteção da mucosa é eficaz. A presença de glicoproteínas no muco, faz com que elas desempenhem seu papel de sequestrar espécies reativas de oxigênio (ROS), conferindo assim um efeito protetor da mucosa gástrica, contra a ação de agentes agressores, como por exemplo, AINES (anti-inflamatórios não esteroides) e etanol (YANDRAPU e SAROSEIK, 2015).

A camada da mucosa, funciona como uma barreira de proteção que fica localizada entre o epitélio e lúmen, contra agentes agressivos, micro-organismo e a pepsina, além de manter o nível de pH ótimo, de maneira que impeça de ocorrer danos nesse local. É na camada mucosa que alguns hormônios como a gastrina e secretina, assim como as prostaglandinas e agentes colinérgicos estimula as células gástricas a secretar esse muco que está distribuído do estômago até o cólon (YANDRAPU e SAROSEIK, 2015).

A primeira linha de defesa do estômago é a secreção de bicarbonato que é estimulada pelo óxido nítrico e as prostaglandinas, que neutraliza a superfície das células epiteliais. Quando as células parietais liberam H^+ , em seguida transportam o íon bicarbonato pela membrana basolateral por meio da troca de Cl^-/HCO_3^- , tornando-o mais disponível. O que significa que para cada íon H^+ secretado, uma molécula de CO_2 é transformada em bicarbonato, tornando o meio básico após a secreção de ácido gástrico (SCHUBERT, 2016).

A manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa serve de proteção, pois permite que nela chegue nutrientes, oxigênio, bicarbonato de forma adequado como também tem a capacidade de remover substâncias tóxicas. Contudo, as células endoteliais dos vasos sanguíneos, produzem vasodilatadores como o óxido nítrico e as prostaglandinas, que vão contra a ação de agentes danosos (YANDRAPU e SAROSEIK, 2015).

As prostaglandinas têm a função de proteger a mucosa gástrica por meio da inibição da secreção ácida, que estimula a secreção do muco e bicarbonato, mantém o fluxo sanguíneo gástrico e controla a motilidade. Isso depende do tipo de receptor que as

prostaglandinas se ligam, ou seja, se caso elas se ligam ao receptor EP1 (prostaglandina 1), ocorre o aumento do fluxo sanguíneo e a secreção de bicarbonato que consequentemente diminui a motilidade gástrica, e ao receptor EP3 (prostaglandina 3), faz a inibição gástrica (TAKEUCHI, 2014; TARNAWSKI, AHLUWALIA e JONES, 2013).

O óxido nítrico (NO) é considerado um importante mediador pois tem a função de proteger a mucosa gástrica por meio do aumento do fluxo sanguíneo, secreção de muco e bicarbonato e a capacidade de inibir a adesão dos neutrófilos nas células endoteliais. O óxido nítrico juntamente com PGE2 (prostaglandinas E2) atuam no mecanismo de secreção de bicarbonato, ou seja, quando há um aumento de secreção ácida, o NO estimula a síntese PEG2, que atua na inibição da secreção ácida e aumento da secreção de bicarbonato (MAGIEROWSKI et al., 2015; TAKEUCHI et al., 2014; KIM, 2014).

2.4 Úlcera péptica

Doenças relacionadas ao trato gastrointestinal, como por exemplo, a úlcera péptica é considerada problema de saúde pública a nível mundial com altas taxas de morbidade e mortalidade que no momento é foco de averiguações experimentais e clínicas devido a predominância da doença. Isso se deve a infecção por *Helicobacter pylori* e o uso indiscriminado de anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), além de fatores como, o tabagismo, estresse, idade, consumo excessivo de álcool e hábitos alimentar, como também os gastos na complicação do tratamento de doenças (YUAN, PADOL e HUNT et al, 2006; CARVALHO, 2013; SILVA, 2016).

A úlcera péptica é definida como uma lesão ocasionada pelo ácido gástrico que atinge a mucosa, submucosa e algumas vezes a muscular externa, causando perfuração da parede estomacal, podendo levar o indivíduo a morte. As lesões podem ser inflamatórias ou necrosantes, que são comumente encontradas no estômago ou duodeno, como também pode atingir o esôfago. Essas lesões devido a hipersecreção de ácidos ocasiona um desequilíbrio entre o sistema protetor da mucosa (secreção de muco e bicarbonato, barreira epitelial, síntese de prostaglandinas) e os fatores agressores (pepsina, ácido clorídrico, *Helicobacter pylori*) (CARVALHO, 2013; YUAN, PADOL e HUNT et al, 2006; LANAS e CHAN, 2017).

Uma das etiologias mais comum associada à úlcera péptica é a infecção por bactérias, como por exemplo, *Helicobacter pylori* que é um bacilo gram-negativo de forma espiralada, microaerófila e que produz uma enzima chamada de uréase que hidrolisa a

ureia, produz amônia neutralizando o meio ácido e permitindo a sobrevivência deste micro-organismo no estômago além de poderem danificar as células da mucosa (MATA et al, 2016; CARRETERO, 2016). A *Helicobacter pylori* também está associada ao desenvolvimento de outras etiopatogenias como a gastrite crônica e aguda que resulta na úlcera péptica, câncer gástrico, linfoma de MALT (linfoma do tecido linfoide associado a mucosa) e o linfoma não Hodgkin gástrico (DDINE et al, 2012; MATA et al, 2016).

Há variados tipos de cepas virulentas de *H. pylori* que atuam em diferentes mecanismos para sobreviver nesse ambiente ácido que é o estômago. Algumas cepas tem a capacidade de se fixar nas células estomacais devido ao seu formato espiralado e induzir a lesão no local para se proteger. Com a lesão formada tem-se a resposta inflamatória e a migração de células como neutrófilos, linfócitos, macrófagos e plasmócitos no local, além disso é encontrado níveis elevados de interleucinas como a IL-1 α/β , IL-2, IL-6, IL-9, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interferon γ (IFN- γ) em pacientes com a infecção por *H. pylori* (FAUCI, 2013; MATA et al, 2016).

Outro fator para o desenvolvimento de úlcera péptica é o uso demasiado de anti-inflamatório não esteroide (AINE) que são indicados para alívio de dor e inflamação aguda e crônica. Sua ação acontece quando ela inibi a enzima cicloxigenase 1 (COX-1) que tem papel importante na formação de prostaglandinas que atua na produção de muco gástrico e inibição de secreção ácida, no qual os pacientes acabam desenvolvendo um edema que pode evoluir para uma úlcera (CARRETERO, 2016; FREITAS et al, 2016).

Entre os anos de 2007 e 2012 houve um aumento no número de prescrições médicas de anti-inflamatórios não esteroides, como por exemplo, a aspirina e os inibidores da bomba de próton, o que tem acarretado o desenvolvimento de úlceras pépticas (TAHA et al, 2015; TAHA, 2017).

2.5 Terapêutica da úlcera gástrica

O desenvolvimento de agentes terapêuticos se deve a regulação fisiológica da secreção gástrica, onde se tem uma gama de opções disponíveis no mercado farmacêutico, como por exemplo, englobam antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor H2 para a histamina e inibidores da bomba de prótons (MEHTA, 2016; KAZMI et al., 2017). Atualmente o tratamento de úlceras gástricas acontece através do tratamento convencional onde é comu o uso de fármacos inibidores da bomba de próton, de citoprotetores e de antagonistas do receptor H2. Efeitos colaterais, tais como náuseas, ginecomastia e impotência, são fatores limitantes da sua utilização, o que se faz a procura

por agentes mais eficazes e com menor incidência desses efeitos decorrentes do uso desse tipo de drogas (HALABI et al., 2014; ARAB et al., 2015).

Os inibidores da bomba de próton (omeprazol, lansoprazol e pantoprazol) são os medicamentos mais eficazes por apresentar um maior alívio dos sintomas e tratamento da úlcera péptica e refluxo que faz a produção de ácido clorídrico aumentar de forma descontrolada. O mecanismo de ação é inibir a enzima H^+/K^+ ATPase que promove a queda da produção de ácido clorídrico e consequentemente a cura da úlcera péptica (ALAI e LIN, 2015).

Os antagonista receptores de H_2 da histamina (cimetidina e ranitidina) também são outra alternativa de tratamento para a úlcera péptica, pois quando ativados há a produção de prostaglandinas E_2 , aumento do fluxo sanguíneo e redução do de íons H^+ . Nos casos em que a úlcera péptica é ocasionada pela infecção por *H. pylori* se faz necessário o uso combinado de uma antibiótico com medicamentos antissecretórios (NAJM, 2011).

2.6 Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais no tratamento de doenças é uma estratégia antiga utilizada por praticamente todas as populações do mundo na área da saúde. Registros históricos datados desde 4.000 a.C. comprovam a utilização de plantas na busca pela cura de enfermidades nos povos egípcios e chineses, entre outros (PINTO et al, 2013). Ao longo dos anos o acúmulo de informações (etnoconhecimento) adquiridos são passados de geração em geração por uma população como forma de preservar o autoconhecimento e que ajude no tratamento alternativo na cura de doenças ou alívio de dor devido aos sintomas que cada indivíduo apresenta (BAPTISTA et al, 2014; BADKE et al, 2016).

De acordo com o Ministério da Saúde (2012), são consideradas plantas medicinais aquelas que forem coletadas frescas para o consumo imediato e/ou secas que após a coleta passam por algum tipo de processo (trituras ou pulverizadas) e que podem ser consumidas como por exemplo na forma de chá. Estudos relatam que 70% da população mundial utiliza as plantas medicinais para o tratamento ou o cuidado da saúde e que 80% não tem acesso ao medicamento convencional. Isso pode indicar a insatisfação com os medicamentos convencionais que já as vezes não tem a resposta devida, a curiosidade popular ou até mesmo a cultura de um povo no uso de fitoterápicos (OMS, 2002; Ministério da Saúde, 2012).

O Brasil possui 67% das espécies vegetais do mundo, cerca de 82% da população usa produtos à base de plantas medicinais no cuidado da saúde devido ao conhecimento da cultura local, no qual isso tem influência da cultura indígena, africana e europeia, que tem por objetivo o estabelecimento da saúde do indivíduo ou nos sistemas oficiais de saúde que devem ser orientadas pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS). Tais práticas possibilitam a integralidade do indivíduo, da comunidade a fazer parte do desenvolvimento tecnológico e a sua participação social (Ministério da Saúde, 2006; Badke, 2016). Em junho de 2006 foi criado o Decreto 5.813 da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que garante a população o uso seguro e racional de plantas medicinais e fitoterápicos.

(...) estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações pelos diversos parceiros em torno de objetivos comuns voltados à garantia do acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, assim como ao fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, ao uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde.

Com base nisso, são obtidas informações sobre a planta, pessoas e o modo como ela é usada pela comunidade, comprovando seu efeito biológico que são analisados em conjunto com a etnobotânica e a etnofarmacologia, para obter então assim informações sobre a causa da doença, medicamentos e posologia, com fins terapêuticos (Gois et al, 2016). As plantas medicinais apresentam princípios ativos que apresentam que auxiliam no tratamento terapêutico e várias delas tem sido usada no tratamento de distúrbios gastrointestinais.

No tratamento dessas enfermidades têm sido utilizadas a erva cidreira (*Lippia alba* (Mill) N. E. Brown, Verbenaceae) que atua em distúrbios digestivas, hepáticas, diarreicas e disenterias (Barbosa et al., 2006) e a goiaba (*Psidium guajava* L., Myrtaceae) no qual as suas folhas apresentam propriedades antidiarreicas (Gois et al, 2016). Outros estudos isolaram compostos químicos que apresentaram atividade antiulcerogênica e contra distúrbios do trato gastrintestinal, como, por exemplo, *Croton cajucara* Benth (sacaca), que isolou a trans-desidrocrotonina e trans-crotonina (Hiruma-Lima 2002) e de *Egletes viscosa* (macela) que isolou o ternatin (Rao et al. 1997).

2.6.1 Família Polygonaceae

Polygonaceae faz parte do principal grupo das angiospermas pertencente a ordem das Caryophyllales, com cerca de 49 gêneros e 1200 espécies estão distribuídas regiões temperadas do hemisfério norte, tropicais e subtropicais da América do Sul, Ásia e África (SANCHEZ et al, 2011; PEREIRA e ALVES, 2018). No Brasil, a família está distribuída por toda região geográfica, ocorrendo 95 espécies e dez gêneros nativos, sendo *Antigonon* Endl., *Coccoloba* P.Browne, *Emex* L., *Muehlenbeckia* Meisn., *Oxytheca* Nutt., *Polygonum* L., *Rumex* L., *Ruprechtia* C.A.Mey., *Symmeria* Meisn., *Triplaris* L. formados por plantas arbóreas, arbustivas ou lianas (MELO, 2018; FLORA DO BRASIL, 2020).

Os representantes da família Polygonaceae se desenvolvem em qualquer tipo de ambiente e apresentam as seguintes características morfológicas: ramos com nós e entrenós, folhas simples alternas e inteiras; o caule é envolvido estípulas condescidas que se funde formando uma estrutura denominada de ócrea (MELO, 2004; MELO e FRANÇA, 2006; CARVALHO et al, 2016). A inflorescência pode ser racemosa ou cimosa, paniculados ou fasciculados com brácteas, são unissexuais ou bissexuais e brácteas persistentes. Os frutos são simples e indeiscentes do tipo aquênio envolto pelo cálice carnosos ou seco (MELO, 2000).

Vários atributos quanto ao seu uso medicinais foram listados para esta família, como por exemplo, asma, bronquite, tosse, diarreia, disenteria, eczema, dor de ouvido, condições inflamatórias, icterícia, doença renal, lepra, paralisia, dor de dente, colite ulcerativa, parasitas intestinais, dentre outros (Kamal, et al, 2014). Algumas espécies da família são empregadas na medicina popular como estimulante e diurético (*Polygonum punctatum* Elliott), outras apresentam propriedades anti-inflamatória, antihemorroidais e antidiarreica (*Polygonum hydropiperoides* Michx e *Polygonum ferrugineum* Wedd), enquanto outras são utilizadas como plantas ornamentais, na arborização de ruas, praças, parques, além de medicinais (*Triplaris*, *Ruprechtia*, *Antigonum* e *Coccoloba*) (SOUZA e LORENZI 2012; TABOSA et al, 2016).

2.6.2 Gênero *Ruprechtia*

Ruprechtia apresenta 39 espécies distribuídas exclusivamente pelo continente americano, ocorrendo principalmente no sul do México e na América central e do sul, exceto do Chile. No Brasil há uma maior diversidade desse gênero contado com 16 espécies distribuídas por todo território (*Ruprechtia apetala* Wedd., *Ruprechtia brachysepala* Meisn., *Ruprechtia brachystachya* Benth., *Ruprechtia exploratricis*

Sandwith, *Ruprechtia glauca* Meisn., *Ruprechtia latifunda* Pendry, *Ruprechtia laurifolia* (Cham. & Schltdl.) A.C.Meyer, *Ruprechtia laxiflora* Meisn., *Ruprechtia lundii* Meisn., *Ruprechtia maracensis* Brandbyge, *Ruprechtia obidensis* Huber, *Ruprechtia paranensis* Pendry, *Ruprechtia salicifolia* (Cham. & Schltdl.) A.C.Meyer, *Ruprechtia tangarana* Standl., *Ruprechtia tenuiflora* Benth., *Ruprechtia triflora* Griseb.) (MELO, 2015; MELO, 2016; FLORA DO BRASIL, 2020).

Esse gênero apresenta características morfológicas que se assemelha a *Triplaris*, devido a presença de uma pseudosâmara, no qual o cálice e a corola estão inseridos formando o que se chama de perianthro frutífero seco (SPJUT, 1994). Mas o que diferencia ambos os gêneros é o tubo do perianthro que apresenta uma fissura cuja fenda pode deixar exposta ou não a núcula trígono-alongada. As delimitações entre os gêneros *Ruprechtia* e *Triplaris* é pouco precisa e bastante discutida, pois ambas são muito similares quanto a sua morfologia (Melo, 2016). Estudos filogenéticos relacionado a família Polygonaceae ainda é bastante questionado, pois alguns autores aceitam a separação de *Triplaris* e *Ruprechtia* (COCUCCI, 1957; CIALDELLA e BRANDBYGE, 2001) enquanto outros acreditam que mais de dois gêneros deveriam ser reconhecidos (SANCHEZ, 2011), o que torna o estudo taxonômico bastante complexo.

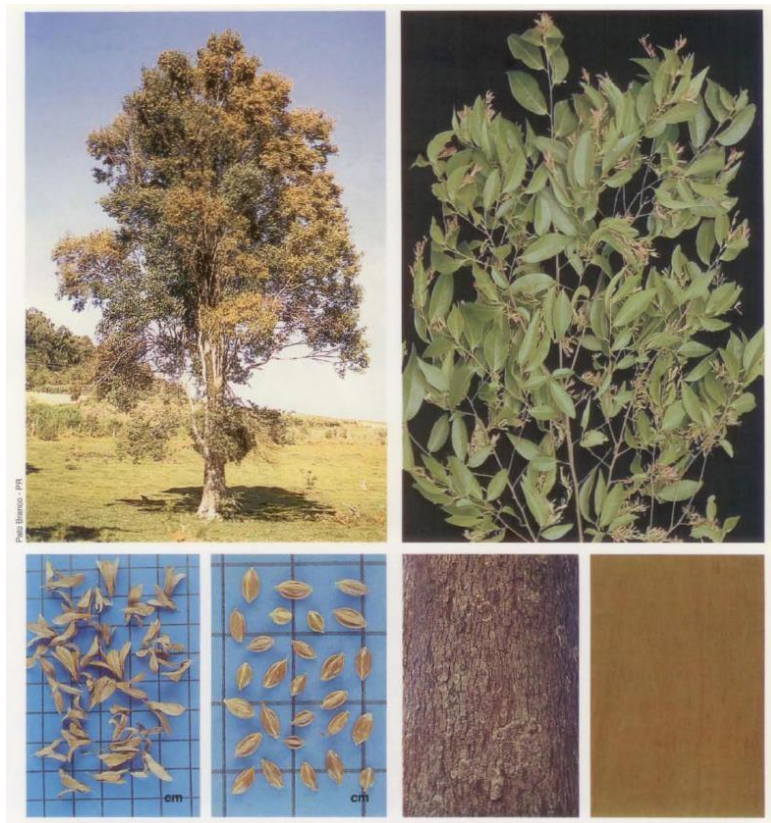
2.6.3 Pajéu

Dentro da família Polygonaceae encontramos duas espécies com o mesmo nome popular, são elas a *Ruprechtia laxiflora* e a *Triplaris gardneriana*, ambas são usadas como plantas medicinais pela comunidade no tratamento de distúrbios gastrointestinais e outras enfermidades.

Ruprechtia laxiflora Meisn. (Polygonaceae) é uma das espécies nativas pertencentes ao gênero *Ruprechtia*, conhecida popularmente como pajéu, pau caixão, pau formiga ou marmeleiro. No Brasil está amplamente distribuída pelas regiões Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul, tendo como principais domínios geográficos a Caatinga e a Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020 em construção). São plantas dióicas com tamanho variando entre 10-30 metros de altura com copa piramidal densa, ramos glabros a pubescente e folhas simples, opostas e glabras dispostas sobre o pecíolo. O tronco ereto é revestido por uma casca fina e acinzentada. A inflorescência é do tipo racemosa, axiais e terminais contendo flores femininas e masculinas. Os frutos dessa espécie são secos, simples e indeiscentes do tipo aquênio e suas sementes apresentam coloração enferrujada

e são bastante utilizadas na produção de mudas (LORENZI, 1998; MELO, 2015; TABOSA, 2016).

Figura 4. Espécie de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae)

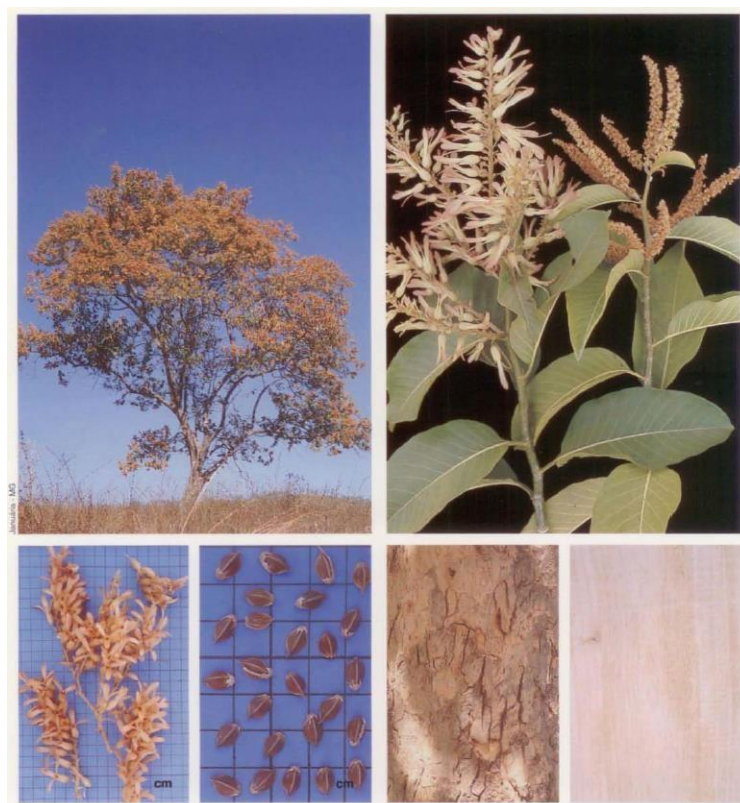


FONTE: Árvore Brasileiras – Vol.2

Triplaris gardneriana Wedd. (Polygonaceae) também é uma espécie nativa do Brasil, e que também é conhecida popularmente como formigueiro, pau formiga, Pajaú, Pajeú, Pau jaú e Coaçu. Está distribuída geograficamente pelo norte, nordeste, centro-oeste e sudeste, tendo como principais domínios geográficos Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020 em construção). São plantas dioicas que medem entre 4-7 m de altura, dotada de uma copa globosa rala e baixa. Possui tronco tortuoso e ramificado, revestido por uma camada fina e lisa, que se destaca em finas lâminas. Apresenta folhas simples, coriáceas, inflorescência paniculada, fruto do tipo aquênio e as sementes em formatos poligonais. Essa espécie é empregada nas construções rústicas e para lenha e carvão. Além disso, é bastante utilizada como planta ornamental e também na recuperação da vegetação de áreas degradadas (LORENZI, 1998). Outro ponto importante é que *T. gardneriana* é comumente usada pela poluição

como uma planta medicinal com propriedades anti-inflamatórias, analgésica, gastroprotetor e hipolipidêmico (NETO et al, 2017).

Figura 5. Espécie de *Triplaris gardneriana* Wedd. (Polygonaceae)



FONTE: Árvore Brasileiras – Vol.2

No extrato de EtOH/H₂O das folhas de *R. laxiflora* foi realizado um estudo fitoquímico onde foram identificados a presença de compostos secundários como os taninos, polifenóis, saponinas, flavonoides e glicosídeos (BERTUCCI et al, 2008). Estudos etnobotânicos relatam o uso da madeira dessa espécie na fabricação de móveis, além de ser amplamente cultivada na arborização urbana na Argentina e Paraguai, assim como possui qualidades ornamentais, na arborização de ruas, praças e parques sendo recomendadas também para o paisagismo (SOUZA e LORENZI, 2012).

Devido as semelhanças morfológicas entre ambas espécies e por ocuparem o mesmo território, ambas são usadas pela população no tratamento de dores estomacais. Afim de ser uma forma alternativa que venha favorecer ou até mesmo reverter os efeitos deletérios dos processos inflamatórios ocasionado no tecido, faz-se necessário investigar os efeitos farmacológicos de *R. laxiflora* como atividade gastroprotetora.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos geral

Avaliar a atividade gastroprotetora e toxicidade aguda do decocto da casca do caule de *Ruprechtia laxiflora* em modelos experimentais agudos e crônico de úlcera e a sua toxicidade aguda em roedores.

3.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato aquoso das cascas do caule de *R. laxiflora* (RLAE);
- Determinar os compostos majoritários de *R. laxiflora* (RLAE) por meio da cromatografia em camada delgada (CCD);
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais, flavonoides e proantocianidininas no RLAE;
- Realizar a caracterização fitoquímica qualitativa do extrato por SPE-UPLC-DAD-qTOF-MS/MS;
- Avaliar a capacidade antioxidante in vitro do extrato de *R. laxiflora*;
- Verificar a toxicidade aguda dose única do RLAE;
- Avaliar a atividade gastroprotetora de *R. laxiflora* em diferentes modelos experimentais in vivo;
- Determinar a atividade cicatrizante de *R. laxiflora* através do modelo in vivo de úlcera crônica induzida por ácido acético a 20%;
- Realizar as análises histopatológica dos modelos de toxicidade aguda e úlcera crônica induzida por ácido acético, para confirmar essa atividade.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material botânico e obtenção do extrato

As cascas do caule de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae) foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau, em Buíque-PE, com autorização de coleta emitida pelo SISBIO 66732-2 e cadastro de Acesso ao Patrimônio Genético - SISGEN AF6FEE7. Uma amostra testemunho foi herborizada para identificação e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) sob o nº 93.078. As cascas do caule foram fragmentadas, secas em estufa com circulação forçada de ar a 45 °C, e trituradas em moinho de facas. O extrato aquoso foi obtido por decocção utilizando água destilada por 15 min, após o início da ebulição. O extrato obtido foi resfriado, filtrado, liofilizado e armazenado em frascos âmbar a -20 °C até o momento do uso.

4.2 Análise fitoquímica

4.2.1 Cromatografia em camada delgada

Para a análise do perfil fitoquímico foi utilizado placas de sílica em gel F254 (ALUGRAM® 818131, Macherey-Nagel®, Alemanha) em diferentes sistemas de solventes para a identificação de metabólitos secundários do extrato aquoso de *R. laxiflora* (Roberts, Cartwright e Oldschool, 1957; Brasseur e Angenot, 1986; Wagner e Bladt, 1996; Harbone, 1998), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Sistemas e reveladores utilizados na cromatografia em camada delgada

Classe de metabólitos secundários	Padrões	Sistema de eluição	Reveladores
Flavonoides, derivados cinâmicos e fenilpropanoglicosídeos	Quercetina, rutina e ácido clorogênico	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O(100:11:11:27 v/v)	NEU
Triterpenos e esteroides	β- sitosterol	Tolueno: AcOEt (90:10 v/v)	Lieberman & Burchard
Mono e sesquiterpenos	Timol	Tolueno: AcOEt (97:3 v/v)	Anisaldeído sulfúrico

Cumarinas e Quinonas	Cumarina e lapachol	CHCl ₃ -MeOH (98:2 v/v)	KOH
Alcaloides	Pilocarpina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Dragendorff
Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas	Catequina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Vanilina clorídrica
Taninos hidrolisáveis	Ácido gálico	n-BuOH-H ₂ O-AcOH (40:50:10 v/v)	Alúmen de ferro 1%

4.2.2 Análise qualitativa por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS

A análise fitoquímica do extrato foi realizada por SPE-UPLC-DAD-qTOF-MS/MS no CENAPESQ/UFRPE. Para isso, 100 mg de extrato foi dissolvidos em água destilada e carregado em cartuchos de 6 mL contendo 1 g de sílica funcionalizada com grupos octadecila (Discovery DSC-18, Sigma-Aldrich) pré-condicionados com metanol e água. Foi realizada extração em fase sólida (SPE) e o extrato obtido foi analisado por cromatografia líquida de ultra eficiência (Acquity, Waters, EUA) acoplada a detector de massas quadrupolo (XEVO-G2XS qTOF, Waters, EUA) através de um sistema de ionização por electrospray (ESI), equipado com uma coluna BEH C18 (50 mm × 2,1 mm, 1,7 µm). Os dados adquiridos foram analisados utilizando o programa Waters MassLynx v 4.1.

4.2.3 Teor de compostos fenólicos

Para a determinação do teor de composto fenólicos realizou-se a técnica que consiste utilizar o ácido gálico em diferentes concentrações e dissolvidos em metanol. Para isso, foram utilizadas placas de poços no qual foi adicionado à solução Folin nas amostras diluídas. Passado 3 minutos no escuro adicionou carbonato de cálcio e permaneceu no escuro novamente em temperatura ambiente por 120 minutos. A absorbância foi medida e a concentração de compostos fenólicos foi determinado pela curva de calibração. Quanto ao teor total de fenol no extrato foi expresso em termos equivalentes de ácido gálico (LI e CHEN, 2004).

4.2.4 Quantificação de Flavonoides

A técnica consiste em avaliar a quantidade de flavonoides presente nas amostras. Foram utilizados 0,1 mL das amostras, do branco (etanol) ou das concentrações de quercetina, nos quais foi adicionado 0,05 mL tanto do reagente cloreto de alumínio 2% como também acetato de sódio (1 M). Para evitar falsos positivos foi preparado um branco para todas amostras contendo 0,1 mL de amostra mais 0,1 mL de água destilada como forma de reduzir os valores de absorbância das amostras diluídas. As mesmas foram agitadas e mantidas a temperatura ambiente por um período de 10 minutos. A absorbância foi medida em 425 nm e a curva de calibração foi baseada em função das concentrações de quercetina. O teor total de flavonoides nos extratos foi expresso como equivalente a quercetina (mg EQ/g de extrato) (PEKAL e PYRZYNSKA, 2014).

4.2.5 Quantificação de Proantocianidinas

Para determinar as concentrações de proantocianidinas, foram utilizados 0,04 mL de amostras do branco (etanol) ou das concentrações de catequina no qual foi adicionado 0,1 mL de vanilina (1%, p/v, diluída em metanol) e 0,1 mL de ácido sulfúrico (20%, v/v, diluída em metanol). Preparou-se um branco para todas as amostras adicionando o metanol em vez da vanilina. Feito isso as amostras foram encubadas a uma temperatura de 30 °C por 10 minutos e posteriormente a absorbância foi medida em 500 nm. A curva de calibração foi baseada em função das concentrações de catequina. O teor total de proantocianidina nos extratos foi expresso em termos de equivalente de catequina (mg EC/g de extrato) (SUN, SILVA e SPRANGER, 1998).

4.3 Atividade antioxidante in vitro

4.3.1 Sequestro dos radicais DPPH

Esse método baseia-se em analisar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]) que apresenta uma coloração púrpura. A realização do teste se dá por meio da doação de hidrogênio usando o radical livre. A leitura é feita em um espectrofotômetro de modo que seja determinada a porcentagem da atividade antioxidante, ou seja, a concentração inibitória (IC₅₀) apresente uma baixa intensidade de modo que sua atividade antioxidante seja maior (BLOIS, 1958).

4.3.2 Atividade antioxidante total

O decocto das cascas de *R. laxiflora* foi diluído em água, no qual parte da amostra foi diluída em solução de fosfomolibdênio, e posteriormente encubado em água a 95 °C por um período de 90 minutos. Em temperatura ambiente, a amostra teve sua absorbância medida, e a atividade antioxidante total foi expressa em relação ao ácido ascórbico (Pietro et al, 1999).

4.3.3 Redução do íon férrico – FRAP

A avaliação do poder antioxidante do ferro é realizada pelo preparo de uma solução de 300 mM de tampão de acetato juntamente com 10 mM de TPTZ com pH 3,6, para depois ser solubilizado com 40 mM de HCL em uma solução de 20 mM FeCl₃. A solução para a realização dessa atividade foi preparada na hora misturando, 25 mL do tampão acetato, 2,5 mL de TPTZ e 2,5 mL FeCl₃ (proporção de 10:1:1) e incubado por 5 min a 37 °C. Com 20 µL da amostra que foi diluída em metanol e com diferentes concentrações, foi misturada com 0,180 mL do reagente de FRAP e deixadas em repouso por 30 minutos a 37 °C no escuro. O potencial antioxidante do extrato aquoso de *R. laxiflora* foi determinado com base numa curva de calibração, traçada usando FeSO₄ (BENZIE et al, 1996).

4.4 Animais e aspectos éticos

Foram utilizados camundongos albinos Swiss (35-45g) e ratos Wistar (180-220 g), fêmeas, com faixa etária de 60 dias. Oriundos do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram acondicionados em caixas apropriadas e mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclos claro/escuro de 12/12 horas), temperatura (22 ± 2 °C) e umidade relativa do ar (45-65%), recebendo água e dieta (Labina®) *ad libitum*. Ao término dos experimentos, todos os animais foram eutanasiados por câmara de CO₂ por inalação. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco (processo de nº 0067/2019).

4.5 Toxicidade oral aguda

Para a realização do teste de toxicidade aguda, utilizou-se como referência o guia de testes químicos, conforme a OECD 423 (OECD, 2001). Inicialmente foram utilizados camundongos fêmeas que foram divididos em dois grupos (n=5) que foram submetidos a

um jejum sólido por 12 horas e com livre acesso de água. O grupo controle recebeu por via oral o veículo NaCl 0,9% e o grupo da dose limite de 2000 mg/kg recebeu a dose fracionada, no tempo inicial de 1000 mg/kg de RLAE e após 4 horas mais outra dose de 1000 mg/kg de RLAE. Os animais foram observados nos períodos de 0, 15, 30 e 60 minutos e a cada 4 horas (nas primeiras 24 horas) e diariamente durante 14 dias após administração, prazo que pode ser ampliado caso os animais apresentem alguns de sinais de toxicidade, com o objetivo de observar a reversão ou não destes sinais. Durante o período de 14 dias foram mensurados o consumo de água e ração bem como o peso corporal dos animais. Ao término do teste os animais foram eutanasiados e os órgãos retirados (fígado, baço, rim e pulmão), pesados e conservados em formol para ser realizado a análise histológica.

4.6 Atividade gastroprotetora

4.6.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto

Os camundongos foram divididos em cinco grupos (n = 6/grupo) e submetidos a um jejum inicial de 16 h, posteriormente, pré-tratados por via oral com lansoprazol (30 mg/kg) para o controle positivo, solução veículo de NaCl 0,9% para o controle negativo e o extrato de *R. laxiflora* nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg. Após 1 hora, foi administrado etanol absoluto (4 mL/kg) nos animais por via oral. Decorrido mais uma hora os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados, fotografados, abertos ao longo da grande curvatura e o índice de lesão ulcerativa (ILU) foi determinado com o auxílio do programa ImageJ®. Os resultados foram expressos em área total de lesão ulcerativa (mm²) em relação à área total do corpo gástrico (MORIMOTO et al, 1991).

4.6.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado

Os camundongos foram divididos em cinco grupos (n = 6/grupo) e submetidos a jejum de alimentos sólidos por 18 h, para serem pré-tratados por via oral com o extrato de *R. laxiflora*, lansoprazol (30 mg/kg) como controle positivo, e solução salina 0,9% (4 ml/kg) como controle negativo. Após 1 h, a úlcera foi induzida pela administração, por via oral, da solução etanol/HCl 0,3 M. Após uma hora, os animais foram eutanasiados e os estômagos foram retirados, fotografados, abertos ao longo da grande curvatura e o índice de lesão ulcerativa (ILU) foi determinado com o auxílio do programa ImageJ®. Os

resultados foram expressos em área total de lesão ulcerativa (mm²) em relação à área total do corpo gástrico (MIZUI, DOUTEUCHI, 1983).

4.6.3 Barreira física

Para o teste de barreira física foram utilizados três grupos de camundongos (n = 6/grupo), no qual foram pré-tratados com o veículo (NaCl 0,9%, v.o.), com o extrato das cascas de *R. laxiflora* por via oral e intraperitoneal. Com 30 min de administração por via intraperitoneal e uma hora por via oral, os animais receberam, o etanol absoluto (10 mL/kg), por via oral, para indução da úlcera gástrica e, após uma hora, os animais foram eutanasiados utilizando câmara de CO₂, os estômagos removidos para a determinação do ILU, assim como é descrito no modelo de úlcera induzida por etanol (VIDAL, 2017).

4.7 Atividade cicatrizante

Para a realização da úlcera crônica induzida por ácido acético a 20%, os ratos foram divididos em três grupos (n = 6/grupo), que foram submetidos a um jejum de 18 horas. Os animais foram anestesiados com xilazina (0,25 mg/kg) associada com cetamina (0,5 mg/kg) por via intraperitoneal, em seguida foi realizada a laparotomia para exposição do estômago. Após esse procedimento foi injetada na camada serosa do estômago, uma solução de ácido acético a 20 %, para delimitar a área lesionada. Após a remoção da injeção, o local foi lavado com solução salina e a cavidade abdominal suturada. No segundo dia após a indução da úlcera, foi iniciado o tratamento, duas vezes ao dia, com veículo (solução NaCl 0,9 %, v.o.), ranitidina (60 mg/kg, v.o.) e o extrato das cascas de *R. laxiflora*, durante 14 dias. No 14º dia, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados, fotografados, abertos ao longo da grande curvatura e o índice de lesão ulcerativa (ILU) foi determinado com o auxílio do programa ImageJ®. Os resultados foram expressos em área total de lesão ulcerativa (mm²) em relação à área total do corpo gástrico (OKABE e PFEIFFER., 1972).

4.8 Ligadura de piloro

Para a determinação da secreção gástrica, os ratos foram divididos em três grupos (n = 6/grupo), onde cada grupo recebeu uma solução veículo de NaCl 0,9%, a ranitidina (60 mg/kg) e o extrato das cascas de *R. laxiflora*. Os animais ficaram de jejum por 18 horas com livre acesso de água com 5% de solução glicose. Para a realizar a ligadura de piloro, os animais foram anestesiados com xilazina (0,25 mg/kg) associada com cetamina

(0,5 mg/kg) por via intraperitoneal, conseqüentemente foram submetidos a uma laparotomia para a ligadura do piloro. Em seguida, após a ligadura foi introduzido por via intraduodenal, o veículo (NaCl 0,9%), ranitidina (60 mg/kg) e o extrato aquoso de *R. laxiflora* (100 mg/kg) para posteriormente ser suturado. Após quatro horas os animais foram eutanasiados e os estômagos removidos. O conteúdo gástrico foi coletado e centrifugado a 3000 rpm por 30 min. O conteúdo gástrico, o valor do pH e a acidez total (mEq [H⁺]/g/4h) foram avaliados (VISSCHER et al., 1954).

4.9 Análise histológica do modelo de úlcera induzida por ácido acético

Para as análises histopatológicas, as amostras dos estômagos foram preservadas a formaldeído a 10%. Para a preparação das lâminas as amostras foram lavadas em tampão, desidratadas em álcool no aumento das concentrações em série e emblocadas em parafina. As secções de 4µm foram obtidas em micrótomo e sujeito a técnica de hematoxilina e eosina (HE). As lâminas em duplicatas foram examinadas em microscópio de luz e acoplado a ele uma câmera para registro fotográfico.

4.10 Análise estatística

Para os resultados obtidos no ensaio da toxicidade os dados foram analisados usando o Test T, enquanto que nos ensaios de atividade gastroprotetora, a análise dos dados foi realizada utilizando ANOVA seguido de pós-teste de Dunnett. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão (D.P.) e o nível de significância mínimo será de $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas com software GraphPad Prisma 5.0 San Diego, CA, EUA. Todos os resultados serão expressos pela média dos valores dos grupos ± desvio padrão (D.P.) e analisados considerando o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Análise Fitoquímica

5.1.1 Cromatografia em camada delgada

Para a análise da prospecção fitoquímica foi identificado diferentes grupos de metabólitos secundários presentes no decocto das cascas de *R. laxiflora*, conforme mostra a Tabela 2. Após a caracterização fitoquímica, foram realizados diferentes métodos de dosagem para quantificar a presença de compostos fenólicos, flavonoides e flavonol no decocto de *R. laxiflora* conforme está sendo expresso na Tabela 3.

Tabela 2. Prospecção fitoquímica do decocto das cascas de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae).

Classe de metabólitos secundários	<i>R. laxiflora</i> Entrecasca
Flavonoides	+ ¹
Derivados cinâmicos	-
Saponinas	-
Alcaloides	-
Triterpenos e Esteroides	-
Monoterpenos e Sesquiterpenos	-
Cumarinas	-
Quinonas	-
Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas	++ ^{2,3}
Taninos hidrolisáveis	++ ⁴

Notas: ¹heterosídeos de flavonoides 3'-OH e 4'-OH; ²heterosídeos de flavonoides 3'-OH; ³proantocianidinas oligoméricas; ⁴proantocianidinas poliméricas; ⁴ácidos fenólicos livres e poliméricos.

Legenda: (+++) forte; (++) médio; (+) fraco; (-) ausente; (tr) traços

Fonte: Autor

Tabela 3. Análise antioxidante e fitoquímica do extrato aquoso de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae).

Atividades	Extrato aquoso de <i>Ruprechtia laxiflora</i>
DPPH (IC ₅₀ - µg/mL)	104.17 ± 5.06
TAC (% - 1 mg/mL)	36.21 ± 0.87
FRAP (mg TE / g extrato)	881.75 ± 36.92
Compostos fenólicos (mg GAE / g extrato)	274.24 ± 7.26
Flavonols (mg QE / g extrato)	1.61 ± 0.05
Proantocianidinas (mg CE / g extrato)	8.35 ± 1.92

ATT - Atividade antioxidante total. FRAP - Redução do íon férrico. TE - Trolox equivalente. GAE =- Ácido gálico equivalente. QE - Quercetina equivalente. CE - Catequina equivalente.

Fonte: Autor

5.1.2 Análise qualitativa por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS

Na análise qualitativa por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS do extrato aquoso de *R. laxiflora*, obteve-se um cromatograma com dezesseis picos bem definidos (Figura 1A) e apenas treze compostos foram identificados (Tabela 5), com base nos espectros de fragmentação de massas, sendo a maioria desses compostos pertencentes a classe dos flavonoides. Os compostos identificados foram os, trimetóxi-hidróxi-flavonol rutinosídeo, dois isômeros da taxifolina-O-pentosídeo, dihidrokaempferol O-sulfato, trans-2,3-dihidrokaempferol 3-O-(4-O-sulfo-α-l-arabinopiranosídeo), ácido rosmarínico O-sulfato, eriodictiol O-sulfato, dihidrokaempferol O-hexosídeo, dihidrokaempferol, quercitrina O-sulfato, quercetina O-metil e quercetina com tempos de retenção específicos.

Figura 6. Cromatograma por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS do decocto das cascas de *Ruprechtia laxiflora* Meisn. (Polygonaceae).

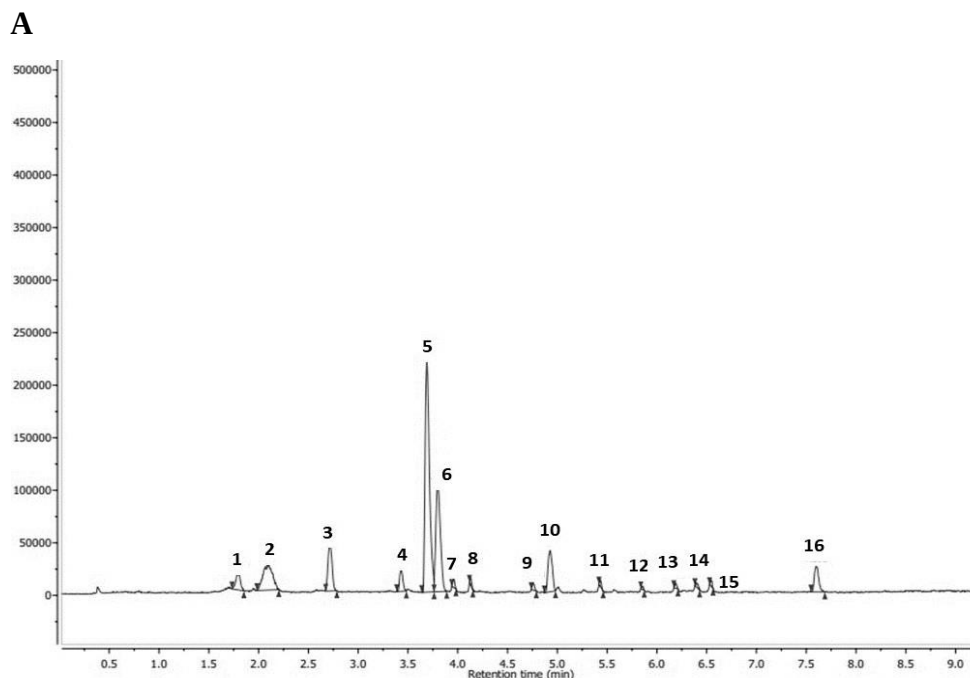


Tabela 4. Compostos identificados no cromatograma por UPLC-DAD-qTOF-MS/MS do decocto da casca de *Ruprechtia laxiflora* Meisn (Polygonaceae).

	TR (min)	λ (nm)	Fórmula molecular	m/z	Fragmentação	Identificação	Referencias
1	1,79	280	$C_{30}H_{36}O_1$ 6	651,1807[M-H] ⁻	505,0443 325,9909 869,2478 723,1853	Trimetóxi-hidróxi- flavonol rutinosídeo	- Ishimaru et al. (1995)
2	2,09	280	$C_{20}H_{20}O_1$ 1	435,1119[M-H] ⁻		Taxifolin-O- pentosídeo isômero I	Chosson et al. (1998) Abreu et al. (2011)

3	2,72	280	$C_{20}H_{20}O_1$ 1	435,1289[M-H] ⁻	869,2829 399,1154 241,9031	Taxifolin-O- pentosídeo isômero II	Ishimaru et al. (1995) Chosson et al. (1998) Abreu et al. (2011)
4	3,43	280	$C_{15}H_{12}O_9$ S	367,0113[M-H] ⁻	287,0632	Dihidrokaempferol O-sulfato <i>trans</i> -2,3- dihidrokaempferol 3- O-(4-O-sulfo- α -l- arabinopiranosídeo)	Noletto-Dias et al. (2020)
5	3,68	280	$C_{20}H_{20}O_1$ 3S	499,1246[M-H] ⁻		Ácido rosmarínico O-sulfato	Abreu et al. (2011)
6	3,79	280	$C_{23}H_{20}O_9$	439,1056[M-H] ⁻	359,8863	Eriodictiol O-sulfato	Barros et al. (2013)
7	3,95	280	$C_{15}H_{12}O_9$ S	367,0109[M-H] ⁻	287,0512	NI	Noletto-Dias et al. (2020)
8	4,13	280	-	469,1160[M-H] ⁻			-
9	4,76	280	$C_{21}H_{22}O_1$ 1	449,1096[M-H] ⁻	431,1537	Dihidrokaempferol O-hexosídeo	-
10	4,92	280	$C_{15}H_{12}O_6$	287,0525[M-H] ⁻		Dihidrokaempferol	Noletto-Dias et al. (2020)
11	5,44	280	$C_{21}H_{20}O_1$ 4S	527,0498[M-H] ⁻	301,0488	Quercitrina O-sulfato	Op de Beck et al. (1998)
12	6,19	280	$C_{16}H_{14}O_9$ S	381,0248[M-H] ⁻	301,0639	Quercetina O-sulfato	Kleinenkuhnen et al. (2019)
13	6,39	280	$C_{16}H_{12}O_7$	315,0117[M-H] ⁻		Quercetina O-metil	Tang et al. (2020)
14	6,54	280	$C_{21}H_{19}O_1$ 3S	511,0524[M-H] ⁻		NI	-
15	7,59	280	$C_{15}H_1O_7$	301,0689[M-H] ⁻		Quercetina	Kleinenkuhnen et al. (2019)

Os isômeros de taxifolina-O-pentosídeo ($[M-H]^-$ 435,1119 e 435,1289, respectivamente) não pode ter a estrutura exata determinada somente pelos espectros de massas (ABREU et al, 2011; JAISWAL, JAYASINGHE e KUHNERTA, 2012). Outro composto pertencente ao grupo dos flavonoides, é o dihidrokaempferol, também conhecido como aromadendrina, é uma flavanona precursora biossintética do kaempferol e originado a partir de narigenina (CALDERÓN-MONTAÑO et al, 2011). O dihidrokaempferol possui atividade anti-inflamatória, antioxidante e antidiabética. Em macrófagos RAW 264.7 estimulados com lipopolissacarídeo, o dihidrokaempferol diminui a produção de NO e PGE2, provavelmente pela inibição de JNK e NF- κ B que resulta na menor expressão de iNOS e COX-2 (LEE, 2013). A quercetina é um flavonol com propriedades farmacológicas diversas, como antioxidante, antimicrobiano, hepatoprotetor, quimiopreventivo (JAN et al, 2010; MORETTI et al, 2012; MAALIK, 2014), sendo uma molécula com alto potencial antioxidante e protetor da mucosa gastrointestinal em lesões agudas (KHALEEL, MOSTAFA, ABDEL-ALEEM, 2015).

5.1.3 Teor de compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos resultou num valor de 274.24 mg GAE / g extrato (Tabela 3). Os compostos fenólicos são um grupo heterogêneo que possui em sua estrutura um ou mais anéis aromáticos contendo um ou mais grupos hidroxila. Eles apresentam ação antioxidante, anti-inflamatória, antissecretora, antiplaquetária, anticancerígena, antiangiogênica, antivirais, antimicrobiana e vasodilatadora (CRITCHFIELD, BUTERA e FOLKS, 1996; LIMA et al, 2005; ROSSA, 2013). Estudos relatam um papel muito importante na úlcera gástrica, visto que os fenóis estimulam a formação das prostaglandinas (ALANKO et al, 1999). Além disso, os polifenóis melhoram o estresse oxidativo, como também determina as atividades antioxidante por meio de mecanismo que tem a capacidade de eliminar radicais livres, reduzir os peróxidos e estimular a atividade de enzimas antioxidantes (WILLIAMSON e MANACH, 2005).

5.1.4 Quantificação de Flavonoides

A quantificação do teor de flavonoides no RLAE foi de 1.61 ± 0.05 mg QE / g extrato (Tabela3). Os flavonoides são compostos polifenólicos que apresentam dois anéis aromáticos e um heterociclo oxigenado (PEREIRA e CARDOSO, 2012). São bastante semelhantes estruturalmente, mas diferem apenas das flavonas por apresentarem um agrupamento da hidroxila na posição 3 (SHAHIDI e NACZK, 2004). Os flavonoides são

capazes de atuar no trato gastrointestinal como antiespasmódico, anti-secretório, antidiarreico, antiulcerogênico e com propriedades antioxidantes (DI CARLO et al, 1993; MARTÍN et al, 1998; LA CASA et al, 2000; LIMA et al, 2005). Por terem ação citoprotetora, eles têm a capacidade de proteger a mucosa gástrica frente a uma variedade de agentes ulcerogênico, por meio de diversos mecanismo de ação, seja pelas propriedades antioxidantes, aumento da produção de muco e inibição do crescimento da *H. pylori* (DI CARLO, IZZO e CAPASSO, 1999; BORRELLI e IZZO, 2000; GALATI et al, 2001).

5.1.5 Quantificação de Proantocianidinas

A quantificação do teor de proantocianidinas no RLAE foi de 8.35 mg CE / g extrato (Tabela 3). Os taninos são polifenóis de alto peso molecular e subdivididos em taninos hidrolisáveis e condensados. Os condensados são formados por duas ou mais unidades de flavan-3-ol ou flavan-3,4-diol, recebendo o nome de proantocianidinas por apresentarem coloração vermelha. Os taninos hidrolisáveis são polímeros de ácido gálico e/ou elágico esterificados com açúcares (ANGELO e JORGE, 2007). Para a medicina tradicional, os taninos são empregados no tratamento de várias enfermidades, como por exemplo, diarreia, pressão alta, feridas, queimaduras, problemas renais e estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica) e nos processos inflamatórios (SERRANO et al, 2009). Testes in vitro com extratos ricos em taninos comprovam suas atividades farmacológicas relacionadas a ação bactericida, fungicida, antiviral, citotóxica, cicatrizante, dentre outras (QUIDEAU et al, 2011). Outro ponto importante é que os taninos apresentam propriedades adstringentes que reagem com as proteínas da camada tecidual. A formação de uma mucoproteína no local da úlcera, forma uma película protetora que impede a absorção de substâncias tóxicas e promovem a resistência a ação de enzimas proteolíticas (VASONCELOS et al, 2008; JESUS et al, 2012).

5.2 Atividade Antioxidante

5.2.1 Sequestro dos radicais DPPH

Um ensaio para a avaliação da atividade antioxidante foi executado utilizando o método do sequestro dos radicais DPPH. O extrato aquoso de *R. laxiflora* apresentou IC₅₀ = 104,17 µg/mL (Tabela 3). Essa técnica baseia-se na transferência de elétrons que produz uma coloração violeta, que quando em uma temperatura em ambiente é reduzido na

presença de uma molécula antioxidante dando origem a uma solução de etanol incolor (HUANG, OU e PRIOR, 2005). Kamal e colaboradores (2012) analisaram a capacidade antioxidante dos extratos metanólicos das folhas de *Podocarpus gracilior* e *Ruprechtia polystachya*, os quais apresentaram valores de $IC_{50} = 67,4$ e $74,8 \mu\text{g/ml}$, respectivamente.

5.2.2 Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total do RLAE obteve como resultado $36.21 \pm 0.87 \%$ - 1 mg/mL . Esse método se baseia na redução do molibdênio (IV) a molibdênio (V), formando um complexo fosfato/molibdênio (V), com coloração verde em pH ácido (ZENGIN et al., 2014).

5.2.3 Redução de íons férrico – FRAP

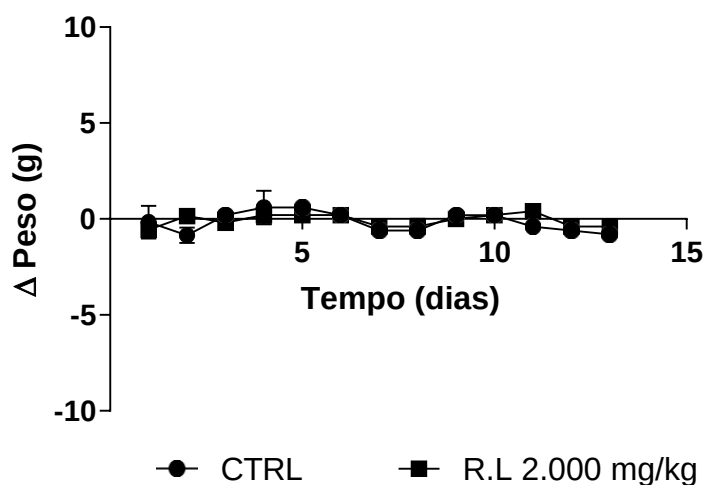
Por meio deste o método, a atividade antioxidante calculada foi de $881.75 \pm 36.92 \text{ mg TE / g RLAE}$. O método FRAP está baseado na produção do íon Fe^{2+} , a partir da redução do íon Fe^{3+} presente no complexo TPTZ. Quando há a redução, ocorre uma alteração na coloração que sai do roxo claro para o roxo intenso, o que significa maior potencial antioxidante (Urrea-Victoria et al, 2016).

5.3 Toxicidade oral aguda

Para este ensaio foram utilizados camundongos fêmeas por serem mais sensíveis a qualquer alteração no sistema nervoso, no qual receberam a dose de 2000 mg/Kg do extrato aquoso de *Ruprechtia laxiflora* fracionada em intervalo de 12 horas. Durante a primeira e segunda administração os animais não apresentaram nenhuma mudança comportamental, nem sinal de toxicidade e nem letalidade durante o período de 14 dias.

Com relação ao consumo de água e ração e ganho de peso, o extrato não mostrou variações significativas conforme mostra a figura 5.

Figura 7. Variação do peso dos animais em relação dos 14 dias de observação dos animais no modelo de Toxicidade.



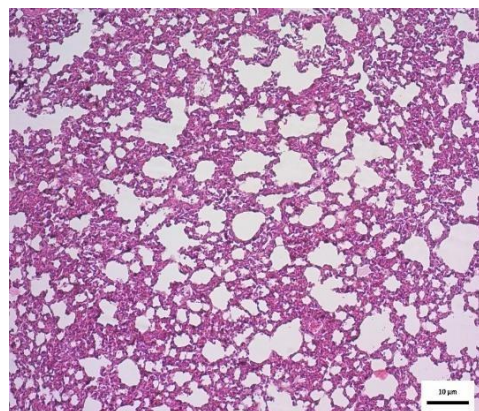
Fonte: Autor

Nas análises macroscópicas desses mesmos órgãos não houve mudanças significantes na cor ou textura quando comparados ao controle. Nos resultados histológicos dos órgãos coletados, no grupo controle não apresentou alteração morfológica no pulmão e baço. As alterações mostradas estão presentes no fígado com a presença de uma leve esteatose hepática (círculo) e nos rins em que há uma variação leve a moderado do espaço da cápsula de Bowman (setas). Na análise do grupo do extrato aquoso de *Ruprechtia laxiflora* as alterações estão presentes apenas no rim, em que também há presença de uma variação leve a moderado do espaço da cápsula de Bowman (setas) (Figura 8).

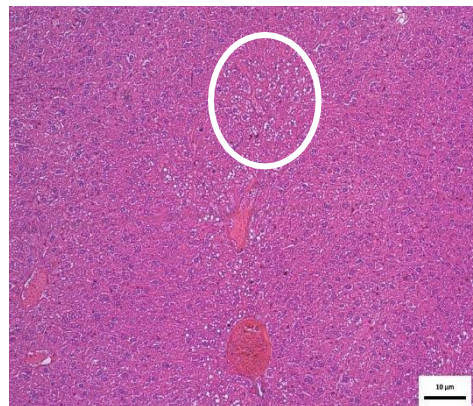
O aumento do espaço da cápsula de Bowman verificado nas fêmeas tratadas com a dose fracionada pode ser consequência do efeito diurético dos taninos. Estudos mostram que os taninos são providos de ações diuréticas e vasodiladoras, que contribuem para um aumento da excreção urinária (HERRERA et al., 2008). O aumento da excreção urinária pode resultar no aumento do filtrado glomerular, o que força o aumento da cápsula de Bowman (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Figura 8. Histopatologia dos órgãos de camundongos Swiss no modelo de toxicidade oral aguda.

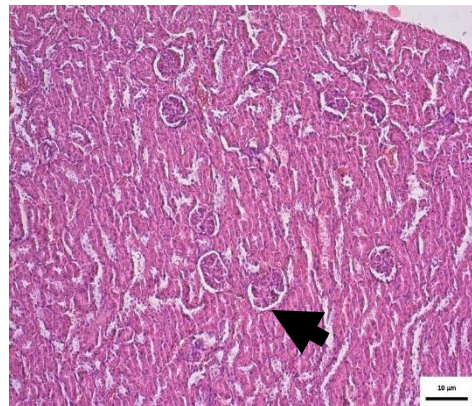
**Grupo 1 –
Controle Pulmão**



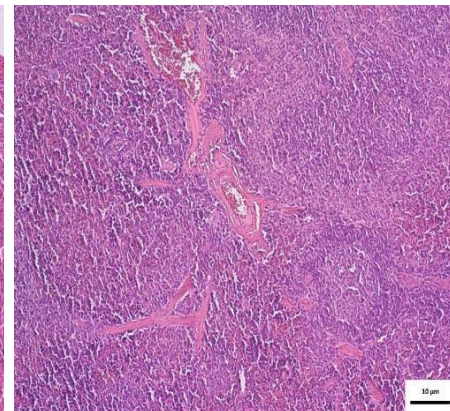
**Fígad
o**



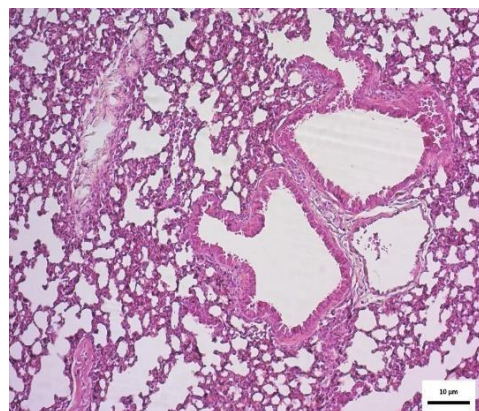
**Ri
m**



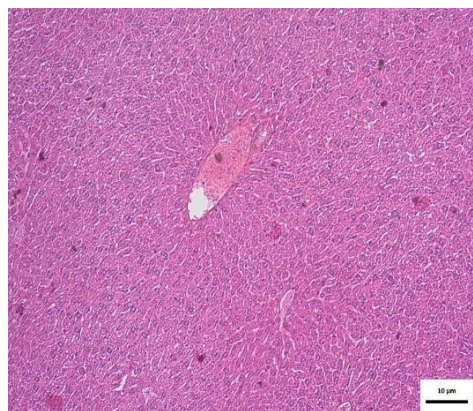
Baço



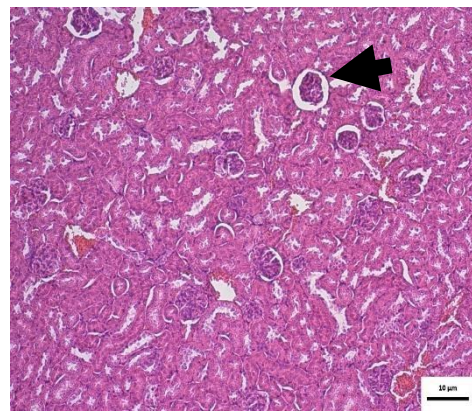
**Grupo 2 – *Ruprechtia laxiflora*
Pulmão**



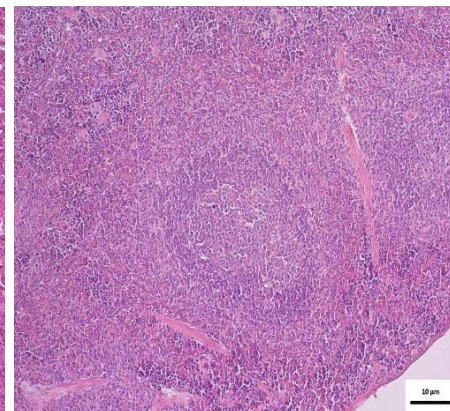
**Fígad
o**



**Ri
m**



Baço



Nota: O círculo branco é a identificação da presença de esteatose hepática; setas pretas demonstra o aumento da cápsula de Bowman.

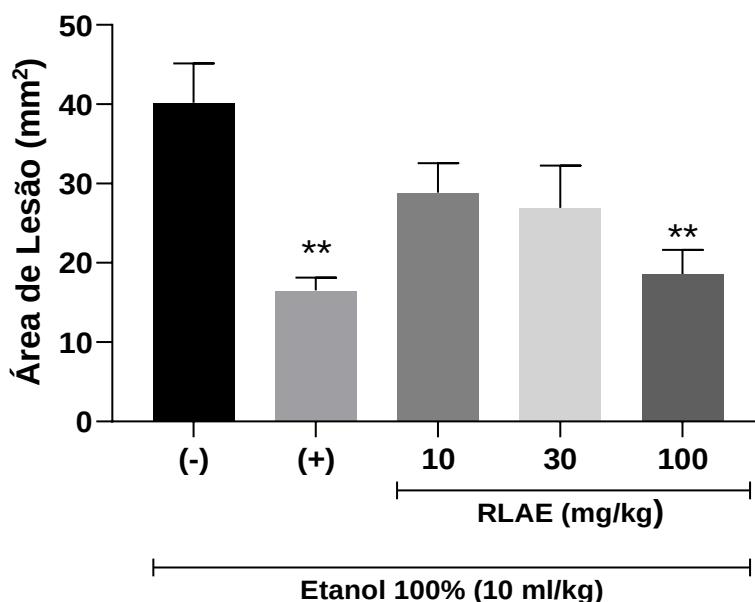
Fonte: Autor.

5.4 Avaliação da Atividade gastroprotetora de *Ruprechtia laxiflora*

5.4.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto

Para a avaliação do efeito gastroprotetor foi realizado o método de lesão gástrica induzida por etanol com a administração por via oral do RLAE em camundongos. Esse método foi determinante para a escolha da dose que demonstrou melhor gastroproteção. Os resultados demonstraram que o pré tratamento do RLAE (doses de 10, 30 e 100 ml/kg) foi capaz de inibir a lesão gástrica, respectivamente em 28,17%, 32,99% e 53,75%, quando comparado com o lansoprazol que inibiu a lesão em 58,88%.

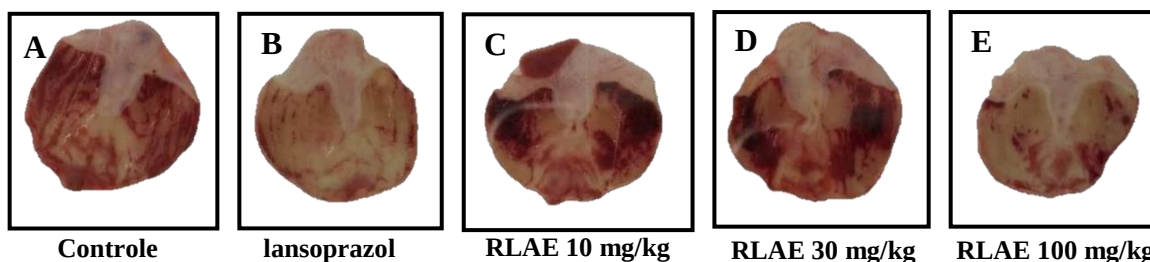
Figura 9. Efeito da administração oral do RLAE em úlceras induzidas por etanol absoluto em camundongos Swiss.



Fonte: Autor

Os animais foram tratados via oral com solução aquosa de NaCl a 0.9% (controle lesionado), lansoprazol (30 mg/kg) e RLAE (100 mg/kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. (n=6), utilizando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de múltiplas comparações de Dunnett, comparado com o grupo negativo **p< 0,01.

Figura 10. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto. Controle (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), RLAE (10 mg/kg) (C), RLAE (30 mg/kg) (D), RLAE (100 mg/kg) (E) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol).



Fonte: Autor

Experimento como esse tem como agente indutor o etanol, que tem a capacidade de causar lesões na porção glandular do estômago (RUJJANAWATE et al., 2005). Esse agente necrotizante provoca alterações microvasculares em poucos minutos após aplicação. O etanol age de modo que provoca uma ruptura da barreira muco-bicarbonato, ocasionando a presença de pontos hemorrágicos na porção glandular do estômago, permeabilidade vascular e formação de edema (Moleiro et al, 2009; Mousa et al, 2019).

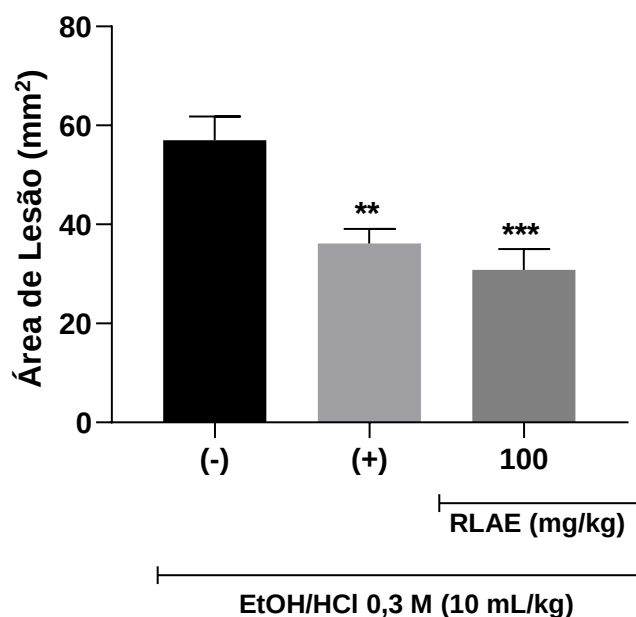
O etanol também induz o estresse oxidativo e redução dos grupamentos sulfidrílicos não-proteicos das células que são fatores importantes para o equilíbrio dos fatores protetores da mucosa (Ferreira et al, 2016). A formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica, são os principais fatores responsáveis pelo dano na mucosa gástrica (Farias et al, 2012).

5.4.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado

A administração do extrato aquoso de *Ruprechtia laxiflora* pela via oral na dose de 100 mg/kg, protegeu a mucosa gástrica dos efeitos necróticos como pode ser observado abaixo quando comparado com o grupo controle (Figura 8). O poder de inibição da dose de RLAE foi de 45,99% ($30,82 \pm 14,69 \text{ mm}^2$). O uso de etanol acidificado na mucosa gástrica, ocasiona lesões gástricas acompanhada de áreas hemorrágicas intensas que provoca morte do tecido. Isso aumenta a permeabilidade vascular e a entrada de neutrófilos no local e consequentemente a liberação de ROS, no qual diminui a concentração de GSH e enzimas antioxidantes e perda do epitélio gástrico. Os efeitos dos

flavonoides nesse modelo de indução, Barros et al (2016), observaram que afzelina e quercetina reduziram o aparecimento das lesões pela inibição da enzima MPO e a inibição da concentração de GSH na mucosa.

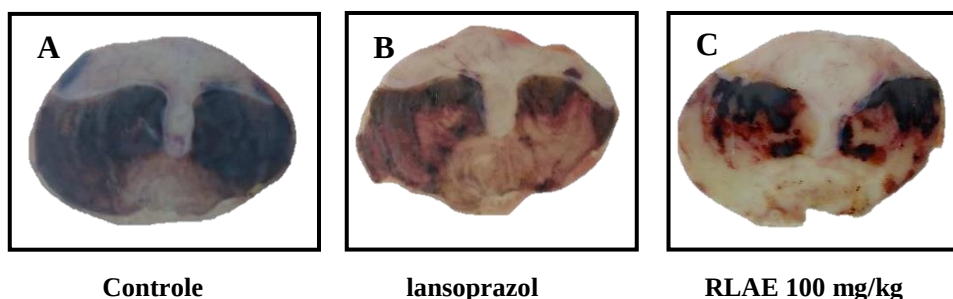
Figura 11. Efeito da administração oral do RLAE em úlceras induzidas por etanol/HCl em camundongos Swiss.



Fonte: Autor

Os animais foram tratados via oral com solução aquosa de NaCl a 0.9% (controle lesionado), lansoprazol (30 mg/kg) e RLAE (100 mg/kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. (n=6), utilizando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de múltiplas comparações de Dunnett, comparado com o grupo negativo **p< 0,01 e ***p< 0,001.

Figura 12. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol/HCl. Controle (A), lansoprazol 30 mg/kg (B), RLAE (100 mg/kg) (C) (Modelo de indução de úlcera gástrica por etanol/HCl).

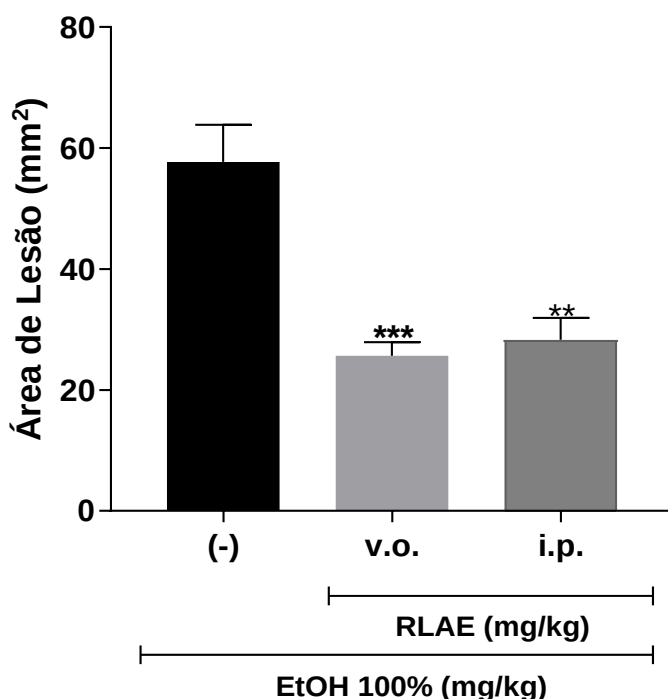


Fonte: Autor

5.4.3 Barreira física

Para esse tipo de modelo, percebe-se que o grupo do controle negativo apresenta uma maior área de lesão devido a ação do etanol que foi administrado. Para os demais grupos que receberam por via oral (v.o.) e a via intraperitoneal (v.i.) de RLAE com a dose de 100 mg/Kg não há diferença entre elas, ocasionando uma inibição de 55,5% e 50,99%, quanto a área lesionada. Portanto, não há diferença significativa entre as duas vias (v.o. e i.p.), visto que há uma biodisponibilidade por uma delas. Sendo assim, o efeito gastroprotetor pode estar associado a modulação de mecanismos sistêmicos e local que estão envolvidos na geração de lesões gástricas que podem ser induzidas por diferentes agentes, como por exemplo, o ROS.

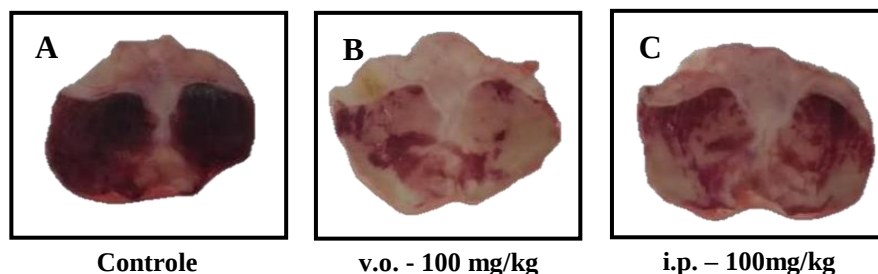
Figura 13. Efeito da administração por via oral e via intraperitoneal do RLAE em úlceras induzidas por etanol/HCl em camundongos Swiss.



Fonte: Autor

Os animais foram tratados por via oral e via intraperitoneal com RLAE (100 mg/kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. (n= 6), utilizando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de múltiplas comparações de, Dunnett comparado com o grupo negativo **p< 0,01 e ***p< 0,001.

Figura 14. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral (v.o.) e intraperitoneal (i.p.) com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol. Controle (A), RLAE por via oral (100 mg/kg) (B), RLAE por via intraperitoneal (100 mg/kg) (C) (Modelo de barreira física).

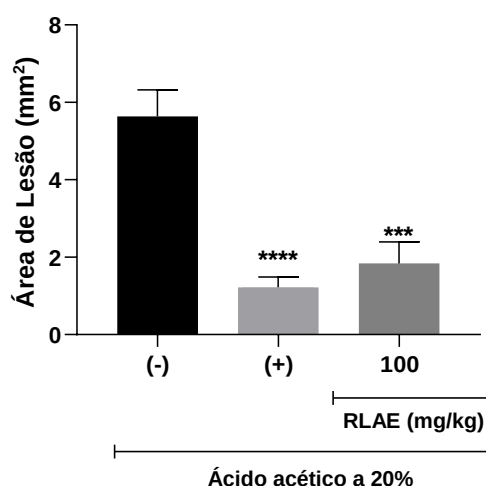


Fonte: Autor

5.5 Atividade cicatrizante

O período de tratamento dos animais que durou 14 dias consecutivos com RLAE (100 mg/kg) e ranitidina (60 mg/kg), apresentou um poder de inibição de 67,5% ($1,83 \pm 1,33 \text{ mm}^2$) e 78,34% ($1,22 \pm 0,80 \text{ mm}^2$), quando comparado ao grupo controle ($5,63 \pm 2,78 \text{ mm}^2$). Isto significando que o poder de cicatrização foi acelerado pelo RLAE em uma úlcera crônica que foi induzida por ácido acético (Figura 12).

Figura 15. Efeito da administração oral de ranitidina e RLAE nas úlceras induzidas por ácido acético a 20% em ratos.

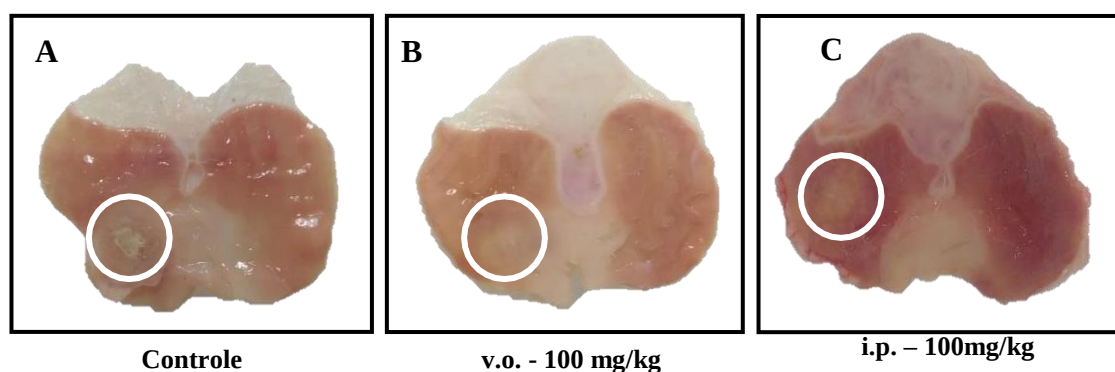


Fonte: Autor

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 6$), utilizando a análise de variância (ANOVA), seguido do teste de múltiplas comparações de Dunnett, comparado com o grupo negativo, **** $p < 0,0001$ e *** $p < 0,001$.

A avaliação macroscópica da mucosa gástrica dos animais tratados com a ranitidina e o RLAE mostra uma redução da área lesionada e cicatrização do tecido, quando comparado com o controle (Figura 13). Nas análises histológicas por HE o grupo controle apresentou um edema na camada mais interna do tecido, enquanto na borda do epitélio a mucosa gástrica não está preservada e mostrando esfoliação tecidual (Figura 14 - A). Nos grupos tratados com ranitidina e o extrato na dose de 100 mg/kg o epitélio da mucosa encontra-se preservado bem como as glândulas gástricas, indicando que as doses utilizadas tiveram poder de cicatrização.

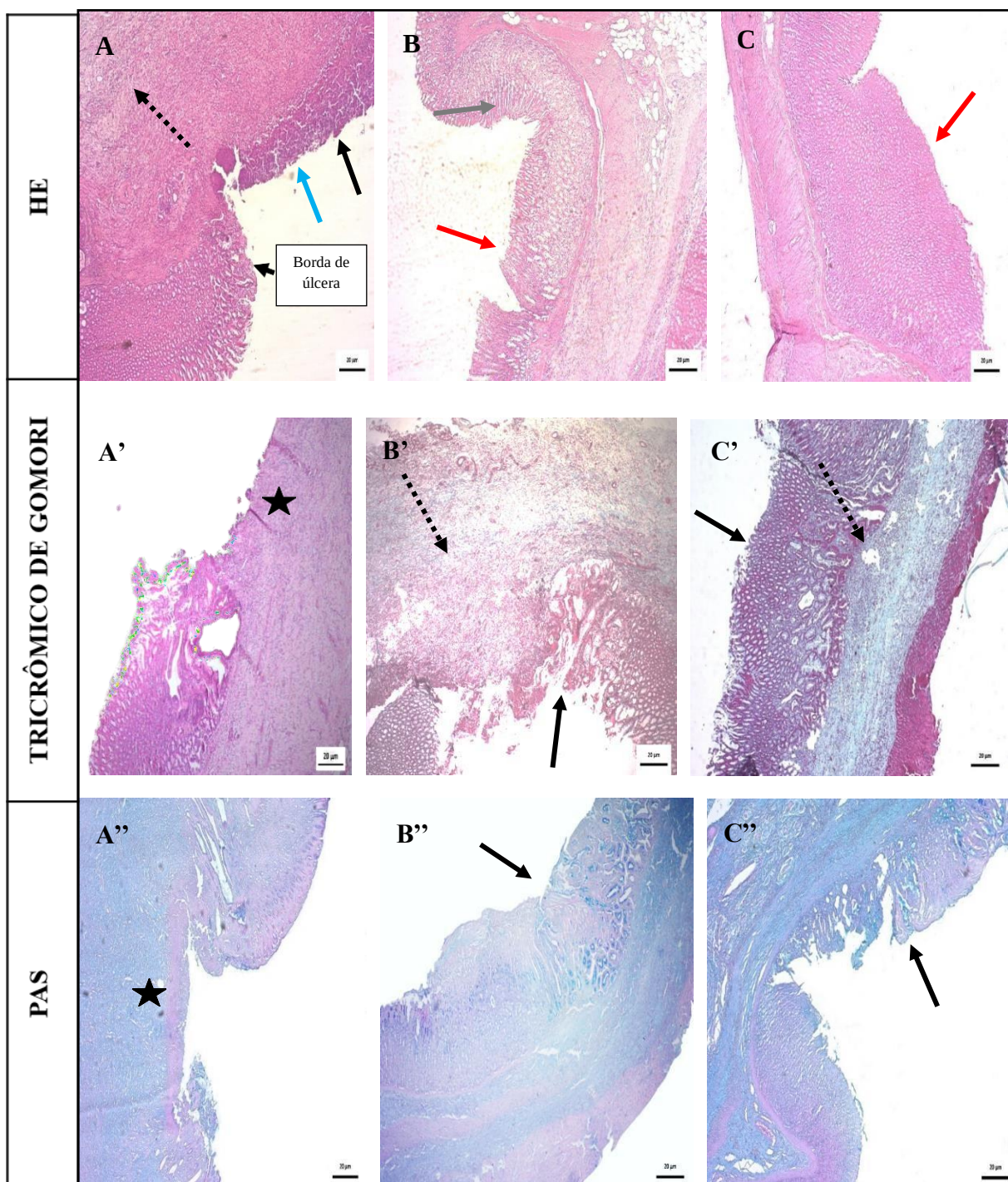
Figura 16. Estômagos de ratos pré-tratados por via com RLAE sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos. Controle (A), RLAE por via oral (100 mg/kg) (B), RLAE por via intraperitoneal (100 mg/kg) (C) (Modelo de barreira física).



Fonte: Autor

A coloração de PAS mostrou aumento da produção de muco, observado através das áreas coradas em tom cor de rosa na camada epitelial da mucosa (Figura D-E-F). Isso demonstra o envolvimento das células na liberação do muco, que protege a mucosa gástrica. Tanto na coloração de PAS como na de Tricrômico de Gomori, as setas indicadas nas figuras E e F / H e I são indicativos de reepitelização e um leve filtrado linfocitário (seta tracejada), enquanto que no controle a área da mucosa não se encontra preservada, significando que o tecido está ulcerado, o mesmo acontece com a coloração.

Figura 17. Histopatologia da mucosa gástrica de ratos em HE (hematoxilina-eosina), Tricrômico de Gomori e PAS (Ácido Periódico de Schiff).



Fonte: Autor

NaCl a 0,9% (controle, A, D e G), lansoprazol (30 mg/kg, B, E e H), *Ruprechtia laxiflora* (100 mg/kg, C, F e I) em úlcera gástrica induzida por ácido acético a 20%.

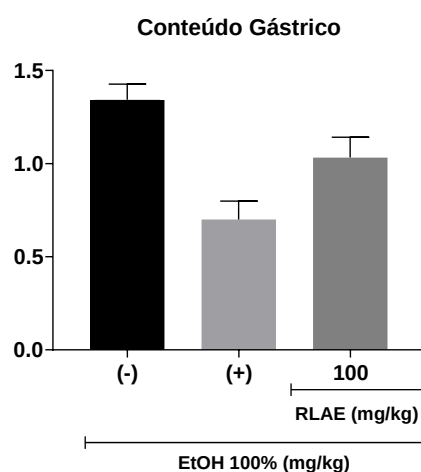
Nota: HE - A seta preta tracejada – edema; seta azul - área ulcerada; seta preta - área de necrose; seta cinza – glândulas gástricas bem preservadas; seta vermelha – epitélio da mucosa bem preservado. Tricrômico de Gomori e PAS – seta preta tracejada – filtrado linfocitário leve; seta preta – processo de reepitelização; estrela – área ulcerada.

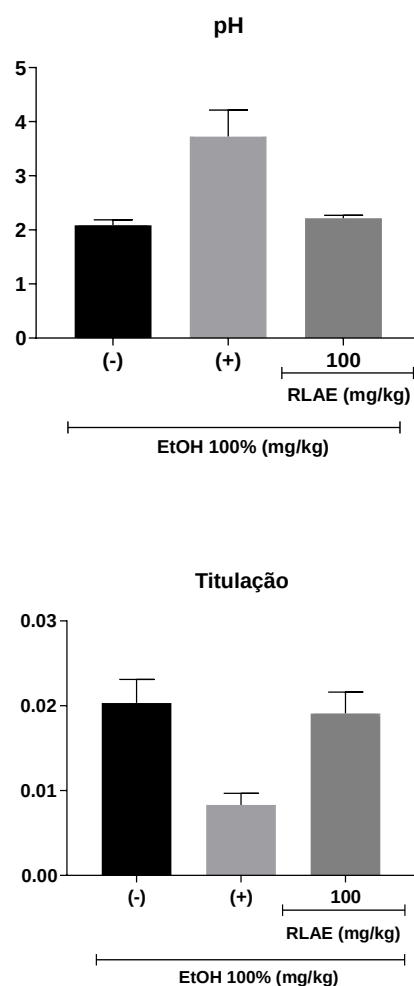
O modelo de indução de úlcera por ácido acético, apresenta um aspecto patológico bastante semelhante do que acontece com os seres humanos, assim como seu mecanismo de cicatrização e ciclos de ocorrências (Sakar, 2015). O ácido acético quando aplicado na camada serosa produz uma lesão tecidual, provocando mudanças nos níveis de das prostaglandinas, NO, fatores de crescimento (Kobayashi et al, 2001). A cicatrização da úlcera é um processo complexo, que envolve migração e proliferação celular, seguida da replicação de células epiteliais e reconstrução da glândula junto à porção marginal da úlcera afim de restabelecer o epitélio com uma nova vascularização (TARNAWSKI, 2005; Neto et al, 2016).

5.6 Ligadura de piloro

Neste modelo de ligadura de piloro a administração do RLAE (100 mg/kg), não apresentou diferença estatística em nenhum dos parâmetros com relação ao controle, ou seja, o extrato não foi capaz de estimular o aumento do pH e nem diminuiu o conteúdo gástrico e a acidez total. Os resultados obtidos sugerem que o RLAE não participa da atividade gastroprotetora devido a ação inibitória da secreção gástrica (Figura 18).

Figura 18. Efeito da administração intraduodenal de RLAE e ranitidina sobre os parâmetros bioquímicos do suco gástrico após a ligadura do piloro em ratos.





Fonte: Autor.

O modelo de ligadura de piloro tem por objetivo avaliar os parâmetros bioquímicos do suco gástrico, e assim poder avaliar sua atividade antissecretória e uma possibilidade de alguns tipos de medicamentos terem efeitos locais ou sistêmicos (Toma et al, 2004). A liberação da gastrina pelas células G, ativa a produção de ácido pelas células parietais, que consequentemente estimula a secreção gástrica (Junqueira e Carneiro, 2018), isso acontece porque após a ligadura, o estômago ficará dilatado devido a uma pressão que ocorrerá sobre os receptores sensíveis da mucosa do antro pilórico, que ativa nervo vago (Jain et al, 2007).

Estudos realizados com a infusão de *Curatella americana* é comumente usada na medicina popular para tratar de dores gástricas, porém é uma planta que é rica em flavonoides glicosídeos, como a quercetina, mas não tem atividade gastroprotetora para mecanismos antissecretórios (El-Azizi et al., 1980; Hiruma-Lima et al., 2009)).

6 CONCLUSÃO

- Os flavonoides, taninos hidrolisáveis e proantocianidinas foram os metabólitos majoritários encontrados no decocto das cascas de *R. laxilfora* pelo método de cromatografia em camada delgada. O grupo dos flavonoides apresentou maior variação de compostos identificados pelo UPLC. Atribuindo-se a este grupo atividades positivas conforme foi verificado no decorrer do estudo.
- O RLAE demonstrou atividade antioxidante in vitro pelos métodos testados;
- O RLAE não demonstrou nenhum sinal de toxicidade na dose limite de 2000 mg/kg.
- O RLAE atuou na gastroproteção dos modelos de úlcera induzida por etanol absoluto e etanol/HCL, enquanto que no modelo de ligadura de piloro não houve estimulação na produção de secreção gástrica.
- O RLAE mostrou ser biodisponível pelas vias oral e intraperitoneal, podendo atuar em nível sistêmico ou local.
- O RLAE é um cicatrizante gástrico, pois foi capaz de regenerar a mucosa gástrica (histologia)

REFERÊNCIAS

Abreu MB, Temraz A, Malafronte N, Gonzalez-Mujica F, Duque S, Braca A. Phenolic Derivatives from *Ruprechtia polystachya* and Their Inhibitory Activities on the Glucose-6-phosphatase System. **Chemistry & Biodiversity** – Vol. 8. 2011.

Alanko J, Riutta A, Holm P, Mucha I, Vapata H and Metsa-Ketela T (1999). Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: Relation to their structure and antioxidant/pro-oxidant properties. **Free Radical Biology. Med**;26:193-201.

Ana Bertucci,¹ Federico Haretche,² Cristina Olivaro,¹ Alvaro Vázquez. Prospección química del bosque de galería del río Uruguay. **Revista Brasileira de Farmacognosia. Braz J. Pharmacogn.** 18(1): Jan./Mar. 2008.

Angel Lanas, Francis K L Chan. Peptic ulcer disease. Published Online February 24, 2017

Angelo PM, Jorge N (2007). Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz.** 66(1): 1-9.

Badke, M.R.; Somavilla, C.A.; Heisler, E.V.; Andrade, A.; Budó, M.L.D.; Garlet, T.M.B. SABER POPULAR: USO DE PLANTAS MEDICINAIS COMO FORMA TERAPÊUTICA NO CUIDADO À SAÚDE. **Revista de Enfermagem da UFSM.** 2016 Abr./Jun.;6(2): 225-234.

BARBOSA, F.G. et al. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Lippia alba*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, p.819-821, 2006.

Barros, L.; Dueñas, M.; Dias, M.I.; Sousa, M.J.; Santos-Buelga, C.; Ferreira, I.C.F.R. Phenolic profiles of cultivated, in vitro cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. **Food Chemistry** 136 (2013) 1–8.

BECK, P.P.; DIJOUX, M.G.; CARTIER, G.; MARIOTTE, A.M. QUERCITRIN T-SULPHATE FROM LEAVES OF *LEEA GUINENSIS*. **Phytochemistry**, Vol. 47, No. 6, pp. 1171-1173, 1998.

Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. Volume 239, Issue 1, 15 July 1996, Pages 70-76.

Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature.** 181:1199-1200, 1958.

Borrelli F, Izzo AA (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**.14:581-91.

BRANDBYGE, J., 1990. Woody Polygonaceae from Brazil: new species and a new interpretation. **Nordic Journal of Botany** 10(2): 155-160.

Brasseur & Angenot. Un reactif de choix pour la revelation des flavonoïdes: le melange diphenylborate d'aminoethanol -peg 400. **Journal of Chromatography**. 351,351-355. (1986).

C. Carretero. Úlcera péptica. **Medicine**. 2016;12(3):111-7.

Calderón-Montaña JM, Burgos-Morón E, Pérez-Guerrero C, López-Lázar MA (). Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. 11, 298-344. 2011.

Carvalho MMCM (2013). **Úlcera péptica: Etiopatogenia, diagnóstico, aspectos clínicos e tratamento**. Tese de Mestrado.

Chosson, E.; Chaboud, A.; Chulia, A.J.; Raynaud, J. DIHYDROFLAVONOL GLYCOSIDES FROM RHODODENDRON FERRUGINEUM. **Phytochemistry**. Vo. 38. No 4. pp 1431-1433.1998.

COCUCCI, A. E., 1957. El genero *Ruprechtia* (Polygonaceae) em Argentina, Paraguay y Uruguay: 559-618. Universidad Nacional (Trabajos del Museo Botánico, n. 6), Córdoba

Compounds from Medicinal Plants (Hops and Juniper Berries) and Their Antioxidant Activity. **Foods** 2020, 9, 7.

Critchfield JW, Butera ST, Folks TM (1996). Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoid compounds. **AIDS Research and Human Retroviruses**. 12, 39-46.

Dayane Resende MATA; Yuri CORDEIRO; Frederico Pinheiro de LIMA; Talita Lopes do Nascimento da SILVA; Tiago Lopes CESCHINI; Charlene Correa MENDES; Carolina Oliveira BERNARDES; Luiz Carlos de ANDRADE; Roberta Bessa Veloso SILVA; Eric Batista FERREIRA. HELICOBACTER PYLORI E A GASTRITE: um estudo retrospectivo. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 14, n. 2, p. 696-706, ago./dez. 2016.

DDINE, L. C. et al. Factors associated with chronic gastritis in patients with presence and absence of *Helicobacter pylori*. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**. [online], vol.25, n.2, pp. 96-100. ISSN 0102-6720, 2012.

De Barros, M., Mota da Silva, L., Boeing, T., Somensi, LB, Cury, BJ, de Moura Burci, L., Cechinel-Filho. De Barros, M., Mota da Silva, L., Boeing, T., Somensi, LB, Cury, BJ, de Moura Burci, L., ... Cechinel-Filho, V. (2016). Relatórios farmacológicos sobre os efeitos gastroprotetores do extrato metanólico das folhas de *Solidago chilensis* (arnica brasileira) e seus componentes quercitrina e afzelina em roedores. *Arquivos de Farmacologia de Naunyn-Schmiedeberg*, 389(4), 403-417. **Arquivos de Farmacologia de Naunyn-Schmiedeberg**, 389(4), 403-417. 2016.

Di Carlo G, Autore G, Izzo AA, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, et al (1993). Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: Structure-activityrelationships. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. 45:1054-9.

Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**. 64:337-53.

El-Azizi, M. M., Ateya, A. M., Svoboda, G. H., Schiff, P. L., Slatkin, D. J., & Knapp, J. E. 1980. Chemical constituents of *Curatella americana* (Dilleniaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol. 69, No. 3, March 1980

Efigenia de Melo^{1,2}. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Polygonaceae. **Rodriguésia** 69(1): 189-195. 2018.

Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> . Acesso em: 21 Ago. 2019.

Farias, F. M., Almeida, A. C. A., Luiz-Ferreira, A., Dunder, R. J., Takayama, C., da Silva, M. S., ... & Souza-Brito, A. R. M. (2012). Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle* L. **Journal of ethnopharmacology**, 139(1), 234-243.

FAUCI, A. S., et al. HARRISON – **Medicina Interna**. Vol.2, 17ª edição. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana Brasil, 2008.

Ferreira, M.R.N.; Nobreza, N.D.; Sousa, J.A. Estudo comparativo dos inibidores da bomba de prótons no tratamento de úlceras gástricas induzidas por etanol em *Mus musculus*. **Revista. Interdisciplinar**. v. 9, n. 4, p. 12-19, out. nov. dez. 2016.

Fisiologia / Linda S. Costanzo ; [tradução Denise Costa Rodrigues]. - 5. ed. - Rio de Janeiro : **Elsevier**, 2014.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível Francisco Romário Silva Tabosa¹, Élide Machado Almeida¹, Efigênia Melo² & Maria Iracema Bezerra Loiola. Flora do Ceará, Brasil: Polygonaceae. **Rodriguésia** 67(4): 981-996. 2016.

FREITAS, A.P.B.; SANTOS, E.C.C.; MANYARI, G.V.; MENEZES, M.P.; MUSTAFA, V.S. ÚLCERA GÁSTRICA POR USO DE DICLOFENACO DE POTÁSSIO EM UM CÃO: relato de caso. **REJET - Revista Científica do Curso de Medicina Veterinária** – FACIPLAC ISSN: 2448-4571 Brasília - DF, v.3, n. 1, Set 2016.

Galati EM, Monforte MT, Tripodo MM, Aquino A, Mondello MR (2001). Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* L. (Cactaceae): Ultrastructural study. **Journal of Ethnopharmacology**, 76:1-9 **Gastroenterology**. 31(6): 479-485, 2015.

GOIS, M.A.F.1; LUCAS, F.C.A.1*; COSTA, J.C.M.1; MOURA, P.H.B. DE1; LOBATO, G. DE J.M.1. Etnobotânica de espécies vegetais medicinais no tratamento de transtornos do sistema gastrointestinal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, p.547-557, 2016.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Funções secretoras do trato alimentar. In: Tratado Harborne JB, Phytochemical Methods**. 3^a Ed. Londres: Chapman & Hall, 1998.

HERRERA, D. M.; ABDALA, S.; BENJUMEA, D.; LUIS, J. G: Diuretic activity of some *Withania aristata* Ait fractions. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 117, p. 496-499, 2008.

Hersey SJ. Sachs G. Gastric acid secretion. **Physiological Reviews**. 1995 ; 75(1):155-88.

Hiruma-Lima C.A., Rodrigues C.M., Kushima, H., Moraes, T.M., Lolis, S. de F., Feitosa, S. B., Magri, L.P., Soares, F.R., Cola, M.M., Andrade, F.D., Vilegas, W., Souza Brito, A.R. 2009. The anti-ulcerogenic effects of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, 121(3), 425-32.

Hiruma-Lima, C.A.; Gracioso, J.S.; Rodriguez, J.A.; Haun, M.; Nunes, D.S. & Souza-Brito, A.R.M. 2000. Gastroprotective Effect of Essential Oil from *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae) **Journal of Ethnopharmacology** 69(3): 229-234.

Huang DJ, Ou BX, Prior RL (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. ;53:1841-1856.

ISHIMARU, K.; OMOTO, T.; ASAI, I.; EZAKI, K.; SHIMOMURA, K. TAXIFOLIN 3-ARABINOSIDE FROM *FRAGARIA X ANANASSA*. **Phytochemistry**, Vol. 40, No. 1, pp. 345 347, 1995.

Jain, K.S.;;* Shah, A.K.; Bariwal, J.; Shelke, S.M.; Kale, A.P.; Jagtap, J.R.; Bhosale, A.V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 15 (2007) 1181–1205.

- Jaiswal R, Jayasinghe L, Kuhnerta N. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the *Rhododendron* genus (Ericaceae) by tandem LC–MS. J. Mass. **Spectrom.**, 47, 502–515. 2012.
- Jan AT, Kamli MR, Murtaza I, Singh JB, Ali A, H QMR (2010). Dietary Flavonoid Quercetin and Associated Health Benefits An Overview. **Food Reviews International**; 26: 302-317.
- Jesus NZT, Falcão HS, Gomes IF, Leite TJA, Lima GRM, Barbosa-Filho JM, Tavares JF, Silva MS, Athayde-Filho PF, Batista LM (2012). Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms. **International Journal Molecular Science.**, 13, 3203-3228.
- Kamal AM, Abdelhady MIS, Elmorsy EM, Mady MS, Abdelkhalik SM (2012). Phytochemical and Biological Investigation of Leaf Extracts of *Podocarpus gracilior* and *Ruprechtia polystachya* Resulted in Isolation of Novel Polyphenolic Compound. **Life Science Journal.** 9(4).
- Khaleel EF, Mostafa DG, Abdel-Aleem GA (2015). Gastroprotective effect of flavonoid quercetin and coenzyme Q10 in indomethacin-induced gastric ulcers in normal and diabetic rats. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS).** Volume 14, Issue 12 Ver. IV PP 58-71.
- KIM, S.F. The nitric oxide-mediated regulation of prostaglandin signaling in medicine. **Vitam Horm**, v. 96, p.211-245, 2014.
- Kleinenkuhnen, N.; Büchel, F.; Gerlich, S.C.; Kopriva, S.; Metzger, S. A novel method for identification and quantification of sulfated flavonoids in plants by neutral loss scan mass spectrometry. **Frontiers in Plant Science.** July 2019. Vol.10.
- La Casa C, Villegas I, Alarcon De La Lastra C, Motilva V, Martin Calero MJ (2000). Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric Lesions. **Journal of Ethnopharmacology.**71:45-53.
- Lee JW, Kim NH, Kim JY, Park JH, Shin SY, Kwon YS, Lee HJ, Sung-Soo K, and Chun W. Aromadendrin Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Nuclear Translocation of NF-κB and Phosphorylation of JNK in RAW 264.7 Macrophage Cells. **Biomolecules & Therapeutics** (Seoul). May 30; 21(3): 216–221. 2013.
- Li, H.-B., Wong, C.-C., Cheng, K.-W., & Chen, F. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT - Food Science and Technology.** vol 41. ed 3. p 385-390. 2008.
- Lima JT, Almeida JR, Barbosa-Filho JM, Assis TS, Silva MS, Dacunha EV, et al. (2005) Spasmolytic action of diplotropin, a furanoflavan from *Diplotropis ferruginea*

Benth., involves calcium blockade in ginea-pig ileum. **Zeitschrift für Naturforschung**. B;60:1-8.

LIN, J.; PUCKREE, T.; MVELASE, T.P. Antidiarrheal evaluation of some medicinal plants used by Zulu tradicional healers. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p. 53-56, 2002.

Lorenzi, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil** / Marri Lorenzi. -- 2. ed. -- Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1998.

Maalik A, Khan FA, Mumtaz A, Mehmood A, Saira A, Muhammad A, Karim S, Altaf Y, Tariq I (2014). Pharmacological Applications of Quercetin and its Derivatives: A Short Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research** September; 13 (9): 1561-1566.

MAGIEROWSKI, M.; MAGIEROWSKA, K.; KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T. Gaseous Mediators nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. **Molecules**, v.20, 9099-9123, 2015.

Marily Jullis Perera^{1,2} & Marccus Alves¹. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Polygonaceae. **Rodriguésia** 69(2): 465-476. 2018.

Martín MJ, La-Casa C, Alarcón-de-la-Lastra C, Cabeza J, Villegas I, Motilva V (1998). Antioxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. **Zeitschrift für Naturforschung C** . 53:82-8.

Melo E & França F. A família Polygonaceae no semiárido brasileiro. In: Giulietti AM, Conceição AA & Queiroz LP (eds.) Diversidade e caracterização das fanerógamas do semiárido brasileiro. **Associação Plantas do Nordeste**, Recife. Pp. 437-488. 2006.

Melo E. As espécies de *Coccoloba* P. Browne (Polygonaceae) da Amazônia brasileira. **Acta Amazonica** 34: 525-551. 2004.

MELO, E. Estudo taxonômico de *Ruprechtia* C.A. Mey. (Polygonaceae) no Brasil. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Ciências Naturais**. Belém.10(3): 471-490. 2016.

Melo, E. Polygonaceae da Cadeia do Espinhaço, Brasil. **Acta Botânica Brasilica** 14(3):273-300. 2000.

Ministério da Saúde. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006. 96p.

Ministério da Saúde. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2012.

Mizui T, Doteuchi M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Japan Journal of Pharmacology**, v.33, p.939-945.1983.

MOLEIRO, F. C.; ANDREO, M. A.; SANTOS, R. C. S. *Mouriri Elliptica*: validation of gastroprotective, healing and anti-*helicobacter pylori* effects. **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, p.359–368, 2009.

Moore, Keith L., Persaud, T. V. N., Torchia, Mark G. **Embriologia Básica**. Guanabara Saúde Didático. 9ª Ed. 2016.

Moretti E, Mazzi L, Terzuoli G, Bonechi C, Iaconi F, Martini S, Rossi C, Collodel G (2012). Effect of quercetin, rutin, naringenin and epicatechin on lipid peroxidation induced in human sperm. **Reproductive Toxicology**; 34: 651-657.

Morimoto Y, Shimohara K, Oshima S, Sukamoto T. Effects of the new antiulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **Japan Journal of Pharmacology**, v.57, p. 495-505. 1991.

MOUSA, A. M., EL-SAMMAD, N. M., HASSAN, S. K., ABD EL NASSER, A. M., HASHIM, A. N., MOUSTAFA, E. S., ... & ELSAYED, E. A. (2019). Antiulcerogenic effect of *Cuphea ignea* extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 19(1), 1-13.

Neto, L.J.L.; Ramos, A.G.B.; Sales, V.S.; Souza, S.D.G.; Santos, A.T.L.; Oliveira, L.R.; Kerntopf, M.R.; Albuquerque, T.R.; Coutinho, H.D.M.; Quintans-Júnior, L.J.; Wanderley, A.G.; Menezes, I.R.A. Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions** (2016)

Noleto-Dias, C.; Harflett, C.; Beale, M.H.; Ward, J.L. Sulfated flavanones and dihydroflavonols from willow. **Phytochemistry Letters** 35 (2020) 88–93.

OECD, 2001. OECD Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP), No.423. Adopted 3 October 2001. **Organisation for Economic Cooperation and Development**, Paris, France. 2001.

Okabe S, Pfeiffer CJ. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. **American Journal of Digestive Diseases**. v. 17, p. 619–629. 1972.

Olajide, O. ., Awe, S. ., & Makinde, J. . (1999). Estudos farmacológicos da folha de *Psidium guajava*. **Fitoterapia**, 70(1), 25-31.

Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra; 2002.

Pękal A, Pyrzynska K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. **Food Analytical Methods**. 7:1776–1782. 2014.

Pereira RJ, Cardoso MG (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity* Vol. 3, N. 4: pp. 146-152, November. **Pharmaceutical Sciences**, 69(3), 360-361.

Pietro P, Pined M, Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantification of antioxidante capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**. 269(2): 337–341.

Pinto AZL, Assis AFS, Pereira AG, Pasa MC (2013). Levantamento etnobotânico de plantas medicinais comercializadas no mercado do porto em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **FLOVET**, n. 5. p. 51-70.

Polygonaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB196>>. **Acesso em: 13 Jan. 2020**.

Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**. 50(3):586-621.

Rao, V.S.N.; Santos, F.A.; Sobreira, T.T.; Souza, M.F.; Melo, C.L. & Silveira, E.R. 1997. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Medica** 63: 146-149.

Raquel Carvalho¹, Bruna Zancanelli Fetter¹, Efi gênia de Melo² & Maria Ana Farinaccio³. Check-list de Plumbaginaceae e Polygonaceae do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, 73(supl.):308-312, 15 de março de 2018.

Roberts EAH, Cartwright RA, Oldschool M. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 8: 72-80. 1957.

Rossa UB (2013). **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização**. 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Sanchez, A.; Schuster, T.M.; Burke, J.M. & Kron, K.A.. Taxonomy of Polygonoideae (Polygonaceae): a new tribal classification. **Taxon** 60: 151-160.2011.

Sarkar, A.; Sengupta, A.; Mukhrjee, A.; Guru, A.; Patil, A.; Kandhare A. D.; Bodhankar, S. L. Antiulcer Potential of Morin in Acetic acid-Induced Gastric Ulcer via Modulation of Endogenous Biomarkers in Laboratory Animals. **Pharmacologia**, v. 6, n. 7, p. 273-281, 2015.

SCHUBERT, M. L. Functional anatomy and physiology of gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**: November 2015 - Volume 31 - Issue 6 - p 479-485

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**:, v. 16, n. 6, pp. 463-468, 2011.

Serrano J, Puupponen-Pimi R, Dauer A, Aura A-M, Saura-Calixto F (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects **Molecular Nutrition & Food Research**.;53 Suppl 2:S310-29.

Shahidi, F e Naczki, M (2004). **Phenolics in food and nutraceuticals**. (pp 1-558). Boca Raton, FL: CRC PRESS.

Silva, RAS. Ulcera gastroduodenal (Peptic ulcer disease). **Revista Médica Sinergia**. Vol.1. Num.7. pp. 10-13. 2016.

Souza, V.C. & Lorenzi, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das plantas nativas e exóticas do Brasil**, baseado em APG III. 3a ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 768p. 2012.

SPJUT, R. W., 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden** 70: 1-182.

Sun, B.; Silva, J.M.R.; Spranger, I. Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46, 4267–4274. 1998.

Taha AS, McCloskey C, Craigen A, et al. Occult vs. overt upper gastrointestinal bleeding–inverse relationship and the use of mucosal damaging and protective drugs. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. 2015; 42: 375–82.

Taha AS. Editorial: lower gastrointestinal bleeding and low-dose aspirin. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. 2017; 46: 199.

TAKEUCHI, K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E₂ and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. **Journal of Physiology and Pharmacology**., v. 65, p. 3-14, 2014.

Tang, J.; Dunshea, F.R.; Suleria, H.A.R. LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Phenolic

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

Teles, Y.C.F.; Souza, M.S.R.; Souza, M.F.V. Sulphated Flavonoids: Biosynthesis, Structures, and Biological Activities. **Molecules** 2018, 23, 480.

TOMA W, TRIGO J.R, BENSUASKI DE PAULA A.C, MONTEIRO S.B. R. Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**., v.82: p.319-325, 2004.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 12ª edição. Rio de Janeiro, 2010.

Urrea-Victoria, V; Pires, J; Torres, PB; Santos, DYAC; Chow, F. Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo São Paulo, SP, Brasil. 2016.

Vasconcelos PCP, Kushima H, Andreo M, Hiruma-Lima CA, Vilegas W, Takahira RK, Pellizon CH (2008). Studies of gastric mucosa regeneration and safety promoted by *Mouriri pusa* treatment in acetic acid ulcer model. **Journal of Ethnopharmacology**. 115, 293–301.

Vidal CS, Martins AOBB, Silva AA, Oliveira MRC, Ribeiro-Filho J, Albuquerque TR, Coutinho HD, Almeida JRGS. Quintans Junior, L.J.; Menezes, I.R.A. Gastroprotective effect and mechanism of action of *Croton rhamnifolioides* essential oil in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 89 47–55.2017.

Visscher FE, Seay PH, Tazelassr-Júnior AP, Vedkamp W, Vander Brook MJ. Pharmacology of pamine bromine. **The Journal of Pharmacology and Experimental herapeutics**. 110, 188-204. 1954.

Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis -A thin layer chromatography atlas. **Springer**. 2.ed. Munich. (1996).

Williamson G, Manach C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 81(Suppl):243S-55.

YANDRAPU, H.; SAROSIEK, J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal Mucosa: Na Overview. **Current Gastroenterology Reports**, v. 17, p. 24, 2015.

Yuan Y, Padol IT, Hunt RH.. Peptic ulcer disease today. **Nature clinical practice, Gastroenterology & Hepatology**. February, vol. 3. no 2. Pp. 80-89. 2006.

ZENGİN, G.; UYSAL, A.; GÜNEŞ, E.; AKTUMSEK, A. Survey of Phytochemical Composition and Biological Effects of Three Extracts from a Wild Plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): A Potential Source for Functional Food Ingredients and Drug Formulations. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1-13, 2014.