



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

JUCIELMA SILVA DE LIMA

ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
***Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae)**

RECIFE

2021

JUCIELMA SILVA DE LIMA

**ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
Eugenia pohliana DC. (Myrtaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima
Coorientador: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Lima, Jucielma Silva de

Atividade gastroprotetora do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae)/ Jucielma Silva de Lima– 2021.

75 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Vera Lúcia de Menezes Lima
Coorientador: Rafael Matos Ximenes

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

1. Essencias e óleos essenciais- uso terapêutico 2. Úlceras 3. Cicatrização I. Lima, Vera Lúcia de Menezes (orient.) II. Ximenes, Rafael Matos (coorient.) III. Título

665.3

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -185

JUCIELMA SILVA DE LIMA

ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE

***Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia.

Aprovada em: 28/01/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Vera Lúcia de Menezes Lima (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^ª. Dra. Márcia Vanusa da Silva (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof^ª. Dra. Cynthia Layse Ferreira de Almeida (Examinadora externa)
Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF

Prof^ª. Dra. Iasmine Andreza Basilio dos Santos Alves (Examinadora externa)
Centro Acadêmico do Agreste da Universidade Federal de Pernambuco – CAA / UFPE

*A minha querida mãe Maria Solange da Silva,
o grande amor da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, pela coragem, perseverança e oportunidade de chegar até aqui.

A minha querida Mãe e Padrasto por todo amor, dedicação e cuidado, e aos meus queridos irmãos *Jucialisson Lima* e *Deyvisson Lima*, que mesmo distante sempre se fez presente com palavras de carinho e amor nos momentos em que mais precisei.

A minha cunhada *Daniele*, e em especial meu pequeno sobrinho *Samuel*, por me proporcionar tantas alegrias.

Aos meus queridos avós, *Josefa Francisca* e *Severino Martins*, por todo amor e dedicação.

A todos os meus familiares, pelo carinho, dedicação e cuidado.

Em especial a *Alexandre Gomes da Silva (in memorian)*, pelo carinho e incentivo. Hoje faz parte do céu.

A Profa. Dra. *Márcia Vanusa da Silva*, pela oportunidade, carinho, respeito, incentivo, dedicação e amizade.

Ao Prof. Dr. *Rafael Matos Ximenes*, pela coorientação, oportunidade, disponibilidade, atenção e respeito, e principalmente pela enorme contribuição para a realização deste trabalho. Nada disso seria possível sem sua colaboração.

A Profa. Dra. *Vera Lúcia de Menezes Lima*, pela oportunidade, disponibilidade e respeito.

Ao Prof. Dr. *Jacinto da Costa Silva-Neto*, pela dedicação, parceria e contribuições para realização deste trabalho.

A técnica do departamento de patologia *Silvania Tavares Paz*, pela parceria, carinho, dedicação, amizade e companheirismo.

Aos meus queridos amigos *José Wellinton da Silva* e *Maria de Fátima Rodrigues*, vocês são mais que especiais. Minha gratidão por todo cuidado e companheirismo, sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus amigos do Laboratório de Etnofarmacologia Aplicada – LEA, *Camila*, *Caio*, *Raudiney*, *Pérola*, *Erima*, *João Carlos*, *Talita* e *Alisson*, pelo companheirismo e ajuda na realização dos experimentos.

A todos do laboratório de Produtos Naturais, em especial a *João Victor* e *Bartira Rocha*, pela amizade e companheirismo.

Aos meus amigos, *Paloma*, *Deyzi*, *Luana*, *Luzia*, *Rayanne* e *Thiago Felix*, pelo apoio, companheirismo, dedicação e amizade.

A CAPES - (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro.

Muito obrigada a todos!

“Ter fé é acreditar naquilo que você não vê; a recompensa por essa fé é ver aquilo em que você acredita.”

(AURÉLIO AGOSTINHO DE HIPONA)

RESUMO

Eugenia pohliana DC. (Myrtaceae), é uma espécie nativa do Brasil, conhecida como maça do mato. O gênero *Eugenia* é reconhecido por suas moléculas bioativas, evidenciando benefícios terapêuticos comprovados, incluindo propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas. O estudo buscou avaliar a ação gastroprotetora do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* (OEEP) em modelos agudos e crônicos de úlcera gástrica, sua atividade anti-*Helicobacter pylori* e a toxicidade aguda. A atividade gastroprotetora foi estudada em modelos ulcerogênicos induzidos por etanol, etanol/HCl, anti-inflamatório não esteroide e ácido acético. As vias de administração oral e intraperitoneal também foram avaliadas, utilizando o modelo de barreira física. Verificou-se também a secreção de ácido gástrico, quantificação da concentração de muco e o efeito anti-*Helicobacter pylori*. O estudo investigou o impacto do estresse oxidativo no efeito gastroprotetor (MDA, GSH e MPO), assim como os mecanismos de ação possíveis do óleo essencial. Isso incluiu a análise da contribuição dos grupamentos sulfidrílicos (-SH) e do óxido nítrico (NO). Na análise química, foram identificados 62 componentes no óleo essencial, incluindo monoterpenos e sesquiterpenos. Destacam-se β -cariofileno, γ -elemeno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno, spathulenol, globulol, viridiflorol, ledol, muurolol, copaenio e α -cadinol. Na avaliação da toxicidade aguda do OEEP (2000 mg/kg), não ocorreu morte nem sinais comportamentais anormais em 14 dias de observação. O OEEP apresentou atividade gastroprotetora em todos os modelos estudados. Nos métodos experimentais, os resultados foram expressos em percentual de redução da área ulcerada. O primeiro método farmacológico a ser avaliado foi o modelo de etanol absoluto nas doses de 1, 3, 10 e 30 mg/kg e foi capaz de reduzir o índice de lesão ulcerativa pelo etanol em 31; 46; 67; 74% quando comparados ao grupo controle. Dada a ausência de diferença estatística entre 10 e 30 mg/kg, a dose de 10 mg/kg foi selecionada para seguir nos modelos experimentais. Na úlcera induzida por etanol/HCl, foi observado que o OEEP (10 mg/kg) reduziu a lesão 48,2 % em comparação ao grupo controle. Na úlcera induzida por piroxicam, o OEEP (10 mg/kg) reduziu a área ulcerada em 96,3% em relação ao grupo controle. Na indução por ácido acético, o OEEP (10 mg/kg) reduziu o dano gástrico em 70%, quando comparado ao grupo controle. No teste de barreira física com o OEEP, não houve diferença estatística entre as vias de administração oral e intraperitoneal. Na secreção gástrica, verificou-se que a ação inibitória da secreção de ácido gástrico tem envolvimento na atividade gastroprotetora do OEEP. Nos mecanismos de ação avaliados, o OEEP mostrou-se dependente do óxido nítrico (NO) e independente de -SH. Foi possível identificar que o efeito

do OEEP não atuou na secreção de muco gástrico. No método anti-*Helicobacter pylori* o OEEP apresentou CMI de 0,001% e CMB de 0,01% e inibiu cerca 45% da urease em todas as concentrações. Portanto, o óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* é eficaz contra lesões gástricas induzidas por agentes nocivos, possui ação antibacteriana e cicatrizante, apoiando a hipótese da eficácia do uso popular desta espécie.

Palavras-Chave: maçã do mato; úlcera gástrica; gastroproteção; cicatrização.

ABSTRACT

Eugenia pohliana DC. (Myrtaceae) is a native species of Brazil, known as wild apple. The genus *Eugenia* is recognized for its bioactive contributions, evidencing confirmed therapeutic benefits, including anti-inflammatory, antioxidant and anticancer properties. The study sought to evaluate the gastroprotective action of essential oil from the leaves of *Eugenia pohliana* (OEEP) in acute and chronic models of gastric ulcer, its anti-*Helicobacter pylori* activity and acute toxicity. The gastroprotective activity was studied in ulcerogenic models induced by ethanol, ethanol/HCl, non-steroidal anti-inflammatory drugs and acetic acid. Oral and intraperitoneal routes of administration were also evaluated using the physical barrier model. Gastric acid secretion, quantification of mucus concentration and anti-*Helicobacter pylori* effect were also verified. The study investigated the impact of oxidative stress on the gastroprotective effect (MDA, GSH and MPO), as well as the possible mechanisms of action of the essential oil. This included an analysis of the contribution of sulfhydryl groups (-SH) and nitric oxide (NO). In the Chemical analysis, 62 componentes were identified in the essential oil, including monoterpenes and sesquiterpenes. β -caryophyllene, γ -elemene, α -muurolene, γ -cadinene, δ -cadinene, spathulenol, globulol, viridiflorol, ledol, muurolol, copaenium and α -cadinol stand out. In assessing the acute toxicity of OEEP (2000 mg/kg), no death or abnormal behavioral signs occurred within 14 days of observation. OEEP showed gastroprotective activity in all studied models. In the experimental methods, the results were expressed in percentage of reduction of the ulcerated area. The first pharmacological method to be evaluated was the absolute ethanol model at doses of 1, 3, 10 and 30 mg/kg and was able to reduce the rate of ulcerative lesions by ethanol by 31; 46; 67; 74% when compared to the control group. Given the lack of statistical difference between 10 and 30 mg/kg, the 10 mg/kg dose was selected to be used in experimental models. In the ulcer induced by ethanol/HCl, it was observed that OEEP (10 mg/kg) reduced the lesion by 48.2% compared to the control group. In piroxicam-induced ulcer, OEEP (10 mg/kg) reduced the ulcerated area by 96.3% compared to the control group. In acetic acid induction, OEEP (10 mg/kg) reduced gastric damage by 70% when compared to the control group. In the physical barrier test with OEEP, there was no statistical difference between the oral and intraperitoneal routes of administration. In gastric secretion, it was found that the inhibitory action of gastric acid secretion is involved in the gastroprotective activity of OEEP. In the evaluated mechanisms of action, OEEP was dependent on nitric oxide (NO) and independent of -SH. It was possible to identify that the effect of OEEP did not act on gastric mucus secretion. In the anti-

Helicobacter pylori method, OEEP showed a MIC of 0.001% and a MIC of 0.01% and inhibited about 45% of urease in all concentrations. Therefore, the essential oil of *Eugenia pohliana* leaves is effective against gastric lesions induced by harmful agents, has antibacterial and healing action, supporting the hypothesis of the effectiveness of the popular use of this species.

Keywords: maçã do mato; gastric ulcer; gastroprotection; healing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Anatomia da mucosa funcional	20
Figura 2 –	Camadas histológicas do estômago	21
Figura 3 –	Mecanismos regulatórios da secreção ácida na célula parietal	23
Figura 4 –	Espécime herborizado de <i>Eugenia pohliana</i>	28
Figura 5 –	Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos	46
Figura 6 –	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Tween 80 (controle negativo) (a) (lansoprazol (30 mg/kg) (b), OEEP (1 mg/kg) (c), OEEP (3 mg/kg) (d), OEEP (10 mg/kg) (e), OEEP (30 mg/kg) (f)	46
Figura 7 –	Estômagos pré-tratados com o OEEP por via oral e intraperitoneal sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (10mL/kg)	47
Figura 8 –	Estômagos pré-tratados com o OEEP por via oral e intraperitoneal sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (10mL/kg) em camundongos, controle (a), Via oral (b), OEEP (10 mg/kg) (c)	48
Figura 9 –	Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol/HCL em camundongos	49
Figura 10 –	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Controle (a), lansoprazol 30 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c)	49
Figura 11 –	Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por anti-inflamatório não esteroide em camundongos	50
Figura 12 –	Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. controle (a), piroxicam 30 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c)	51
Figura 13 –	Efeito do pré-tratamento por via intraduodenal do OEEP sobre os parâmetros do suco gástrico	52
Figura 14 –	Efeito do pré-tratamento do OEEP na produção de muco gástrico em estômagos de Ratos	53

Figura 15 –	Efeito do tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos	55
Figura 16 –	Estômagos de ratos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. controle (a), ranitidina 60 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c)	55
Figura 17 –	Fotomicrografias da mucosa gástrica dos ratos submetidos à indução de úlcera crônica em 20% de ácido acético coradas com HE. Controle (A). Ranitidina (60 mg/kg). OEEP (10 mg/kg)	56
Figura 18 –	Efeito da administração oral do OEEP sobre lesões gástricas induzidas por etanol antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com NEM (10 mg/kg) em camundongos	57
Figura 19 –	Estômagos de camundongos pré-tratados com OEEP (10mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol (10m/g) antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com N-etilmaleimida (NEM) (10 mg/kg). Controle (10 ml/g) (a), Carbenoxolona (100 mg/kg) (b), OEEP (10 mg/kg) (c), Controle (10 ml/g) bloqueado (d), Carbenoxolona (100 mg/kg) bloqueado (e), OEEP (10 mg/kg) bloqueado (f)	58
Figura 20 –	Efeito da administração oral do OEEP sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com L-NAME (70 mg/kg)	59
Figura 21 –	Estômagos de camundongos pré-tratados com o OEEP (10 mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol (10 ml/g) antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com L-NAME (70 mg/kg). Controle (10 ml/g) (a), carbenoxolona (100 mg/kg) (b), OEEP (10mg/kg) (c), controle (10 ml/g) bloqueado (d), carbenoxolona (100 mg/kg) bloqueado (e), OEEP (10mg/kg) bloqueado (f)	59
Figura 22 –	Atividade da peroxidação lipídica, (μg MDA/mg de proteína) glutathiona reduzida (μg GSH/mg de proteína) e mieloperoxidase (MPO) (mDO / mg de proteína), em estômagos de camundongos com úlcera gástrica induzida por etanol após tratamento de com Tween 80 (veículo), lansoprazol (30 mg/kg, v.o.) e o OEEP (10 mg/kg)	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classes de compostos majoritários encontrados no óleo essencial das folhas de <i>Eugenia pohliana</i>	41
Tabela 2 –	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>Eugenia pohliana</i> (OEEP) sobre o consumo de água, ração e peso corporal em camundongos após os 14 dias da administração oral da dose única de 2.000 mg/kg	45
Tabela 3 –	Efeito do óleo essencial das folhas de <i>Eugenia pohliana</i> (OEEP) sobre o índice de órgãos após os 14 dias da administração oral da dose única de 2.000 mg/kg	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINE	Anti-inflamatório não esteroide
ANOVA	Análise de variância de uma via
CMI	Concentração Mínima Inibitória
COX	Ciclooxigenase
ECL	Células semelhantes às enterocromafins
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GSH	Glutathiona reduzida
H.E	Hematoxilina - Eosina
HCl	Ácido clorídrico
IBPs	Inibidores da bomba de prótons
i.p.	Intraperitoneal
L-NAME	N ω -nitro-L-arginina-metil-éster
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
NEM	N-etilmaleimida
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
O ₂	Oxigênio
OE	Óleo essencial
OEEP	Óleo essencial de <i>Eugenia pohliana</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
s.c.	Via subcutânea
TBA	Ácido tiobarbitúrico
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
v.o.	Via oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	ANATOMIA FUNCIONAL DO ESTÔMAGO	20
2.1.1	Mecanismos Regulatórios da Secreção Ácida	22
2.1.2	Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica	23
2.2	ÚLCERA PÉPTICA	24
2.2.1	Terapêutica da Úlcera Péptica	25
2.3	PLANTAS MEDICINAIS NA GASTROPROTEÇÃO	26
2.3.1	Família Myrtaceae e Gênero <i>Eugenia</i>	27
2.3.2	Espécie <i>Eugenia pohliana</i>	28
2.4	ÓLEOS ESSENCIAIS	29
3	OBJETIVOS	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1	COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	31
4.2	EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	31
4.3	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	31
4.4	ANIMAIS	32
4.5	TOXICIDADE ORAL AGUDA	32
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA	33
4.6.1	Úlcera Gástrica Induzida por Etanol	33
4.6.2	Avaliação do Efeito Protetor da Barreira Física	33
4.6.3	Úlcera Gástrica Induzida por Etanol/HCl	34
4.6.4	Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório Não Esteroide (PUSCAS et al., 1997, com modificação)	34
4.6.5	Determinação da Secreção de Ácido Gástrico	34
4.6.6	Quantificação da Concentração de Muco na Mucosa Gástrica	35
4.6.7	Úlcera Gástrica Induzida por Ácido Acético (OKABE et al., 1971)	36
4.6.8	Análise Histopatológica da Mucosa Gástrica	36
4.6.9	Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfrídricos na	

	Gastroproteção	37
4.6.10	Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção	37
4.6.11	Avaliação da Atividade Anti-<i>Helicobacter pylori</i>	37
4.6.12	Ensaio de Inibição da Urease	38
4.7	AVALIAÇÃO DO PAPEL DO ESTRESSE OXIDATIVO NO EFEITO GASTROPROTETOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia pohliana</i>	38
4.7.1	Preparação do Homogenato de Tecido	38
4.7.2	Quantificação de Proteína	39
4.7.3	Peroxidação Lipídica	39
4.7.4	Glutathione Reduzida	39
4.7.5	Atividade Da Enzima Mieloperoxidase	40
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL	41
5.2	TOXICIDADE AGUDA	44
5.3	ATIVIDADE GASTROPROTETORA	45
5.3.1	Úlcera Gástrica Induzida por Etanol Absoluto	45
5.3.2	Avaliação do Efeito de Barreira Física	47
5.3.3	Úlcera Gástrica Induzida por Etanol Acidificado	49
5.3.4	Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório Não Esteroide	50
5.3.5	Determinação da Secreção de Ácido Gástrico	51
5.3.6	Quantificação da Concentração de Muco na Mucosa Gástrica	53
5.3.7	Úlcera Gástrica Crônica Induzida por Ácido Acético	54
5.3.8	Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfrídricos na Gastroproteção	57
5.3.9	Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção	58
5.3.10	Avaliação do papel do estresse oxidativo no efeito gastroprotetor do óleo essencial de <i>Eugenia pohliana</i>	60
5.3.11	Avaliação da Atividade Anti-<i>Helicobacter pylori</i>	61
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE: PROCESSO Nº 0056/2019	75

1 INTRODUÇÃO

A úlcera péptica é uma das doenças que mais acomete o aparelho digestivo e é considerada um problema de saúde pública. Estima-se que cerca de 20% da população mundial desenvolva a doença ao longo da vida.

Os principais fatores etiológicos da úlcera péptica estão associados à falta de equilíbrio entre substâncias protetoras, como muco, bicarbonato, prostaglandinas, compostos com grupamentos sulfidríla, tais como proteínas e glutatona, assim como os fatores agressores, infecção por *Helicobacter pylori*, distúrbios na secreção de ácido e pepsina, uso de fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) exposição a produtos químicos, álcool e estresse (BUCCIARELLI et al., 2010; FREITAS et al 2011; AMORIM et al., 2016).

A mucosa gástrica é o principal alvo de injúrias causadas pelo desequilíbrio entre os fatores endógenos, exógenos e defensivos do trato gastrointestinal. O aumento na secreção de ácido gástrico e pepsina, estresse, peroxidação lipídica, espécies reativas de oxigênio (EROs), e refluxo biliar são as principais causas responsáveis pela origem do dano inflamatório na mucosa gástrica (EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015).

O estresse oxidativo, a presença de infiltração de neutrófilos e a geração de citocinas pró-inflamatórias são eventos comumente encontrados na gênese das lesões gástricas (VERMA et al., 2016). Em contrapartida, a camada protetora da mucosa gástrica, como o muco e antioxidantes endógenos, atuam protegendo as células contra os danos causados pelas EROs (ASMARI et al., 2016). Sendo assim, a redução nos níveis de estresse oxidativo e o fortalecimento da barreira protetora do estômago são fatores fundamentais para manter a integridade da mucosa gástrica contra agentes nocivos.

As classes de fármacos utilizados para o tratamento de úlceras gástricas incluem: antiácidos; antagonistas dos receptores H₂ (bloqueadores H₂), os quais atuam bloqueando o receptor de histamina das células parietais gástricas e, conseqüentemente, reduzindo a secreção de ácido gástrico; e inibidores da bomba de prótons (IBPs), que atuam nos processos finais da secreção de íons hidrogênio através da inibição da H-K-ATPase (PROCTOR; DEANS, 2014; HATWARE et al., 2018).

No entanto, apesar da eficácia comprovada desses fármacos, quando utilizados por longo prazo podem acarretar uma série de efeitos colaterais indesejáveis, como hipersensibilidade, impotência, arritmia e alterações hemotopoéticas (ZHENG et al., 2016). Sendo assim, aumenta a busca por tratamentos alternativos que visem substituir a utilização desses medicamentos (RAISH et al., 2018).

A *Eugenia pohliana* DC. é uma espécie pertencente à família Myrtaceae e conhecida popularmente como Maçã do Mato, planta de origem nativa, endêmica do Brasil. Apresenta distribuição geográfica no Nordeste (Bahia, Pernambuco) e Sudeste (Minas Gerais). Tem como domínio fitogeográfico a Caatinga (SOBRAL et al., 2015).

Ainda não se tem estudos publicados com a espécie *Eugenia pohliana*. Segundo o Núcleo de Bioprospecção da Caatinga (dados não publicados), suas folhas e cascas são tradicionalmente utilizadas pelas comunidades vizinhas do entorno do vale do Catimbau no tratamento de doenças inflamatórias. Estudos mostram que espécies pertencentes ao gênero *Eugenia* estão envolvidas nas mais diversas atividades biológicas, como anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antimicrobiana (LEEM et al., 2011; SANTOS et al., 2012; SOUZA et al., 2018).

Partindo do pressuposto que existe um grande interesse econômico e científico na descoberta de novas substâncias ou terapias alternativas para o tratamento de úlceras gástricas, aliado ao uso popular como uma espécie anti-inflamatória e à ausência de estudos com a *Eugenia pohliana*, torna-se importante avaliar seu efeito gastroprotetor.

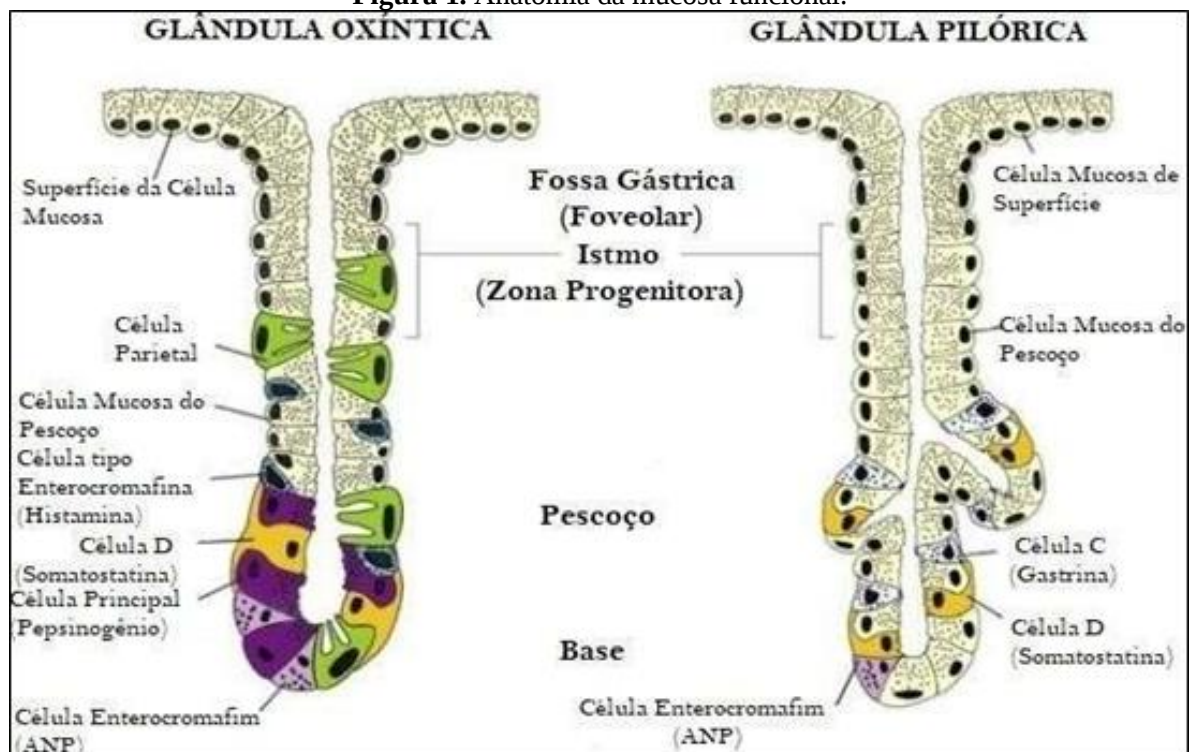
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA FUNCIONAL DO ESTÔMAGO

O epitélio gástrico é constituído por uma complexa rede funcional, nas quais estão presentes, glândulas gástricas, células e neurônios. Anatomicamente, o estômago divide-se em três seções: fundo superior, corpo central e antro inferior. Este órgão desempenha funções importantes para o funcionamento do organismo, o armazenamento, a mistura e o esvaziamento, são alguns dos processos desempenhados por ele. Sua região glandular é dividida em duas áreas funcionais (glandular oxíntica e pilórica/ antral) (Figura 1) (WAUGH; GRANT, 2014).

A porção glandular oxíntica é constituída por células parietais/oxínticas, as principais responsáveis pela produção de ácido clorídrico na mucosa; assim como também pelas células principais, responsáveis pela produção de pepsinogênio; pelas células D, que secretam somatostatina; e células do tipo enterocromafins (ECL) que sintetizam histamina. Na porção pilórica ou antral, estão presentes as células G, produtoras de gastrina, e as células principais. Diferente da porção glandular oxíntica, as células parietais se fazem ausentes (ENGEVIK; KAJI; GOLDENRING, 2020).

Figura 1. Anatomia da mucosa funcional.



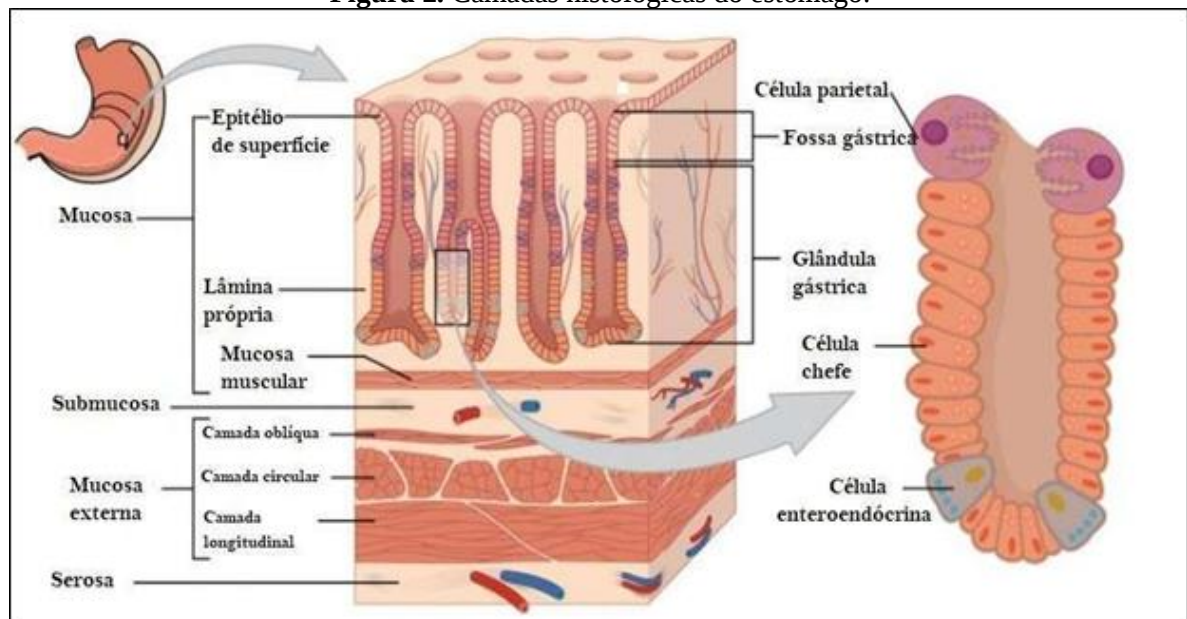
Fonte: Adaptado de Schubert e Peura (2008).

As células principais são responsáveis pela origem do zimogênio e pepsina, assim com as células enteroendócrinas produzem serotonina, gastrina, grelina, somatostatina, endotelina, histamina e enteroglucagon. Na camada mucosa da região gastrointestinal, encontram-se as células produtoras de muco e bicarbonato (GELBERG, 2014).

A gastrina é secretada pelas células G e é considerada um dos hormônios mais importantes envolvidos nas funções vitais do estômago. Ela proporciona eventos como: aumento da secreção de H^+ nas células parietais gástricas e promove o crescimento da mucosa gástrica, através da estimulação da síntese de DNA e proteínas (AHMED; AHMED, 2019).

A parede do estômago é constituída por quatro camadas: mucosa interna, submucosa, camada de músculo liso e serosa (figura 2). A parede intestinal apresenta caráter enrugado com a formação de dobras denominadas de pregas, esta característica tem por finalidade aumentar a sua área de superfície (COSTANZO, 2015).

Figura 2. Camadas histológicas do estômago.



Fonte: Er services. Anatomia e fisiologia II (2020).

A camada mucosa é responsável pelo revestimento interno do trato gastrointestinal e é subdividida em outras três camadas, sendo elas: epitélio mucoso, voltado para o lúmen; a lâmina própria formada por tecido conectivo subepitelial, com função de manter o epitélio gástrico no lugar; e a camada muscular da mucosa, constituída por músculos lisos. A submucosa é conhecida como a camada mediana do intestino, composta por tecido conectivo, onde está presente uma ampla rede de vasos sanguíneos e linfáticos, além disso, abriga os

plexos submucosos, uma rede nervosa, responsáveis pelo sistema nervoso entérico. A camada muscular externa é revestida por duas camadas de músculo liso, uma interna circular e outra externa longitudinal, além disso, nela está localizada a segunda rede nervosa entérica denominada de plexo mioentérico. O estômago possui uma terceira camada de músculo oblíquo incompleta, localizada entre a camada circular e a submucosa. A camada serosa é a principal responsável pelo revestimento externo do trato gastrointestinal, constituída por tecido conectivo (SILVERTHORN, 2017).

A mucosa gastrointestinal mantém sua integridade contra lesões gástricas através de seus mecanismos de defesa como a barreira mucosa-tampão-fosfolipídeo. Uma vez que esta barreira é quebrada, a mucosa sofre interferência dos fatores endógenos (muco, bicarbonato, prostaglandina, entre outros) e exógenos (drogas e infecção por *Helicobacter pylori*), ambos responsáveis por desenvolver o processo inflamatório e atrofia da mucosa (KODAMA et al., 2012).

2.1.1 Mecanismos Regulatórios da Secreção Ácida

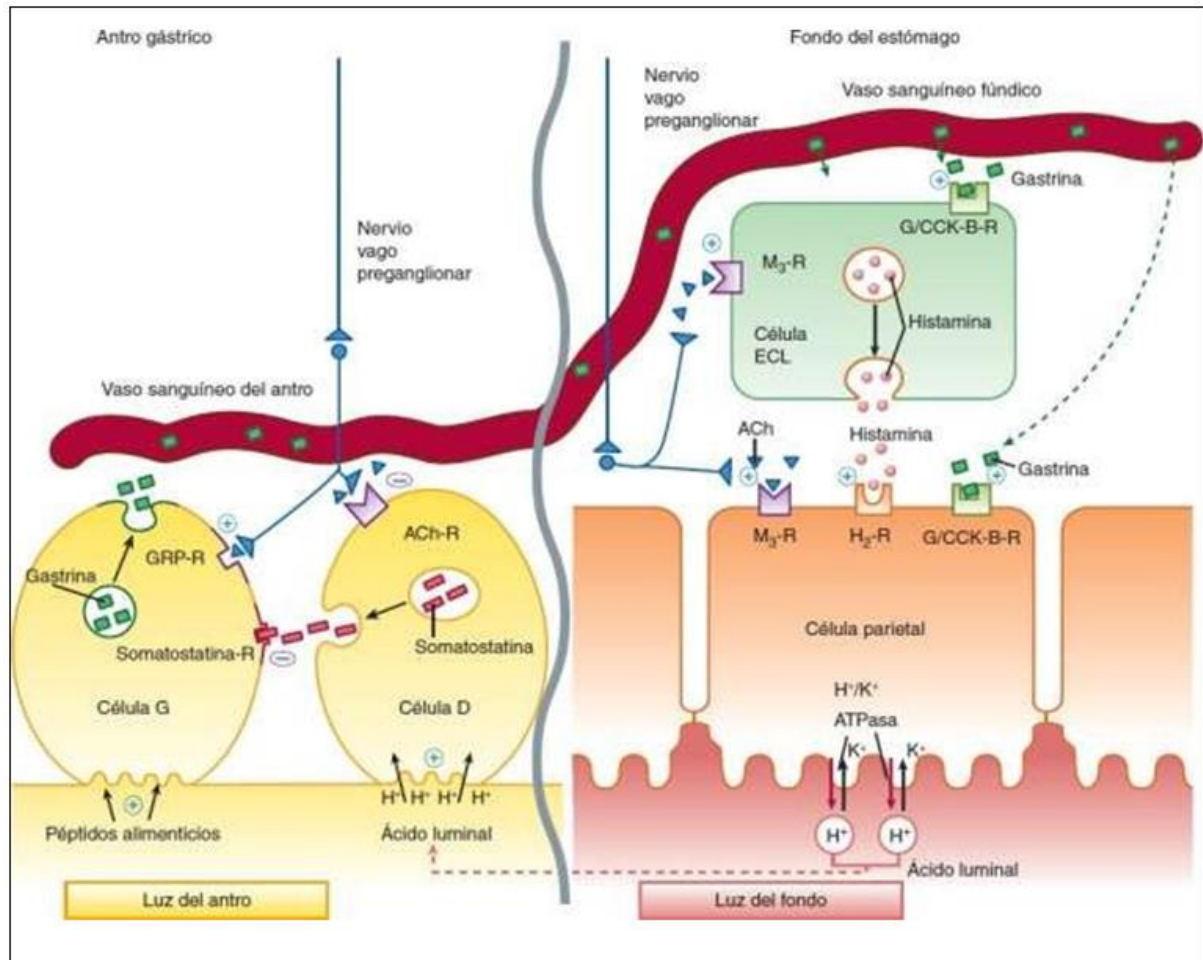
O ácido gástrico é uma das principais substâncias que compõe a região gastrointestinal. Ele desempenha funções importantes, como participar do processo de digestão dos alimentos e está envolvido na patogênese das doenças do trato gastrintestinal. Os principais estimulantes hormonais, parácrinos e nervosos da secreção de ácido gástrico são gastrina, derivada das células G antrais, histamina e acetilcolina respectivamente. Demais estimulantes incluem grelina, motilina e sulfeto de hidrogênio. Os principais inibidores da secreção gástrica são somatostatina e peptídio 1 semelhante ao glucagon além do ácido luminal que estimula a somatostatina (Figura 3) (SCHUBERT, 2016).

A gastrina é encontrada em duas principais formas, G-17 e G-34, são produzidas pelas células G no antro gástrico e podem ser encontradas em menor quantidade no duodeno. Este hormônio regula a secreção de ácido gástrico através dos receptores CCK-2 (CCK-2R) nas células enterocromafins (ECL) estimulando a liberação de histamina e a ativação dos receptores H2 das células parietais. Além disso, a gastrina regula a expressão de genes das células ECL, esses genes atuam regulando o mecanismo secretor e fornecem energia suficiente para manter a secreção (MORISSET, 2005).

A histamina é considerada o ativador mais importante da célula parietal, por intermédio dos receptores H-2, além disso, seu efeito estimulador está associado as células parietais, diferente da gastrina que tem seu aumento da secreção ácida promovida pelos

estímulos aos receptores da gastrina nas células enterocromafins (ECL), atuando nas células parietais através das tensões celulares (WALDUM et al., 2014).

Figura 3. Mecanismos regulatórios da secreção ácida na célula parietal.



Fonte: KATZUNG; MASTERS; TREVOR (2014).

2.1.2 Mecanismos de Defesa da Mucosa Gástrica

A mucosa gástrica é responsável por manter a integridade do meio gastrointestinal, apesar de sofrer inúmeras interferências por agentes nocivos como HCl, pepsina, fosfolipídios, proteínas de choque térmico, peptídeos e AINEs, dentre outras. Em condições normais, o funcionamento da mucosa gástrica ocorre em harmonia com seus fatores protetores como muco, bicarbonato, prostaglandinas, óxido nítrico e compostos sulfídricos (LAINE et al., 2008).

O epitélio gástrico intestinal é revestido por uma camada de muco com espessura de 50 a 500 µm. O muco atua como uma barreira de difusão para o ácido luminal, dificultando efetivamente o influxo de ácido no tecido, esse movimento se dá através dos impulsos dos

gradientes de concentração de prótons entre a região do lúmen e o tecido. A formação da barreira protetora está associada ao acúmulo de íons bicarbonato e a formação de gel devido ao baixo pH (LICHTENBERGER et al., 1999).

As prostaglandinas são derivadas do ácido araquidônico. Elas fazem parte do mecanismo de defesa da mucosa gástrica e atuam na regulação da secreção de bicarbonato. Constituem uma ampla rede de sinalizações expressa por toda região gastrointestinal com importante função de aumentar a secreção de bicarbonato quando sofrem ataque de agentes nocivos, como AINEs (FONESKA et al., 2010).

A via da L-arginina/ óxido nítrico (NO) compreende um dos maiores sistemas de defesa da mucosa gástrica. Ele está envolvido na regulação do fluxo sanguíneo e na microcirculação da mucosa. Além disso, participa dos processos vitais da mucosa, como angiogênese e secreção de muco (SEPULVEDA et al., 2016).

Por outro lado, o estresse oxidativo pode ser prevenido pelas defesas antioxidantes e químicas da mucosa. Os grupos sulfidril (GSH) são os principais responsáveis pelas vias de sinalização e reparo celular. Eles atuam prevenindo o dano gástrico oxidativo (BOEING et al., 2020).

2.2 ÚLCERA PÉPTICA

A úlcera péptica é uma doença crônica que acomete até 10% da população mundial. A lesão caracteriza-se por uma ruptura da camada mucosa e submucosa e pode estar comumente localizada no estômago, duodeno proximal, esôfago e divertículo de Meckel (LANAS et al., 2017). A alta ocorrência de úlceras pépticas, nos últimos tempos, permitiu uma melhor compreensão das características fisiológicas da doença e sua incidência está associada ao desequilíbrio entre os fatores protetores e agressores da mucosa gástrica. A ocorrência crescente de infecções por *Helicobacter pylori*, a deficiência na barreira da mucosa gástrica e o uso de drogas têm sido as principais causas responsáveis pelo surgimento dessas úlceras (BEHRMAN, 2005; SØREIDE et al., 2015).

O uso de anti-inflamatórios não esteroides, tendo como exemplo a aspirina, tomados a longo prazo podem desencadear complicações clínicas graves, incluindo o surgimento de lesões gástricas agudas na mucosa. Embora o surgimento da úlcera péptica esteja intimamente atrelado aos fatores exógenos e endógenos da mucosa gástrica, existem outras causas responsáveis pelo acometimento da lesão, como doença de Crohn e a síndrome de Zollinger-Ellison (KAVITT et al., 2019).

Os sintomas clínicos da úlcera péptica consistem em dor abdominal recorrente, náusea, vômito, perda de apetite e em casos graves, pode ocorrer o surgimento de hematêmese. A doença é caracterizada por sangramento, perfuração e obstrução da camada mucosa, a mesma pode ocorrer em ambos os sexos e não existe uma faixa etária determinada para o surgimento da lesão, mas geralmente a maior incidência ocorre em indivíduos entre 15 e 30 anos (THORSEN et al., 2013).

2.2.1 Terapêutica da Úlcera Péptica

A terapêutica no tratamento da úlcera péptica surgiu nos anos de 1922 e 1940. Neste período, a vagotomia torácica e cirurgias eram os tratamentos utilizados no combate a esta doença. Apenas por volta de 1947, com os avanços da tecnologia, Dragstedt publicou um estudo onde a vagotomia ganhou outras combinações, como piloroplastia e antrectomia (LAGOO; PAPPAS; PEREZ, 2014).

A úlcera péptica é uma doença associada ao surgimento de complicações clínicas graves, os sintomas incluem desconforto epigástrico, perda de apetite e perda de peso. A doença caracteriza-se pela ocorrência de sangramento, ruptura da camada mucosa e obstrução. O sangramento gastrointestinal é considerado uma das causas mais frequentes de mobilidade e mortalidade em pacientes com úlcera pépticas. Estudos realizados em 2017, no Reino Unido, revelou que de 6.750 pacientes internados, 36% apresentavam sangramento. Algumas técnicas, como radiologia intervencionista e terapias endoscópicas, são utilizadas no controle ao sangramento (TROLAND; STANLEY, 2018; GISBERT et al., 2012).

A terapia farmacológica para o tratamento da úlcera é composta por: inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol e esomeprazol), os antagonistas dos receptores histamínicos do tipo H₂, como (cimetidina, ranitidina, nizatidina e famotidina), os anticolinérgicos, que atuam bloqueando os receptores dos gânglios intramurais da camada do estômago, os antiácidos (hidróxido de alumínio e de magnésio, carbonato de sódio e de cálcio), terapêutica para H.Pylori e citoprotetores. Embora esses medicamentos possam ser usados e prescritos para o combate a lesão gástrica, o excesso deles podem desencadear efeitos colaterais diversos como hipersensibilidade, hiperplasia, pneumonia, arritmia e diarreia (KUNA et al., 2019).

Na gastroenterologia, os quadros de hemorragia são frequentes, e podem ser oriundas do esôfago, estômago ou duodeno, os sintomas consistem na presença de vermelho intenso sangue, hemotêmese, vômito e fezes com sangue. A ocorrência de sangramento

gastrointestinal é de 40-150 casos por 100.000 habitantes, com taxa de mortalidade de 7-14%. Segundo o estudo, a frequência de sangramento gastrointestinal está relacionada ao surgimento de úlceras pépticas, duodenais e gastrite erosiva (CELINSKI et al., 2008). A prevalência da úlcera péptica é de aproximadamente 5 -10% com estimativas crescentes em todo o mundo (LANAS et al., 2017). Deste modo, torna-se importante a busca por novas terapias que possam atuar junto ao combate a úlcera péptica.

2.3 PLANTAS MEDICINAIS NA GASTROPROTEÇÃO

A utilização de plantas medicinais no tratamento, cura e prevenção de doença é a prática mais antiga da humanidade. Por volta da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países menos favorecidos faziam uso de plantas medicinais como a única alternativa de acesso aos cuidados básicos de saúde (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Os distúrbios gastrointestinais tornaram-se motivo de preocupação para a comunidade científica, uma vez que as taxas de incidência e prevalência da doença só aumentam nos últimos tempos. Deste modo, houve uma busca crescente por terapias alternativas que possam contribuir positivamente no tratamento das doenças gastrointestinais (SINGH et al., 2018).

De acordo com levantamento realizado por Martins et al. (2014), o cerrado brasileiro apresenta espécies de plantas medicinais com potencial gastroprotetor comprovado. O estudo foi realizado utilizando 12 espécies de plantas medicinais, pertencentes a diferentes famílias, sendo elas, *Ananas ananassoides* (Barker) LB (abacaxi-do-cerrado), *Celtis iquanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo), *Encholirium visível* Mart. Schult Schult F (macambira da flecha), *Lafoensia cortejando A.St.Hil* (mangaba-brava), *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne (jatobá-do- cerrado), *Qualea gradiflora* Mart (pau-ferro), *Qualea parviflora* Mart (pau-terra-de-flor-miudinha), *Die pusa gardn* (jabuticaba-do-mato), *Solanum lycocarpum* St. Hil (fruto-do-lobo), *Solanum paniculatum* L (jurubeba), *Serjania erecta* radlk (cípo-cinco-folhas), *Vochysia tucanorum* Mart (pau-doce).

As plantas produzem uma grande diversidade de produtos químicos, classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos secundários são compostos naturais que desempenham importante função na proteção contra estresses abióticos e bióticos, além de possuírem valores nutricionais e farmacológicos. Os compostos secundários presentes nas plantas são responsáveis pelas características biológicas das espécies vegetais utilizadas mundialmente (DAR et al., 2017).

Os monoterpenos, diterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, taninos e polissacarídeos são compostos presentes em plantas medicinais que estão intimamente envolvidos no efeito gastroprotetor (BESERRA et al., 2016). Estas informações nos fornecem subsídios necessários para considerar as plantas medicinais como fontes de moléculas bioativas e, conseqüentemente, novas alternativas de tratamentos.

2.3.1 Família Myrtaceae e Gênero *Eugenia*

O Brasil é considerado um dos países mais ricos do mundo em espécies vegetais. Além disso, se destaca por apresentar o maior índice de endemismo (FARIAS et al., 2020).

A família Myrtaceae é constituída por plantas pertencentes ao grupo das Angiospermas e compreende cerca de 121 gêneros representados por 6.000 espécies. Dentre os gêneros, destacam-se *Eugenia*, *Campomanesia*, *Myrciaria* e *Syzygium*. As espécies de Myrtaceae estão distribuídas em regiões temperadas, tropicais e subtropicais do mundo. A família apresenta classificações filogenéticas que consiste no total de 17 tribos, a grande maioria das espécies estão agrupadas na tribo neotropical, como Myrtaceae DC. com cerca de 2.500 espécies e 46 gêneros (FLICKINGER et al., 2020).

A família apresenta um grande valor econômico em todo o mundo, seus frutos são comestíveis e comumente encontrados, como a goiaba (*Psidium* sp.). As plantas pertencentes a família Myrtaceae, geralmente são utilizadas na culinária brasileira, por transferir aroma e sabor aos alimentos, a exemplo do cravo (*Syzygium aromaticum*), além disso, os gêneros *Eucalyptus*, *Callistemon* e *Myrtus* são utilizadas como plantas ornamentais (TAHA et al., 2012). Em um estudo realizado por Stefanello, Pascoal e Salvador (2011), foi analisada a composição química do óleo essencial de várias espécies pertencentes à família Myrtaceae e foram observadas quatro classes de compostos, como monoterpenos, sesquiterpenos, compostos alifáticos e aromáticos, incluindo fenilpropanoides.

As plantas pertencentes à família Myrtaceae, além de serem economicamente importantes, também são utilizadas na medicinal tradicional desde os tempos antigos. As espécies são importantes fontes de óleos essenciais com potencial farmacológico capaz de atuar com as mais diversas atividades biológicas, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, antinociceptiva, entre outras (SOUZA-MOREIRA et al., 2010; CASCAES et al., 2015; SILVA et al., 2019).

As plantas do gênero *Eugenia* são conhecidas por serem grandes produtoras de óleos essenciais com atividade farmacológica comprovada (SINGH et al., 2012). Seus óleos

essenciais são comumente empregados nas mais diversas atividades biológicas, como antioxidante (NUÑEZ; D'AQUINO, 2012), anti-inflamatória (HAN; PARKER, 2017) e anticancerígena (KOUIDHI; ZMANTAR; BAKHROUF, 2010)

2.3.2 Espécie *Eugenia pohliana*

A *Eugenia pohliana* DC. (Figura 4), tem como sinônimo *Eugenia cana* DC., popularmente conhecida como maçã do mato. Esta espécie é nativa do Brasil, e está distribuída geograficamente no Nordeste (Bahia e Pernambuco) e Sudeste (Minas Gerais). Esta espécie é comumente encontrada nos biomas Caatinga e Cerrado na forma de arbusto 0,5-2 m, possuem tricomas simples nas cores branco- translúcido, dourados e castanhos, caule com ritidoma descamante e ramos jovens com espaços velutinos. Suas folhas são elípticas, lanceoladas, com base arredondada e textura coriácea. As flores são isoladas do tipo dicásia 3-floro, normalmente sésseis. Seus frutos são globosos com coloração verde-escura quando ainda jovens e velutinos. As sementes apresentam embrião sem cotilédones (MAZINE et al., 2020).

Figura 4. Espécime herborizado de *Eugenia pohliana*.



Fonte: Autor.

A espécie habita em ambientes diversos, como campos sujos, campo rupestre e cerrado ralo. Além disso, a *Eugenia pohliana* tem preferência por ambientes mais altos, geralmente localizados em altitudes que variam entre 600-1300 m. Seu período de floração

ocorre entre os meses de julho e novembro e frutifica de setembro a novembro (FARIA-JÚNIOR, 2014).

2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são compostos líquidos e voláteis, derivados da matéria prima vegetal oriunda das plantas medicinais. As espécies de plantas produtoras de óleos essenciais geralmente são localizadas em países temperados e quentes. Eles podem ser sintetizados por todas as partes das plantas incluindo flores, folhas, caules, galhos, sementes e raízes, e são armazenados nas células secretoras, canais, cavidades e células epidérmicas. Estima-se que, de 3.000 óleos essenciais já conhecidos, 300 deles desempenham funções importantes na indústria farmacêutica, agrônômica, alimentícia, sanitária, cosmética e perfumaria (BAKKALI et al., 2008).

Os óleos essenciais apresentam cerca de 20-60 componentes químicos, pertencentes aos grupos dos terpenos lipofílicos, fenilpropanoides e derivados de hidrocarbonetos alifáticos de cadeia curta. Dentre estes, os monoterpenos e sesquiterpenos constituem a grande maioria dos óleos essenciais, como os hidrocarbonetos, cetonas, álcoois, óxidos, aldeídos, fenóis e ésteres (TUREK; STINTZING, 2013). A extração do óleo essencial pode ser realizada por diferentes técnicas, como maceração, prensagem a frio, extração por solvente, enfleurage, hidrodestilação, dióxido de carbono e destilação a vapor (HANIF et al. 2019).

Os terpenos presentes nos óleos essenciais são denominados de monoterpenos, diterpenos, triterpenos ou sesquiterpenos. Além disso, são conhecidos por apresentarem eficácia terapêutica comprovada nas mais diversas atividades biológicas, como antisséptica, antimicrobiana, analgésica, antifúngica, antioxidante e anti-inflamatória (KHAN et al., 2018).

Alguns estudos têm demonstrado que o óleo essencial de plantas medicinais, como *Syzygium aromaticum*, *Curcuma longa*, *Zingiber officinale*, *Croton*, *Cajucara Benth*, *Protium heptaphyllum*, *Lavandula hybrida* Reverchon, possui propriedade gastroprotetora (BAROCELLI et al., 2004; SANTIN et al., 2011; ARAUJO et al., 2011, LIJU; JEENA; KUTTAN, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

→ Investigar a atividade gastroprotetora do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair e caracterizar o óleo essencial das folhas de *E. pohliana* (OEEP);
- Determinar a toxicidade oral aguda do OEEP em camundongos;
- Avaliar a atividade gastroprotetora do OEEP em modelos agudos de úlcera gástrica;
- Estudar a atividade cicatrizante do OEEP em modelo crônico de úlcera gástrica;
- Investigar os mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica do OEEP;
- Determinar atividade Anti-*Helicobacter pilory* do OEEP;
- Investigar o papel do estresse oxidativo no efeito gastroprotetor do OEEP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

As folhas de *Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae) foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil (SISBIO nº 26743-3, Titular: Alexandre Gomes da Silva). Os espécimes foram coletados com auxílio de uma tesoura de poda manual. Após coletados, foram acondicionados em sacos de papel devidamente identificados e conduzidos ao laboratório para a extração do OE. Ramos férteis foram herborizados, identificados e depositados no Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (registro nº 54.805).

4.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A extração do OE das folhas foi realizada por hidrodestilação em aparelho de Clevenger. A cada extração, foram pesados 300g de folhas trituradas e adicionados 3000 mL de água destilada. O tempo de destilação foi de 4 h. Após o período de extração, OE obtido foi tratado com Na₂SO₄ anidro, para a separação das fases óleo/água, posteriormente foi alíquotado e armazenado em recipientes de vidro, tipo âmbar a -20°C até o momento do uso. O rendimento foi calculado pelo volume do OE obtido em relação à quantidade de droga vegetal utilizada.

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

A caracterização química dos compostos presentes no óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC/MS). As substâncias foram identificadas por comparação dos seus espectros de massas com os espectros da base de dados NIST 98 (NIST Mass Spectral Library, 1998), registrados na literatura (ADAMS, 2007) e índices de retenção, os quais foram obtidos a partir do algoritmo de Kovats modificado, utilizando como padrão uma série homóloga de hidrocarbonetos lineares de C₉H₂₀ (nonano) a C₂₆H₅₄ (hexacosano).

4.4 ANIMAIS

Foram usados camundongos das linhagens Swiss e BALB/c, além de ratos Wistar distribuídos nos seguintes testes: Swiss (toxicidade oral aguda, úlcera gástrica induzida por etanol, etanol/HCl, barreira física, e nos mecanismos de ação GSH e NO. BALB/c (úlcera gástrica induzida por anti-inflamatório não esteroide. Ratos Wistar (determinação da secreção de ácido gástrico, quantificação da concentração de muco na mucosa gástrica e úlcera gástrica induzida por ácido acético. Os animais foram de os ambos os sexos, com 8-10 semanas de idade, oriundos do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os animais foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro), temperatura (22 ± 2 °C), umidade (45-65%) e receberam água potável e ração (Presence®) *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram submetidos e aceitos pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE (Registro nº 0056/2019), conforme anexo (ANEXO A).

4.5 TOXICIDADE ORAL AGUDA

O teste de toxicidade aguda, foi realizado de acordo metodologia recomendada pela Organization for Economic Cooperation and Development - Guideline 423 (OECD, 2001). Camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas (n=5), foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos, sendo controle e tratado. Em seguida foram submetidos a um jejum sólido por 12 horas, com acesso livre a água. O grupo controle recebeu o veículo Tween 80 1% (10 mL/kg, v.o.) e o grupo da dose limite de 2000 mg/kg, v.o recebeu a dose fracionada, no tempo inicial de 1000 mg/kg do OEEP e após 4 horas outra dose 1000 mg/kg do OEEP. Os animais foram observados nos intervalos de (0, 15, 30, 60 min) e diariamente durante 14 dias. O consumo de água, ração bem como o peso corporal e alterações morfofisiológicas foram mensurados durante todo o experimento. No 15º dia os animais foram anestesiados com (cetamina 90 mg / kg e xilazina 15 mg / kg), para retirada do sangue através da punção cardíaca e em seguida foi retirado os órgãos (fígado, baço, rim e pulmão) para aferição do peso, esses mesmos órgãos foram conservados em formalina tamponada, em seguida essas amostras foram encaminhadas para realização da análise histológica.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA

4.6.1 Úlcera Gástrica Induzida por Etanol

Os camundongos ($n = 6$) foram divididos em cinco grupos experimentais e submetidos a um jejum de sólidos por 16 horas. Posteriormente, eles foram pré-tratados com lansoprazol (30 mg/kg, v.o.) no grupo controle positivo, veículo Tween 80 1% (10 mL/kg) para o controle negativo e OEEP, nas doses de 1, 3, 10 e 30 mg/kg, nos grupos tratados. Após 1 hora, foi administrado etanol absoluto (10 mL/kg, v.o.). Decorrida 1 hora desta administração, os camundongos receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram retirados, abertos ao longo da grande curvatura e o percentual de área ulcerada 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, com modificações). As referidas doses (1, 3, 10 e 30) foram determinadas através da escala logarítmica).

4.6.2 Avaliação do Efeito Protetor da Barreira Física

Os camundongos ($n = 6$) foram divididos em 3 grupos experimentais e submetidos a um jejum sólidos por 16 h. Posteriormente pré-tratados com veículo Tween 80 1% (10 mL/kg, v.o), para o grupo controle negativo e OEEP na dose de 10 mg/kg (v.o e i.p). Em seguida, os animais receberam etanol 10 mL/kg (v.o) e uma 1h após os camundongos receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram retirados, abertos ao longo da grande curvatura e percentual de área ulcerada 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 (VIDAL et al., 2017).

Visto que não houve diferença estatística entre as doses de 10 e 30 mg/kg, no teste de indução de úlcera por etanol, a dose de 10 mg/kg por ser a menor dose, foi escolhida para seguir nos testes farmacológicos.

4.6.3 Úlcera Gástrica Induzida por HCl/etanol

Os camundongos (n = 6) foram divididos em 3 grupos experimentais e submetidos a um jejum de sólidos por 16 horas. Em seguida, foram pré-tratados (v.o.) com solução Tween 80 1% (10 mL/kg) para o grupo controle negativo, lansoprazol (30 mg/kg) para o controle positivo e OEEP, na dose 10 mg/kg, nos grupos tratados. Após 1 h, foi administrado 0,2 mL de 0,3 M HCl/etanol (v.o), e uma hora após os camundongos receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram retirados, abertos ao longo da grande curvatura e o percentual de área ulcerada 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 (SZELENYI; THIEMER, 1978; MIZUI; DOUTEUCHI, 1983, modificado).

4.6.4 Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório Não Esteroide (PUSCAS et al., 1997, com modificação)

Para realização deste protocolo experimental, os camundongos (n = 6) foram submetidos a um jejum de sólidos por 16 h, posteriormente pré-tratados (v.o.) com ranitidina (60 mg/kg) para o controle positivo, solução Tween 80 1% (10 mL/kg) para o controle negativo e OEEP na dose 10 mg/kg nos grupos tratados. Decorridos 30 min do pré-tratamento, os animais receberam piroxicam (30 mg/kg), por via subcutânea (s.c.), e após 4 h, os camundongos receberam pentobarbital sódico (50 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura para determinação do percentual de área ulcerada (mm²) (SZELENYI; THIEMER, 1978; PUSCAS et al., 1997, modificado).

4.6.5 Determinação da Secreção de Ácido Gástrico

Para o estudo da avaliação dos parâmetros de secreção gástrica, os animais ratos Wistar foram submetidos a um jejum de sólidos por 16h, com livre acesso à solução de glicose a 5%. Em seguida, foram divididos em três grupos experimentais (n = 8). Para realização da ligadura de piloro, os animais foram previamente anestesiados com cetamina (90 mg/kg) e xilazina (16 mg/kg) e foi realizada uma laparotomia para ligadura do piloro. De

imediatamente, após a ligadura, foi administrado por via intraduodenal, o veículo (Tween 80 1%), ranitidina (60 mg/kg) ou OEEP (na melhor dose).

Após 4 horas, os animais receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos e o conteúdo gástrico foi coletado e centrifugado a 3000 rpm por 10 min. O volume final foi determinado após a lavagem da mucosa do estômago com água destilada e o valor do pH foi calculado em pHmetro digital. A acidez total da secreção gástrica foi determinada pela titulação do pH 7.0 com 0,1 N NaOH usando fenolftaleína 2% como indicador. O conteúdo gástrico, o valor do pH e a acidez total (mEq [H⁺]/mL/4h) foram avaliados (VISSCHER et al., 1954).

4.6.6 Quantificação da Concentração de Muco na Mucosa Gástrica

Os animais (n = 7-8) foram submetidos ao jejum de 18 horas com acesso livre a solução de glicose 5%, distribuídos em grupos e posteriormente tratados (v.o.) com OEEP (10 mg/kg), Tween 80 1% - 10 mL/kg (controle negativo) e carbenoxolona 200 mg/kg (controle positivo). Após 1 hora de cada administração, os animais foram anestesiados (via i.p.) com cloridrato cetamina (60 mg/kg) (anestésico) e cloridrato de xilazina (6 mg/kg) (relaxante muscular) e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo da apófise xifoide para ligadura do piloro. Em seguida, as incisões dos animais foram suturadas e 4 horas após a ligadura, os ratos foram eutanasiados em câmara de CO₂, o esôfago foi pinçado para evitar a perda do material secretado e o estômago removido e aberto ao longo da grande curvatura.

A porção glandular do estômago foi separada, pesada e imersa, por duas horas, em 10 mL de solução de Alcian blue. O excesso de Alcian blue foi removido por lavagem do estômago por duas vezes consecutivas, com 7 mL de solução sacarose 0,25 mol/L; sendo a primeira por 15 minutos e a segunda por 45 minutos. O corante, complexado ao muco aderido à parede estomacal, foi extraído com 10 mL de cloreto de magnésio 0,5 mol/L, agitando-se intermitentemente por um minuto, a cada 30 min, durante 2 horas.

Desse material, foi retirada uma alíquota de 4 mL e adicionada à 4 mL de éter etílico e esta foi agitada por 2 minutos. A emulsão obtida foi centrifugada por 10 min a 1.134 g e o sobrenadante, descartado. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (modelo Epoch, marca BioTek, Winooski, Vermont, USA) a 595 nm. A determinação da concentração de Alcian blue foi feita por interpolação em uma curva padrão com várias concentrações de Alcian blue. Os resultados foram expressos em µg de Alcian blue/g de tecido (RAFATULLAH et al., 1990) com modificações.

4.6.7 Úlcera Gástrica Induzida por Ácido Acético (OKABE et al., 1971)

Os animais foram divididos em três grupos experimentais (n = 8) e anestesiados com cetamina (90 mg/kg) e xilazina (16 mg/kg) por via intraperitoneal. Em seguida, foi realizada uma laparotomia para exposição do estômago. Foi administrada uma injeção de 0,05 mL de solução de ácido acético a 20% na camada serosa do estômago para indução da úlcera. Após a remoção da injeção, o local foi lavado com solução salina e a cavidade abdominal foi suturada.

No segundo dia após a indução da úlcera, foi iniciado o tratamento, duas vezes ao dia, com solução Tween 80 1% (10 mL/kg, v.o.), ranitidina (60 mg/kg, v.o.) e o OEEP (melhor dose nos modelos de gastroproteção), durante 7 dias. No 8º dia, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (60 mg/kg, i.p.) e, em seguida, eutanasiados em câmara de CO₂. Os estômagos foram removidos, abertos pela curvatura maior, lavados com água destilada e fotografados, em seguida foi determinado o percentual de área ulcerada (mm²) (OKABE et al., 1971).

4.6.8 Análise Histopatológica da Mucosa Gástrica

Para realização da análise histopatológica, amostras da mucosa gástrica foram preservadas em formaldeído a 10% tamponado por 24 horas. Logo após, foram lavadas em solução tampão, desidratadas em álcool em série crescente de concentração e incluídas em glicol metacrilato historesina (Historesin Leica, Wetzlar, Germany). Os cortes de 4 µm foram obtidos em micrótomo (Leica, Wetzlar, Germany) modelo RM 2245 equipado com navalha de vidro, distendidos em água destilada e colocados sobre lâminas, levados para secagem em estufa a 60 °C por 1 minuto e submetidos às técnicas de coloração pela Hematoxilina - Eosina (H.E).

As lâminas em duplicatas/animal foram analisadas em microscópio de luz, da marca Leica (Wetzlar, Germany) modelo DM500 e fotografadas mediante o uso de câmera Leica modelo EC3 acoplada ao microscópio, bem como do software Leica Application Suite (LASEZ para análise histopatológica (BENEDITTI et al., 2004; LEMOS et al., 2011; ALMEIDA et al., 2017).

4.6.9 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfidrílicos na Gastroproteção

Os animais foram divididos em seis grupos experimentais ($n = 6/\text{grupo}$) e submetidos a jejum de sólidos por 16 h. Conforme pré-tratamentos, três grupos receberam solução Tween 80 1% (10 mL/kg) e três grupos receberam N-etilmaleimida (NEM) (10 mg/kg), i.p., um bloqueador dos grupamentos sulfidrílicos. Após 30 minutos das respectivas administrações, os grupos foram tratados, v.o., com solução Tween 80 1% (10 mL/kg) como controle negativo, carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo) e o OEPP na dose de 10 mg/kg. Após 1 hora dos respectivos tratamentos, os camundongos receberam etanol absoluto (10 mL/kg), v.o., como agente indutor das úlceras. Logo após 1 h, os animais receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos para determinação da área ulcera (mm^2) (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

4.6.10 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção

Os animais foram divididos em seis grupos experimentais ($n = 6$) e submetidos a jejum de sólidos por 16 h, para realização dos pré-tratamentos. Três grupos receberam solução Tween 80 1% (10 mL/kg) e três grupos receberam N-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) (70 mg/kg), i.p., um bloqueador da enzima sintase de óxido nítrico. Após 30 minutos das respectivas administrações, os grupos foram tratados, v.o., com solução Tween 80 1% (10 mL/kg) (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo) e OEPP na dose de 10 mg/kg.

Após 1 hora dos respectivos tratamentos, os camundongos receberam etanol absoluto (10 mL/kg, v.o.) como agente indutor das úlceras. Logo após 1 h, os animais receberam tiopental sódico (60 mg/kg) e foram eutanasiados por deslocamento cervical. Os estômagos foram removidos para determinação da área ulcera (mm^2) (SIKIRIĆ et al., 1997).

4.6.11 Avaliação da Atividade Anti-*Helicobacter pylori*

A atividade Anti-*H. pylori* foi avaliada pela determinação da concentração mínima inibitória (MIC) usando o método espectrofotométrico de microdiluição em caldo de acordo com as diretrizes M7-A6 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003). Os poços da microplaca foram preenchidos com 100 μL de meio de crescimento (infusão cérebro-coração suplementada com 10% de soro fetal de bovino) contendo diferentes

concentrações de OEEP (0,002–2%). Outros 100 µL contendo suspensão de *H. pylori* (ATCC 43504) (aproximadamente 10⁶ - 10⁷ UFC / mL) foram adicionados a cada poço. A absorbância foi lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm e as microplacas foram incubadas a 36 – 37 ° C na presença de 10% de CO₂ por 72 h.

Após a incubação, o conteúdo dos poços da placa foi homogeneizado e uma nova leitura espectrofotométrica foi realizada nas condições acima mencionadas. Os testes foram realizados em triplicata e repetidos pelo menos três vezes, juntamente com controles de crescimento (ausência de amostras) e controles negativos (meio de cultura contendo diferentes concentrações de OEEP para controle colorimétrico). MIC foi determinado graficamente e definido como a concentração mais baixa na qual houve um declínio acentuado (90%) na absorbância. Amoxicilina e metronidazol foram usados como padrões.

4.6.12 Ensaio de Inibição da Urease

A atividade inibidora de urease do OEEP foi determinada quantificando a amônia produzida através da hidrólise catalisada por urease de ureia, de acordo com o método descrito por (TANAKA et al., 2003). Foram adicionados 25 µL de urease de 4 UI (urease de feijão, tipo III, Sigma-Aldrich) e 25 µL da amostra em diferentes concentrações a uma microplaca de 96 poços e incubados durante 2 h à temperatura ambiente. O ácido bórico foi usado como padrão. A inibição percentual foi calculada com a equação $(1 - \text{amostra ABS} / \text{controle ABS}) \times 100$, onde o ABS é a absorvência. A concentração efetiva semi-máxima (CE50) da hidrólise do substrato, foi calculada com base no efeito inibitório de várias concentrações de OEEP.

4.7 AVALIAÇÃO DO PAPEL DO ESTRESSE OXIDATIVO NO EFEITO GASTROPROTETOR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia pohliana*

4.7.1 Preparação do Homogenato de Tecido

As amostras de tecido (1:20, p/v) da mucosa gástrica, referente ao modelo experimental de úlcera gástrica induzida por etanol, foram homogeneizadas com um tampão de extração (Tris 50 mM, EDTA 10 mM, ortovanadato de sódio 1 mM, fluoreto de fenilmetanossulfonil 2 mM e IGEPAL® CA-630 1%, pH 7,5) usando um ULTRA-

TURRAX® (T10, IKA, Alemanha). Os sobrenadantes foram coletados após centrifugação a 10.000 g por 10 min, a 4 °C e armazenados a -80 ° C até análise posterior.

4.7.2 Quantificação de Proteína

A concentração de proteína em homogenatos de tecido foi quantificada usando o kit Pierce™ BCA Protein Assay (Thermo Fisher®) usando albumina como padrão. Os resultados foram expressos em mg de proteína/mL de amostra.

4.7.3 Peroxidação Lipídica

A peroxidação lipídica foi quantificada pela reação do malondialdeído (MDA) com ácido tiobarbitúrico (TBA) em meio ácido (HERMES-LIMA; WILLMORE; STOREY, 1995). Resumidamente, 160 µL de amostras, 160 µL de solução de trabalho (1% TBA, 50 mM de NaOH, 0,1 mM BHT) e 80 µL de ácido fosfórico 7% foram misturados e incubados por 15 min a 95 °C. Em seguida, a reação foi interrompida por resfriamento por 5 min. Para extrair o produto, 600 µL de n- butanol foram adicionados a cada frasco, que foi agitado em vórtex e centrifugado a 2.000 g por 5 min. Em seguida, 100 µL da fase orgânica foram transferidos para uma microplaca de 96 poços. A absorvância foi medida a 532 nm. Uma curva padrão de MDA (0 a 200 µM) foi traçada e os resultados foram expressos em µM MDA/mg de proteína.

4.7.4 Glutationa Reduzida

A glutathiona reduzida (GSH) foi medida pela reação de Ellman (MORON; DEPIERRE; MANNERVIK, 1979). As proteínas nas amostras (200 µL) foram precipitadas pela adição de 50 µL de ácido tricloroacético a 10% e incubação por 10 min a -20 ° C. Após a precipitação, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 2.000 g. Em seguida, 15 µL de amostras, 35 µL de tampão de fosfato de sódio 0,2 M (pH 8,0) e 100 µL de DTNB 0,6 mM [5,5'-ditiobis (ácido 2- nitrobenzoico)] foram adicionados a uma microplaca de 96 poços. A microplaca foi homogeneizada a 600 rpm por 1 min e a absorvância medida a 412 nm. Uma curva padrão de glutathiona reduzida (0 a 200 µM) foi traçada e os resultados foram expressos em µM GSH/mg de proteína.

4.7.5 Atividade Da Enzima Mieloperoxidase

A atividade da mieloperoxidase (MPO), enzima encontrada nos grânulos azurófilos dos neutrófilos e utilizada como marcador inflamatório, foi realizada pelo método descrito por Lima-Júnior et al. (2012). Amostras de 50 mg de cólon foram incubadas com 1 mL de uma solução de HTAB (brometo de haxadeciltrimetilamônio) 0,5%, homogeneizadas e centrifugadas (2000 g, 15 min, a 4 °C). Amostras de 7 µL do sobrenadante foram transferidas para microplacas de 96 poços e 200 µL da solução de leitura (5 mg O-dianisidina; 15 µL H₂O₂ 1%; 3 mL tampão fosfato; e 27 mL de H₂O) foram adicionados. A leitura foi realizada em um espectrofotômetro a 460 nm (t 0 = 0 min e t 1 = 1 min) e os resultados expressos em DO/mg de tecido.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O resultado obtido no ensaio de toxicidade aguda foi expresso utilizando o teste “t” de Student, já para os resultados dos ensaios farmacológicos de indução de úlcera gástrica utilizou-se a análise de variância (ANOVA), acompanhada por pós- teste (Dunnett e/ou Tukey). Todos os resultados foram expressos com média ± E.P.M e intervalo de significância fixado em $p < 0,05$. As análises dos resultados foram obtidas com o auxílio do software (*GraphPad Prism*® 7.0), San Diego, CA, EUA.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise química do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* foi realizada por GC-MS e apresentou 62 picos, dentre os quais foi possível identificar 50 compostos, principalmente sesquiterpenos. Os compostos identificados correspondem a 83,96% da composição do óleo essencial e, dentre esses, destacam-se: β -cariofileno (4,66%), alloaromadendreno (2,17%), biciclogermacreno (3,23%), α -muuroleno (4,02%), γ -cadineno (4,95%), δ -cadineno (5,66%), espatulenol (4,95%), globulol (3,63%), viridiflorol (2,45%), ledol (2,34%), T-muurolol (11,78%) e o α -cadinol (11,38%) (Tabela 1).

Tabela 1. Classes de compostos majoritários encontrados no óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana*.

Pico	Tempo de retenção (min)	Índice de retenção	Composto	Área (%)
1	12,699	1031	Limoneno	0,06
2	23,739	1112	Desidrosabinacetona	0,26
3	24,910	1343	Isoledeno	0,06
4	25,010	1351	α -cubebeno	0,68
5	25,304	1378	β -burboneno	0,16
6	25,537	1379	β -elemeno	1,27
7	25,659	1391	Copaeno	0,05
8	26,105	1409	α -gurjuneno	2,12
9	26,414	1418	β -cariofileno	4,66
10	26,704	1422	Isogermacreno D	0,21
11	26,804	1423	β -gurjuneno	0,03
12	26,880	1437	Cadinadieno	0,07
13	27,016	1440	Aromadendreno	0,77
14	27,153	1441	Eudesmadieno	0,07
15	27,373	1451	Desidroisolongifoleno	0,09

16	27,471	1454	α -humuleno	0,97
17	27,700	1461	allo-aromadendreno	2,17
18	28,186	1477	γ -muuroleno	1,73
19	28,324	1480	Germacreno D	0,38
20	28,483	1485	β -selineno	0,28
21	28,550	-	NI	0,38
22	28,655	1487	Biciclosesquifelandreno	0,25
23	28,801	1494	Biciclogermacreno	3,23
24	28,917	1499	α -muuroleno	4,02
25	29,048	-	NI	0,21
26	29,336	1512	γ -cadineno	4,95
27	29,482	1515	Khusinol	0,24
28	29,607	1524	δ -cadineno	5,66
29	30,017	1534	α -cadineno	1,09
30	30,179	1548	β -calacoreno	0,54
31	30,227	1521	Calameneno	0,53
32	30,332	-	NI	0,12
33	30,458	1546	Óxido de cariofileno	0,48
34	30,589	1560	Germacreno B	0,04
35	30,672	-	NI	0,16
36	30,770	1564	γ -calacoreno	0,74
37	30,906	1569	Palustrol	1,09
38	31,026	1570	Epóxido de calareno	0,14
39	31,212	1575	Espatulanol	4,95
40	31,385	1576	Globulol	3,63
41	31,618	1590	Viridiflorol	2,45
42	31,846	1594	Óxido de di-epi-cedreno	0,44

43	31,942	1595	Ledol	2,34
44	32,108	1607	Epóxido de humuleno	0,37
45	32,265	1608	Di-epi-cubenol	1,09
46	32,502	1610	β -acoradienol	0,55
47	32,637	1613	Epi-cubenol	1,66
48	32,801	-	NI	0,13
49	33,048	1642	T-muurolol	11,78
50	33,162	-	NI	3,49
51	33,427	1652	α -cadinol	11,38
52	33,516	1655	Calamenenol	0,80
53	33,696	-	NI	0,76
54	33,753	1661	Calamenenol	1,12
55	33,921	-	NI	0,58
56	34,192	-	NI	0,46
57	34,286	1685	Muurolenona	0,26
58	34,385	1687	Shyobunol	1,78
59	34,586	-	NI	0,33
60	34,680	1691	Calamenenona	0,27
61	34,785	-	NI	0,61
62	34,978	-	NI	0,43
Total				91,62
Total de identificados				83,96

Fonte: Autor.

Os compostos encontrados na composição química do óleo essencial da *Eugenia pohliana* corroboram o estudo de Henriques et al. (1993), onde seis espécies pertencentes ao gênero *Eugenia* apresentam compostos do grupo dos monoterpenos e sesquiterpenos, são eles: limoneno, α -cadineno, muurolenona, globulol, γ -cadineno, viridiflorol, calamenenol e t-muurolo. A maioria das plantas produtoras de óleos essenciais, possuem em sua composição química a presença de compostos pertencentes aos sesquiterpenos. No trabalho de Lemos,

(1995), o óleo essencial extraído das folhas de *Mombim L.*, *S. purpurea L.*, *S. tuberosa* arr. e *S. cytherea* sonn apresentaram compostos químicos como, β -cariofileno, δ -cadineno e T-muurolol.

A maioria das plantas produtoras de óleos essenciais possuem sesquiterpenos em sua composição, a exemplo do trabalho de Lemos (1995), em que os óleos essenciais extraídos das folhas de *Spondias mombin L.*, *S. purpurea L.*, *S. tuberosa* Arr. e *S. cytherea* Sonn apresentaram como constituintes β -cariofileno, δ -cadineno e T-muurolol.

O β -cariofileno foi o composto majoritário encontrado no estudo de Almeida et al. (2017). Este composto apresenta atividade antiúlcera, a qual se deve adicionalmente ao seu efeito sinérgico com o δ -cadineno, torreiol e T-muurolol, presentes no óleo essencial da espécie *Spondias purpurea L.* (Anacardiaceae). Esses achados estão em consonância com o estudo de Rozza et al. (2013), no qual foi verificado que vários óleos essenciais apresentam atividade gastroprotetora ou antiulcerogênica, devido à presença de β -cariofileno e biciclogenacremo.

5.2 TOXICIDADE AGUDA

O teste de toxicidade aguda tem por finalidade determinar se algumas substâncias apresentam caráter nocivo para o organismo vivo. Além disso, o teste proporciona subsídios para definir a dose segura a ser testada nas atividades farmacológicas. Os animais foram tratados com uma dose única 2000 mg/kg (v.o) do OEEP e observados durante os 14 dias de experimento.

A Tabela 2 mostra os valores de consumo de água, ração e ganho ponderal após 14 dias de experimento e foi possível constatar que o OEEP não causou alterações significantes, uma vez que não mostra diferença estatística em relação ao grupo controle tratado com solução Tween 80.

Após o término dos experimentos, os órgãos foram coletados, analisados macroscopicamente e histologicamente, e ambas as análises não apresentaram sinais de danos aos órgãos dos grupos analisados (Tabela 3).

Tabela 2. Efeito do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* (OEEP) sobre o consumo de água, ração e peso corporal em camundongos após os 14 dias da administração oral da dose única de 2.000 mg/kg.

Parâmetros	TRATAMENTO	
	Controle (Solução H ₂ O/Tween 80 1%)	OEEP (2.000 mg/kg)
Consumo de ração (g)	31,67 ± 5,65	24,8 ± 4,11
Consumo de água (mL)	42,69 ± 9,54	36,38 ± 8,13
Massa inicial (g)	41,2	34,4
Massa final (g)	43,2	35,6
Ganho de Massa (%)	4,6%	3,2%

Fonte: Autor.

Tabela 3. Efeito do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* (OEEP) sobre o índice de órgãos após os 14 dias da administração oral da dose única de 2.000 mg/kg.

TOXICIDADE		
Órgãos (g)	Controle (Solução H ₂ O/ Tween 80 1%)	OEEFp (2.000 mg/kg)
Fígado	0,056344307 ± 0,004	0,052557111 ± 0,005
Rins	0,01028507 ± 0,002	0,012400257 ± 0,001
Baço	0,005209219 ± 0,002	0,00456435 ± 0,001
Pulmão	0,004276522 ± 0,002	0,004479891 ± 0,001

Fonte: Autor.

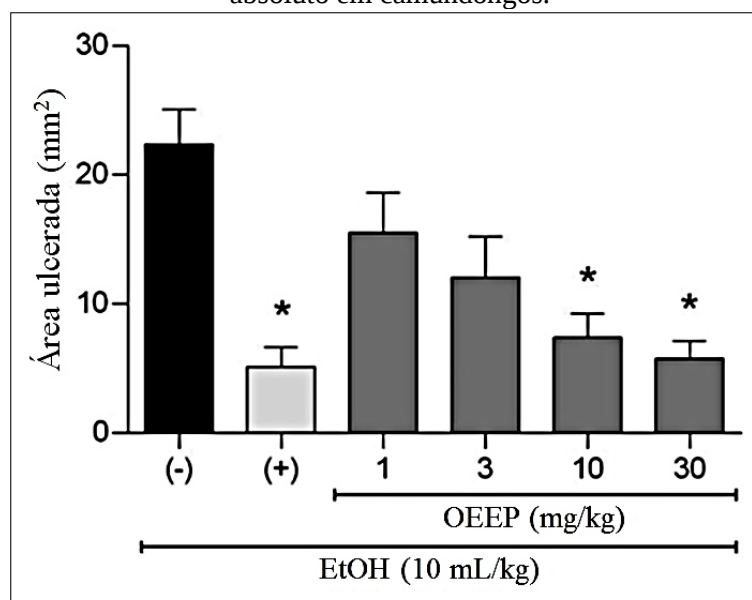
5.3 ATIVIDADE GASTROPROTETORA

5.3.1 Úlcera Gástrica Induzida por Etanol Absoluto

O primeiro método farmacológico para avaliar se o OEEP tem efeito gastroprotetor foi o modelo de etanol absoluto em camundongos. A partir deste modelo, foi escolhida a melhor dose a ser testada nos modelos experimentais. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento com OEEP nas doses de 1, 3, 10 e 30 mg/kg foi capaz de reduzir a lesão gástrica, respectivamente, em 30,64%, 46,16%, 67,00% e 74,24%, quando comparados ao grupo controle. O OEEP diante da lesão gástrica induzida pelo etanol foi capaz de reduzir o dano

gástrico significativamente nas doses de 10 e 30 mg/kg (Figuras 5 e 6). O lansoprazol também foi capaz de reduzir a lesão gástrica em 77,14%.

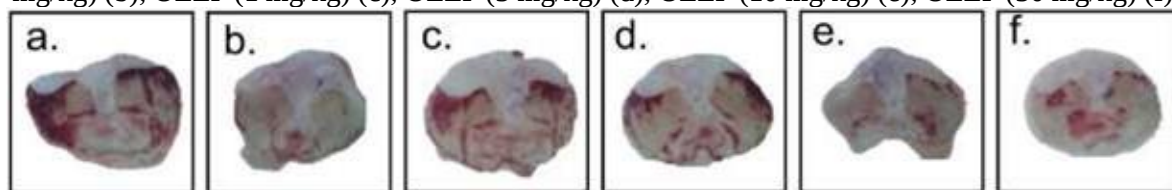
Figura 5. Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 6. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Tween 80 (controle negativo) (a), (lansoprazol (30 mg/kg) (b), OEEP (1 mg/kg) (c), OEEP (3 mg/kg) (d), OEEP (10 mg/kg) (e), OEEP (30 mg/kg) (f).



Fonte: Autor.

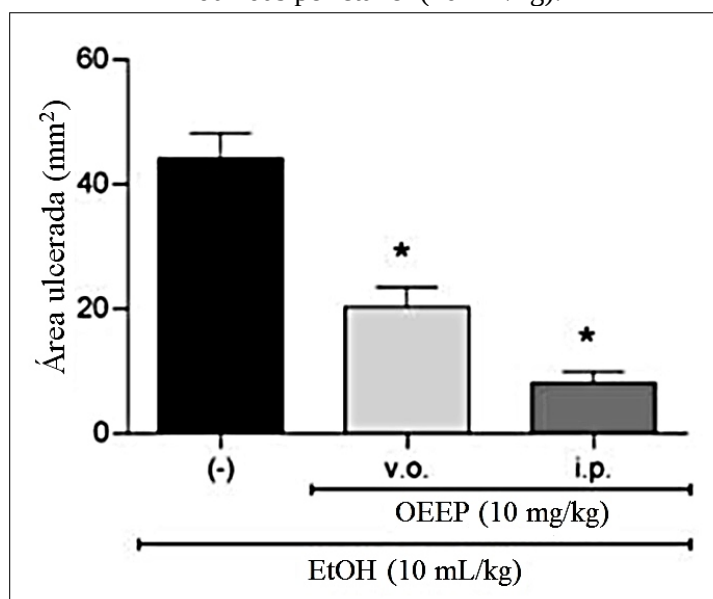
O modelo de indução por etanol absoluto é bastante utilizado em experimentação animal, uma vez que o alto consumo de álcool é considerado uma das principais causas de lesão à mucosa gástrica, assim este modelo tem por finalidade desvendar possíveis compostos gastroprotetores. A lesão gástrica pelo etanol caracteriza-se por apresentar pontos hemorrágicos ao logo da porção glandular do estômago, além de causar a ruptura do sistema vascular endócrino, elevação da permeabilidade vascular e formação de edema (TSUI et al., 1998; MOUSA et al., 2019).

A patogênese da lesão gástrica induzida por etanol absoluto está associada ao desequilíbrio entre os processos celulares oxidantes e antioxidantes da mucosa gástrica. A geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, peroxidação lipídica e a diminuição dos níveis de glutathione são os principais fatores responsáveis pelo surgimento desta lesão (FARIA et al., 2012; ALIREZAEI et al., 2012).

5.3.2 Avaliação do Efeito de Barreira Física

O teste de barreira física mostrou a eficácia do OEEP (10 mg/kg), por via enteral e parenteral, no efeito gastroprotetor. Os resultados do pré-tratamento com OEEP indicaram redução da área de lesão ulcerativa de 54% via oral e 82% por via intraperitoneal em relação ao grupo controle negativo (Figuras 7 e 8).

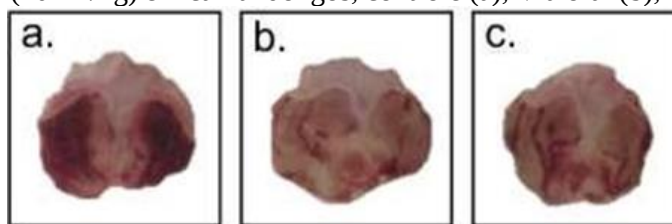
Figura 7. Estômagos pré-tratados com o OEEP por via oral e intraperitoneal sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (10 mL/kg).



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 8. Estômagos pré-tratados com o OEEP por via oral e intraperitoneal sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (10mL/kg) em camundongos, controle (a), Via oral (b), OEEP (10 mg/kg) (c).



Fonte: Autor.

No teste de barreira física, não houve diferença estatística entre as vias de administração. Deste modo, os resultados indicam que o OEEP tem efeito na proteção gástrica por ação local e sistêmica, não estando associado à formação de uma barreira física protetora, visto que houve uma redução no índice de lesão ulcerativa por via parenteral, descartando, assim, a possibilidade do efeito gastroprotetor ser decorrente da formação de um filme protetor na mucosa, semelhante ao reportado por Vidal et al. (2017) para o óleo essencial do *Croton rhamnifollioides*.

A administração oral ou enteral é considerada uma das formas mais seguras e econômicas de administração dos fármacos. Os medicamentos podem ser ingeridos por deglutição ou colocados na região da língua ou bochechas, proporcionando uma absorção direta na circulação sanguínea. Já a via de administração parenteral é um método que introduz o fármaco diretamente na corrente sanguínea e tem como finalidade facilitar a biodisponibilidade dos fármacos (WHALEN; FINKEL; PANAVELIL, 2016).

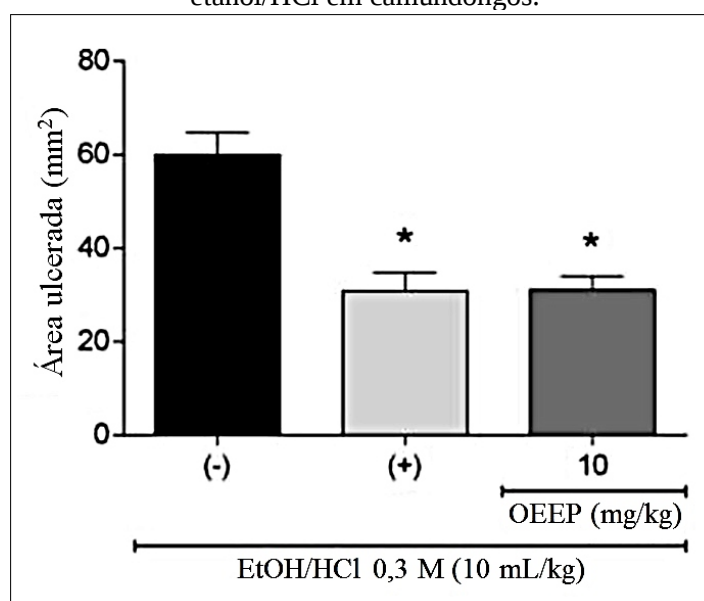
Os fármacos utilizados no tratamento dos distúrbios gastrointestinais atuam tanto por via local (antiácido) como por absorção via (endovenosa), antagonista dos receptores H₂ e inibidores da bomba de prótons (PARRAH et al., 2013). Assim, foi possível observar que a administração do OEEP não apresentou diferença estatística, indicando que o efeito gastroprotetor ocorreu em ambas as administrações.

Alguns derivados de plantas medicinais, como óleos essenciais e extratos, possuem a capacidade de formar uma barreira física protetora. Isso se dá devido à capacidade dos óleos essenciais formarem um filme ou película hidrossolúvel. Enquanto os polifenóis, principalmente os taninos, precipitam as proteínas do muco gástrico e formam um filme protetor. A formação desta barreira protetora atua impedindo a absorção de substâncias tóxicas (BRITO et al., 2020).

5.3.3 Úlcera Gástrica Induzida por Etanol Acidificado

O pré-tratamento oral com o OEEP na dose de (10 mg/kg) reduziu a área de lesão ulcerativa (ALU) em 48,18% em comparação ao controle. O grupo que recebeu a administração de etanol/HCl 0,3 M apresentou uma área de lesão igual a 59,94%, enquanto o percentual do lansoprazol foi de 48,99% (Figuras 9 e 10).

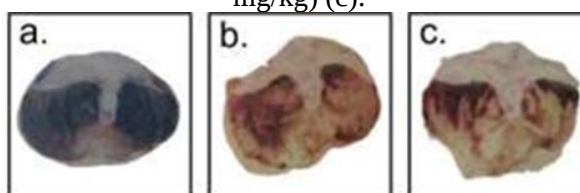
Figura 9. Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol/HCl em camundongos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 10. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Controle (a), lansoprazol 30 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c).



Fonte: Autor.

A lesão gástrica causada pelo etanol/HCl é o modelo que mais se assemelha a gastrite aguda em humanos (HSU; CHU; LIU, 2009). O HCl é responsável por causar danos severos à mucosa, enquanto o etanol caracteriza-se por apresentar lesões necróticas com a presença de hemorragias. Deste modo, o dano gástrico causado pelo etanol/HCl afeta diretamente a

camada protetoras da mucosa gástrica, como a secreção de bicarbonato e a produção de muco (ALRASHID et al., 2012).

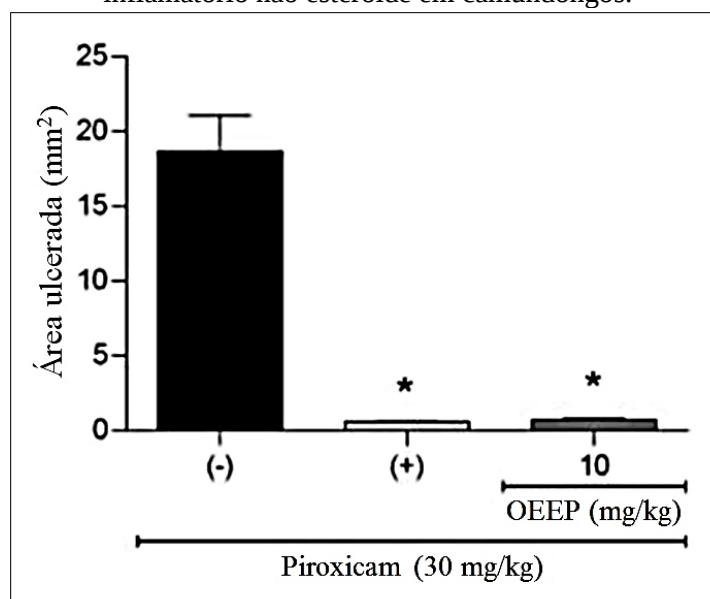
Os efeitos do dano gástrico pelo etanol/HCl estão intimamente relacionados com as funções desempenhadas pelo organismo, como peroxidação lipídica, formação de radicais livres, estresse oxidativo intracelular e mudanças na permeabilidade (OLALEYE et al., 2007).

O OEEP mostrou resultados satisfatórios diante da lesão gástrica induzida por etanol/HCl quando comparados ao grupo controle. Resultados semelhantes com aplicação de óleos essenciais na lesão gástrica induzida por etanol/HCl também foram demonstrados nos trabalhos de Pereira et al. (2017) e Caldas et al. (2011).

5.3.4 Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório Não Esteroide

A administração subcutânea de piroxicam (30 mg/kg) foi capaz de produzir uma lesão gástrica de 18,65% no grupo controle. Os animais pré-tratados com OEEP na dose de 10 mg/kg reduziu o dano gástrica em 96,30% quando comparados ao grupo controle. Os animais pré-tratados com ranitidina (60 mg/kg), controle positivo, tiveram as lesões inibidas em 96,80%. Os resultados indicam que o OEEP reduziu significativamente as lesões gástricas quando comparado ao grupo controle (Figuras 11 e 12).

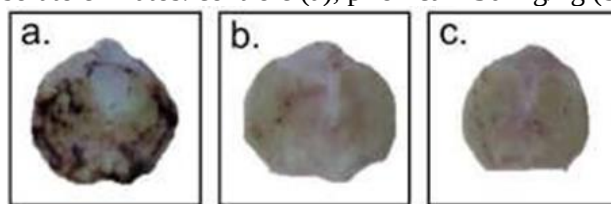
Figura 11. Efeito do pré-tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por anti-inflamatório não esteroide em camundongos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 12. Estômagos de camundongos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. controle (a), piroxicam 30 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c).



Fonte: Autor.

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são medicamentos comumente utilizados, por suas ações analgésicas, anti-inflamatória e antipirética no tratamento de doenças inflamatórias, artrite reumatoide, osteoartrite, distúrbios cerebrovasculares isquêmicos e no tratamento de câncer (PARK et al., 2014). No entanto, a utilização dos AINEs por longo prazo pode desencadear complicações clínicas graves no trato gastrointestinal, incluindo sangramentos, lesões agudas, úlceras gástricas e até mesmo perfurações (KWIECIEN et al., 2015).

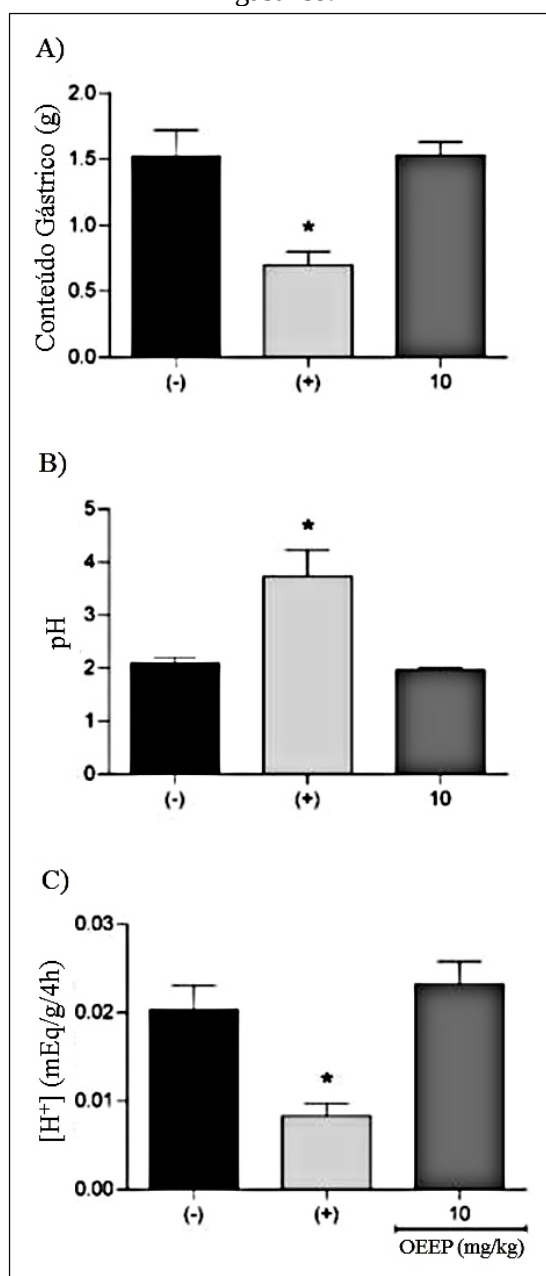
Os AINEs seguem sua trajetória atravessando a camada de muco até atingir as células epiteliais, onde se tornam ionizados no meio ácido do estômago além de exercerem o processo sistêmico de inibição da cicloxigenase (COX), enzima responsável pela síntese de prostaglandinas. A diminuição nos níveis de prostaglandinas na mucosa gástrica é considerada o fator agravante para o surgimento de lesões gástricas induzidas por AINEs (KWIECIEN et al., 2015; WU et al., 2018).

A lesão causada por AINEs no epitélio gástrico caracteriza-se, pela diminuição das substâncias protetoras da mucosa gástrica, como muco e HCO_3^- (WATANABE et al., 2020). Os danos causados nos vasos sanguíneos pela inflamação comprometem a microcirculação, levam à ativação de plaquetas e neutrófilos e causam o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs), além de interferir no funcionamento da permeabilidade vascular.

5.3.5 Determinação da Secreção de Ácido Gástrico

O pré-tratamento intraduodenal com ranitidina (60 mg/kg) e o OEEP (10 mg/kg), apresentou redução dos níveis de conteúdo de secreção gástrica de 54,10% e 0,52%); do pH em 77,90 % e 93,77%, e do nível de acidez total em 59,26% e 14,26%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle (Figura 13).

Figura 13. Efeito do pré-tratamento por via intraduodenal do OEEP sobre os parâmetros do suco gástrico.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

A gastrina é um hormônio peptídeo que estimula a secreção de ácido clorídrico e estimula a motilidade do estômago. Este modelo tem por finalidade avaliar os parâmetros bioquímicos da secreção ácida gástrica, como pH, íons de hidrogênio e conteúdo gástrico, a fim de investigar a possível atividade antissecretória do OEEP. A gastrina é um importante hormônio peptídeo responsável por estimular a secreção de ácido clorídrico, além de atuar na motilidade do estômago (WALDUM et al., 2014). Após a ligadura do piloro, os estômagos

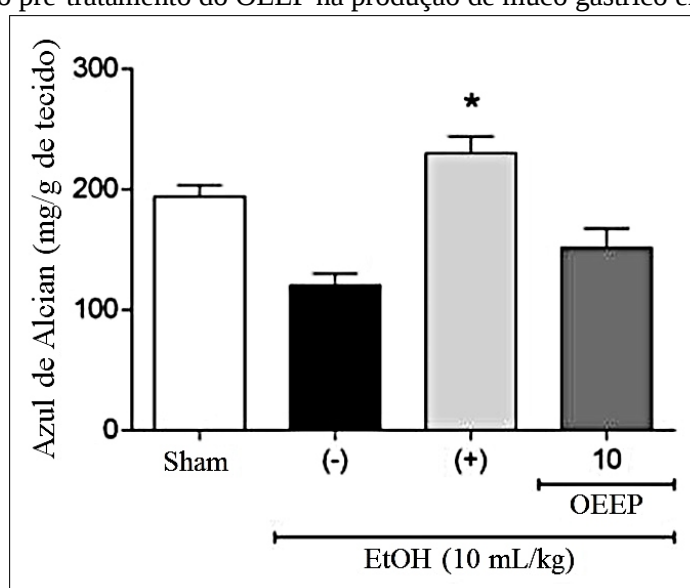
dos animais ficam totalmente dilatados, isso se deve a ação da acetilcolina, a qual promove o aumento da pressão sobre os receptores sensíveis da mucosa gástrica antral, sendo assim ativa o reflexo vago-vagal e estimula o aumento da secreção gástrica (RASTOGI; PATNAIK; DIKSHIT, 1998).

A administração do OEEP (10 mg/kg) não foi capaz de aumentar o pH gástrico, sendo assim não houve diminuição do conteúdo gástrico e acidez total do estômago. Esses resultados sugerem que a ação inibitória da secreção de ácido gástrico não tem envolvimento na atividade gastroprotetora do OEEP. O pré-tratamento com ranitidina (60 mg/kg) diminuiu o conteúdo gástrico, elevou o pH e reduziu a acidez gástrica, conforme esperado.

5.3.6 Quantificação da Concentração de Muco na Mucosa Gástrica

Os animais que receberam o etanol (10 mL/kg) mostraram uma redução significativa na quantidade de muco gástrico (38,24% de *Alcian blue*/g de tecido) quando comparado ao grupo controle não lesado (Sham) (61,07% de *Alcian blue*/g de tecido), conforme Figura 14. O pré-tratamento com o OEEP na dose de 10 mg/kg foi capaz de aumentar o nível de muco gástrico 25,89% de *Alcian blue*/g de tecido) em comparação ao grupo controle lesionado. O tratamento com a carbenoxolona 200 mg/kg aumentou significativamente a produção do muco gástrico (90,54% de *Alcian blue*/g de tecido).

Figura 14. Efeito do pré-tratamento do OEEP na produção de muco gástrico em estômagos de ratos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

O muco atua como uma barreira protetora da mucosa gástrica contra agentes ofensivos (bactérias e partículas estranhas) (ABDULKARIM; SHARMA; GUMBLETON, 2019) e a fisiopatologia da úlcera gástrica está intimamente associada à depleção da produção de muco gástrico (MORAES et al., 2009). No presente estudo, o OEEP não atuou aumentando a secreção de muco quando comparado ao grupo controle. Trabalhos semelhantes também associam a atividade gastroprotetora de alguns óleos essenciais ao aumento da produção de muco gástrico (SANTIN et al., 2011; TAKAYAMA et al., 2011; CALDAS et al., 2014).

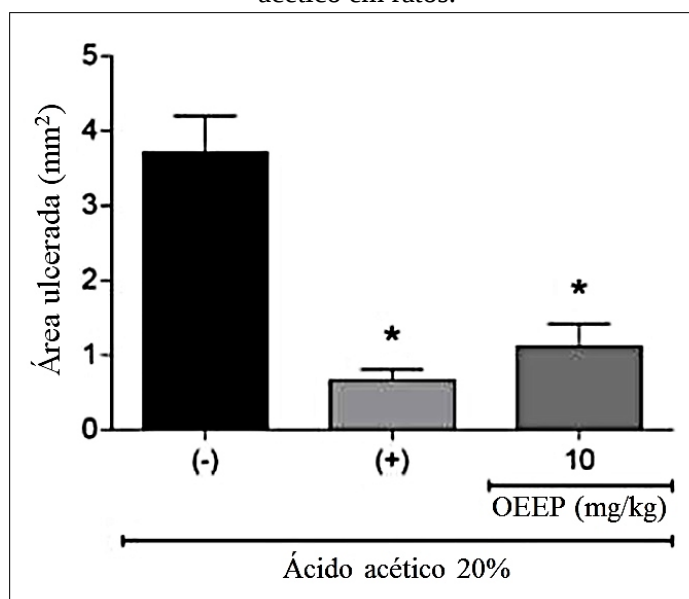
O aumento da secreção de muco é um fator importante para a mucosa gástrica, uma vez que ele desempenha função antioxidante e é capaz de reduzir os danos gástricos, ocasionados pela presença de espécies reativas de oxigênio (SANTIN et al., 2010).

5.3.7 Úlcera Gástrica Crônica Induzida por Ácido Acético

A administração de ácido acético 20% (0,5 mL) na camada serosa do estômago induziu uma lesão gástrica de 96,28%. A administração do OEEP (10 mg/kg), durante 14 dias consecutivos, reduziu significativamente as lesões ulcerativas crônicas em 70% quando comparado ao grupo controle negativo. Os animais que receberam ranitidina (60 mg/kg) como controle positivo apresentaram 82% de redução da lesão gástrica, conforme observado nas Figuras 15 e 16.

O tratamento oral do OEEP (10 mg/kg) foi capaz de promover a cicatrização da lesão gástrica causada pelo ácido acético em ratos (Figura 17). O dano gástrico causado após a indução por ácido acético é responsável pelo desequilíbrio das substâncias protetora da mucosa gástrica, ocasionando lesões crônicas (SILVA et al., 2013).

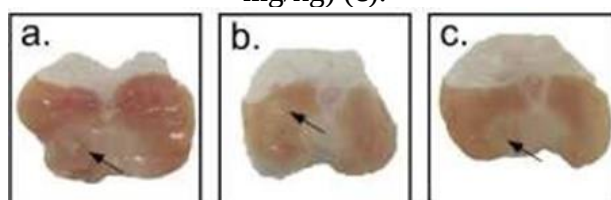
Figura 15. Efeito do tratamento por via oral do OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por ácido acético em ratos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 16. Estômagos de ratos pré-tratados por via oral com OEEP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. Controle (a), ranitidina 60 mg/kg (b), OEEP (10 mg/kg) (c).



Fonte: Autor.

A indução de úlcera gástrica por ácido acético é considerada o método que mais se assemelha a lesão gástrica crônica em humanos, devido suas características patológicas e cicatrizantes (YANG et al., 2018). A patologia da lesão por este agente ocorre de maneira inversa, inicia-se da camada serosa para a mucosa, diferente das lesões gástricas habitualmente encontradas, onde o processo inflamatório tem início da mucosa para a camada serosa.

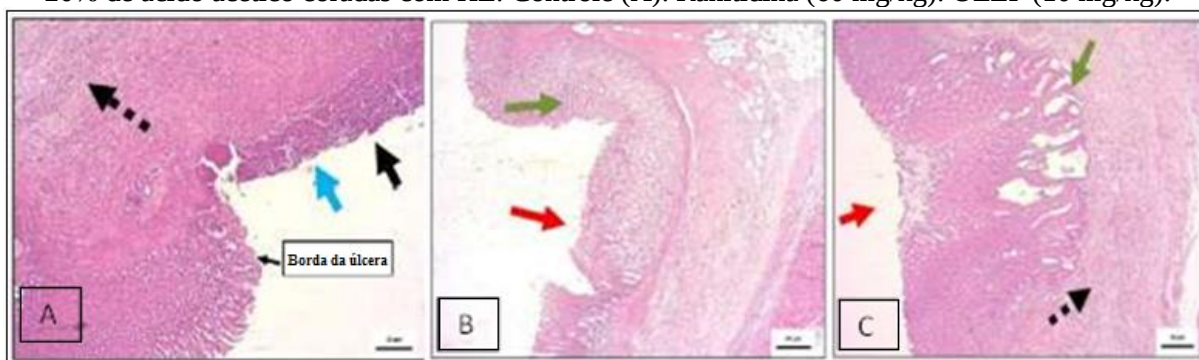
A lesão está intimamente associada à depleção nos fatores protetores da mucosa gástrica, como prostaglandinas, muco, óxido nítrico e citocinas (VIANA et al., 2019). Esse modelo tem sido excessivamente usado, não só para estudar suas características fisiopatológicas, mas também por que é um método que está atrelado ao processo de

cicatrização que consiste em inflamação, migração celular, proliferação, re-epitelização, angiogênese e deposição de matriz (UCHIDA; SHIMIZU; KURAKAZU, 2010).

As úlceras produzidas pelo ácido acético são profundas e arredondadas, localizadas na região do estômago ou no duodeno. A lesão torna-se crônica a partir 2-3 dias após a indução e podem ser tratadas no período de 2-3 semanas sem que haja complicações sérias, como perfurações ou aderência dos órgãos (ALMASAUDI et al., 2017). Os estômagos foram analisados histologicamente utilizando a coloração hematoxilina e eosina (HE). Esta técnica tem por finalidade averiguar o processo de cicatrização das camadas da mucosa gástrica, após o dano causado pela indução do ácido acético.

A coloração com HE apresentou lesão de úlcera bem definida, com a camada mucosa e submucosa totalmente destruída pelo ácido acético no controle lesionado. Os estômagos tratados com o OEEP (10 mg/kg) e ranitidina (60 mg/kg) demonstraram a regeneração do epitélio da mucosa das fossetas gástricas, juntamente com suas glândulas gástricas (Figura 17).

Figura 17. Fotomicrografias da mucosa gástrica dos ratos submetidos à indução de úlcera crônica em 20% de ácido acético coradas com HE. Controle (A). Ranitidina (60 mg/kg). OEEP (10 mg/kg).



Os animais foram tratados via oral com solução de Tween 80 /Água (controle lesionado). A figura (A) representação da úlcera, ausência da camada epitelial (área da úlcera interna), a seta tracejada preta indica a camada epitelial restante (borda da úlcera). Figura (B) processo de reepitelização das camadas gástricas. Figura (C) epitélio formado.

Fonte: Autor.

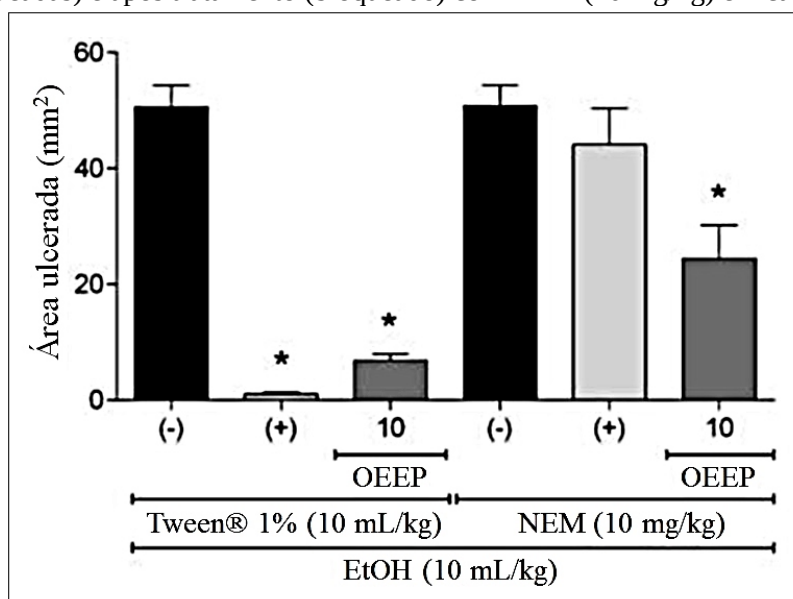
Os estômagos foram observados histologicamente, através da coloração de HE, e foi possível identificar a presença de lesões severas, que causaram a destruição total das camadas do estômago, após a indução da úlcera por ácido acético (controle negativo). No controle positivo, ranitidina (60 mg/kg) e OEEP (10 mg/kg) promoveram uma redução acentuada de danos, quando comparados ao grupo controle (Figura 17). Estudos semelhantes com aplicações de óleos essenciais em lesões gástricas induzidas por ácido acético são descritos por Mei et al. (2013) e Viana et al. (2019).

Os resultados histológicos comprovaram que, além do OEEP (10 mg/kg) exercer função de proteção da mucosa contra lesões gástricas crônicas, também acelerou o processo de cicatrização. Este é o primeiro estudo que evidencia o efeito cicatrizante do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana*.

5.3.8 Avaliação da Participação dos Grupamentos Sulfrídricos na Gastroproteção

A administração do NEM agravou as lesões gástricas induzidas pelo etanol em 86,80%, em comparação com os efeitos nos grupos pré-tratados com solução de Tween 80/água. O OEEP (10 mg/kg) reduziu as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol absoluto na presença do NEM, assim como na ausência desse bloqueador também houve redução significativa da lesão. Este resultado sugere que o efeito gastroprotetor do OEEP está envolvido parcialmente com a via do grupamento sulfidrílico (Figuras 18 e 19).

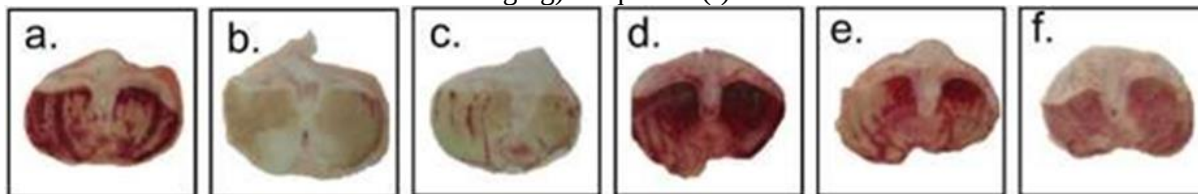
Figura 18. Efeito da administração oral do OEEP sobre lesões gástricas induzidas por etanol antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com NEM (10 mg/kg) em camundongos.



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 19. Estômagos de camundongos pré-tratados com OEEP (10mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol (10m/g) antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com N-etilmaleimida (NEM) (10 mg/kg). Controle (10 ml/g) (a), Carbenoxolona (100 mg/kg) (b), OEEP (10 mg/kg) (c), Controle (10 ml/g) bloqueado (d), Carbenoxolona (100 mg/kg) bloqueado (e), OEEP (10 mg/kg) bloqueado (f).



Fonte: Autor.

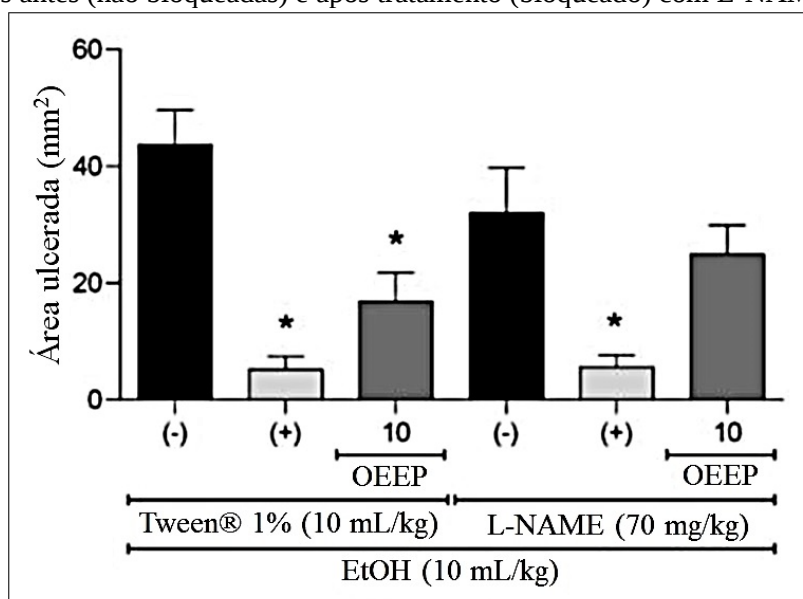
Os compostos de sulfidril não proteicos (GSH) são agentes de extrema importância na regulação e proteção da mucosa gástrica, eles desempenham funções imunológicas que envolvem a síntese e degradação de proteínas, além disso, estão envolvidos nos processos de manutenção da estrutura proteica. Deste modo, exerce importante função contra agentes nocivos (ARECHE et al., 2020). Geralmente, a indução de um dano gástrico leva a uma diminuição na concentração dos compostos sulfidril, devido sua ligação com os radicais livres formados após a presença de agentes nocivos na mucosa. Estudos relatam que os compostos de sulfidril não proteicos estão envolvidos na eliminação de derivados de oxigênio (ARRUDA et al., 2009).

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com o OEEP na presença ou ausência do bloqueador de sulfidril (NEM) foi capaz de proteger a mucosa gástrica contra os danos causados pelo etanol absoluto. O GSH é um importante antioxidante responsável pela proteção da mucosa gástrica (ROZZA et al., 2011).

5.3.9 Avaliação da Participação do Óxido Nítrico na Gastroproteção

A administração do N ω -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) agravou as lesões gástricas induzidas pelo etanol em 82,3% quando comparadas ao grupo controle pré-tratado com solução (Tween 80/Água). O OEEP (10 mg/kg, v.o.) e carbenoxolona (100 mg/kg, v.o.) reduziram significativamente as lesões gástricas induzidas pelo etanol absoluto nos grupos não bloqueados. Já na presença do bloqueador (L-NAME), o OEEP perde sua eficácia, sugerindo que o efeito antiulcerogênico do OEEP depende da via de óxido nítrico, para atuar na proteção da mucosa gástrica contra danos nocivos.

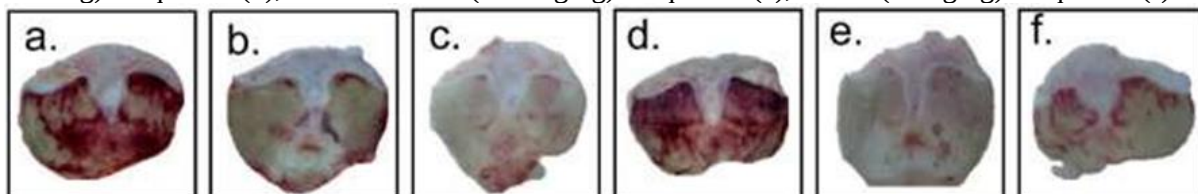
Figura 20. Efeito da administração oral do OEEP sobre lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com L-NAME (70 mg/kg).



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), * $p < 0,05$.

Fonte: Autor.

Figura 21. Estômagos de camundongos pré-tratados com o OEEP (10 mg/kg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol (10 ml/g) antes (não bloqueadas) e após tratamento (bloqueado) com L-NAME (70 mg/kg). Controle (10 ml/g) (a), carbenoxolona (100 mg/kg) (b), OEEP (10mg/kg) (c), controle (10 ml/g) bloqueado (d), carbenoxolona (100 mg/kg) bloqueado (e), OEEP (10mg/kg) bloqueado (f).



Fonte: Autor.

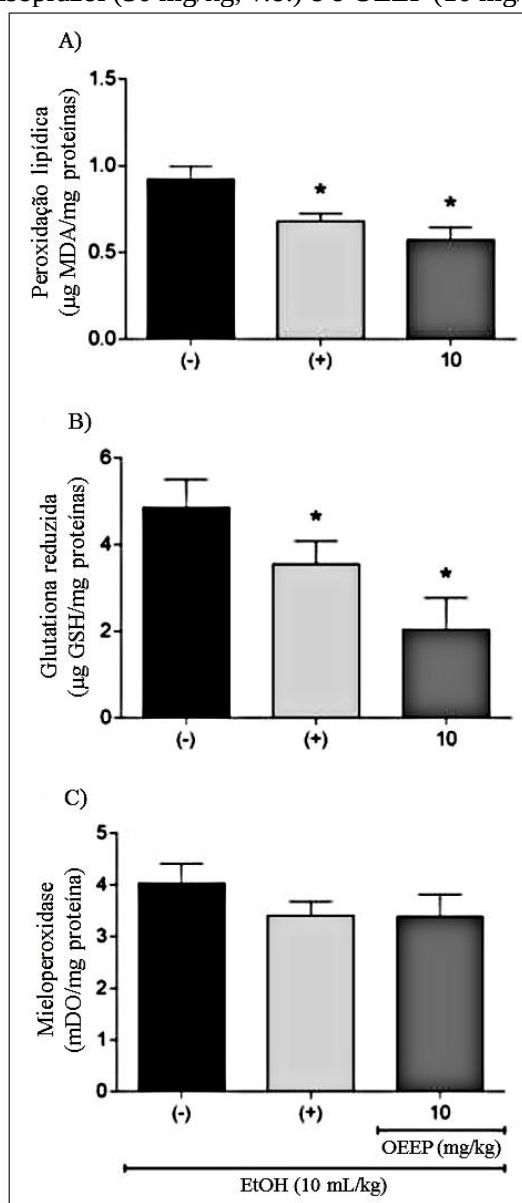
O óxido nítrico (NO) é uma peça chave na manutenção e proteção da mucosa gástrica (OLIVEIRA et al., 2012). É sintetizado pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) a partir do oxigênio (O₂) e da L-arginina e desempenha importantes funções na regulação do fluxo sanguíneo, manutenção dos tônus vascular e secreção de muco gástrico (CALDAS et al., 2014). Além disso, o NO está envolvido na modulação da integridade do estômago, através da interação com as prostaglandinas (MARTINS et al., 2014).

Na mucosa gástrica, o NO atua promovendo a vasodilatação e redução da peroxidação lipídica, além de exercer efeito anti-inflamatório nos tecidos (BARBOSA et al., 2019). Nossos resultados mostraram que a inibição da síntese de NO pelo bloqueador (L-NAME)

interferiu no efeito gastroprotetor do OEEP, sugerindo que o óleo depende do mecanismo de ação do óxido nítrico.

5.3.10 Avaliação do papel do estresse oxidativo no efeito gastroprotetor do óleo essencial de *Eugenia pohliana*

Figura 22. Atividade da peroxidação lipídica, (μg MDA/mg de proteína) glutathiona reduzida (μg GSH/mg de proteína) e mieloperoxidase (MPO) (mDO / mg de proteína), em estômagos de camundongos com úlcera gástrica induzida por etanol após tratamento de com tween 80 (veículo), lansoprazol (30 mg/kg, v.o.) e o OEEP (10 mg/kg).



Os resultados estão expressos em média $\pm$ d.p. de 6 animais, utilizando a análise de variância (ANOVA); seguido do teste de múltiplas comparações de Tukey, comparado ao controle negativo (-), *p<0,05.

Fonte: Autor.

O óleo essencial de *Eugenia pohliana* atuou diminuindo a peroxidação lipídica, através da redução dos níveis de malondialdeído (MDA). Assim como reduziu significativamente os níveis de GSH, quando comparado ao grupo controle negativo. O marcador inflamatório MPO não apresentou significância estatística comparado ao grupo negativo.

O excesso de álcool no organismo pode desencadear danos a mucosa gástrica. No entanto, as consequências dessa exposição afetam diretamente os mecanismos subjacentes, ocasionando o estresse oxidativo. O papel do estresse oxidativo pode ser medido através dos marcadores bioquímicos, como malondialdeído (MDA), glutatina reduzida (GSH) e mieloperoxidase (MPO) (BHATTACHARYYA et al., 2014).

A Peroxidação lipídica se origina em condições de estresse e possui a capacidade de interagir com múltiplas moléculas, como proteínas e DNA. O aumento na produção de MDA está associado ao surgimento de vários estados patológicos (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014).

A GSH é um importante marcador bioquímico envolvido no mecanismo de manutenção da integridade da mucosa gástrica. A depleção nos níveis de glutatona induz lesões ulcerativas macroscópicas na mucosa. A diminuição da GSH afeta diretamente as atividades das enzimas GPx e GST, uma vez que elas são dependentes do GSH (DEVI et al., 2007).

Os neutrófilos ativados são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, fatores cruciais na patogênese das lesões gástricas. O excesso de neutrófilos nos tecidos injuriados da mucosa gástricas podem ser avaliados através da atividade mieloperoxidase (MPO), um marcador oxidativo, pertencente à família peroxidase, encontrado nas células mieloides, como neutrófilos e monócitos, e caracteriza-se principalmente por ser marcador específico de neutrófilos (SHANG et al., 2017).

5.3.11 Avaliação da Atividade Anti-*Helicobacter pylori*

O OEEP mostrou-se eficaz na atividade Anti-*Helicobacter pylori* com concentração mínima inibitória (CMI = 0,001%) e concentração mínima bacteriana (CMB= 0,01%). Inibiu cerca de 45% da urease em todas as concentrações. A amoxicilina e metronidazol foram utilizados como controles positivos na CMI.

A urease é um fator importante no processo patológico induzido pela *H. pylori*. Ela desempenha função de iniciar a hidrólise da ureia, produzindo amônia, essa amônia vai atuar

neutralizando o ácido do estômago e esse processo eleva o pH e torna o ambiente favorável para a sobrevivência e colonização da *H. pylori* (Zhou et al., 2017). A infecção gástrica causada pela *H. pylori* é uma doença comumente encontrada em mais da metade da população em todo o mundo. Sua etiologia inclui úlcera péptica, gastrite, câncer gástrico e dispepsia funcional (KORONA et al., 2020).

O tratamento da infecção por *H. pylori* geralmente inclui os antimicrobianos: metronidazol, amoxicilina, tetraciclina e claritromicina, quase sempre associados aos inibidores da bomba de prótons. Embora existam muito medicamentos para a erradicação da *H. pylori*, a maioria deles podem desencadear muitos efeitos adversos (KOUITCHEU et al., 2017). O crescimento na resistência a antibióticos por *Helicobacter pylori* é um dos principais problemas frequentemente encontrados na terapia da doença (TANIH et al., 2010).

Desta forma, a procura por métodos alternativos que possa erradicar ou prevenir a infecções se torna uma busca cada vez mais frequente. Alguns estudos relatam a utilização de derivados vegetais no combate a infecção causada por *H. pylori* (COGO et al., 2010; HAJIMAHMOODI et al., 2011; KORONA et al., 2020).

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados alcançados nesta pesquisa, pode-se inferir que:

O óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* apresenta notáveis propriedades protetoras e cicatrizantes na mucosa gástrica, efetivamente inibindo a formação de úlceras agudas e crônicas induzidas por diversos agentes ulcerogênicos, como etanol absoluto, etanol HCl, piroxicam e ácido acético. Além disso, os mecanismos subjacentes às ações preventivas do OEEP foram minuciosamente elucidados, incluindo sua capacidade de influenciar os parâmetros do estresse oxidativo. Um achado adicional relevante é a comprovação de que o OEEP exibe propriedades de ação anti-*Helicobacter pylori*, contribuindo para seu potencial terapêutico.

É digno de destaque o fato de que, em meio a esses resultados promissores, o OEEP não demonstrou qualquer indício de efeitos tóxicos localizados, o que amplia ainda mais suas perspectivas terapêuticas. Tais descobertas podem ter implicações de grande relevância no avanço das terapias naturais e no desenvolvimento de possíveis medicamentos destinados a tratar condições gastrointestinais.

REFERÊNCIAS

- ABDULKARIM, M.; SHARMA, P. K.; GUMBLETON, M. Self-emulsifying drug delivery system: Mucus permeation and innovative quantification technologies. **Advanced drug delivery reviews**, v. 142, p. 62-74, 2019.
- ADAMS, R. P. et al. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2007.
- AHMED, M.; AHMED, S. Functional, diagnostic and therapeutic aspects of gastrointestinal hormones. **Gastroenterology research**, v. 12, n. 5, p. 233, 2019.
- ALIREZAEI, M.; DEZFOULIAN, O.; NEAMATI, S.; RASHIDIPOUR, M.; TANIDEH, N.; KHERADMAND, A. Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 68, n. 4, p. 583-592, 2012.
- ALMASAUDI, S. B.; ABBAS, A. T.; AL-HINDI, R. R.; EL-SHITANY, N. A.; ABDEL-DAYEM, U. A.; ALI, S. S.; HARAKEH, S. M. Manuka honey exerts antioxidant and anti-inflammatory activities that promote healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.
- ALMEIDA, C. L. F.; BRITO, S. A.; DE SANTANA, T. I.; COSTA, H. B. A.; DE CARVALHO JÚNIOR, C. H. R.; DA SILVA, M. V.; DA SILVA, T. G. *Spondias purpurea* L.(Anacardiaceae): antioxidant and antiulcer activities of the leaf hexane extract. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, 2017.
- ALRASHID, A. S.; SALAMA, S. M.; ALKIYUMI, S. S.; ABDULLA, M. A.; HADI, A. H. A.; ABDELWAHAB, S. I.; ASYKIN, N. Mechanisms of gastroprotective effects of ethanolic leaf extract of *Jasminum sambac* against HCl/ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.
- AMORIM M. M.; PEREIRA J. O.; MONTEIRO K. M.; RUIZ A. L.; CARVALHO J. E.; PINHEIRO H.; PINTADO M. Antiulcer and antiproliferative properties of spent brewer's yeast peptide extracts for incorporation into foods. **Food & function**, v. 7, n. 5, p. 2331-2337, 2016.
- ARAÚJO, D. A.; TAKAYAMA, C.; DE-FARIA, F. M.; SOCCA, E. A.; DUNDER, R. J.; MANZO, L. P.; SOUZA-BRITO, A. R. Gastroprotective effects of essential oil from *Protium heptaphyllum* on experimental gastric ulcer models in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 721-729, 2011.
- ARECHE, C.; HERNANDEZ, M.; CANO, T.; TICONA, J.; CORTES, C.; SIMIRGIOTIS, M.; SEPULVEDA, B. *Corryocactus brevistylus* (K. Schum. ex Vaupel) Britton & Rose (Cactaceae): Antioxidant, gastroprotective effects, and metabolomic profiling by ultrahigh-pressure liquid chromatography and electrospray high resolution orbitrap tandem mass spectrometry. **Frontiers in pharmacology**, v. 11, p. 417, 2020.

ARRUDA, A. P. C. C. B. N.; COELHO, R. G.; HONDA, N. K.; FERRAZOLI, C.; POTT, A.; HIRUMA-LIMA, C. A. Gastroprotective effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): involvement of sensory neurons, endogenous nonprotein sulfhydryls, and nitric oxide. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 6, p. 1411-1415, 2009.

ASMARI, A.; AL SHAHRANI, H.; AL MASRI, N.; AL FARAIID, A.; ELFAKI, I.; ARSHADUDDIN, M. Vanillin abrogates ethanol induced gastric injury in rats via modulation of gastric secretion, oxidative stress and inflammation. **Toxicology reports**, v. 3, p. 105-113, 2016.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, J. A. P.; SANTANA, M. A. N.; LEITE, T. C. C.; DE OLIVEIRA, T. B.; MOTA, F. V. B.; BASTOS, I. V. G. A.; SANTANA, A. L. B. D. Gastroprotective effect of ethyl acetate extract from *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman and underlying mechanisms. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 112, p. 108582, 2019.

BAROCELLI, E.; CALCINA, F.; CHIAVARINI, M.; IMPICCIATORE, M.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; BALLABENI, V. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered *Lavandula hybrida* Reverchon “Grosso” essential oil. **Life sciences**, v. 76, n. 2, p. 213-223, 2004.

BEHRMAN, S. W. Management of complicated peptic ulcer disease. **Archives of surgery**, v. 140, n. 2, 201-208, 2005.

BHATTACHARYYA, A.; CHATTOPADHYAY, R.; MITRA, S.; CROWE, S. E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological reviews**, v. 94, n. 2, p. 329-354, 2014.

BOEING, T.; MARIANO, L. N. B.; DOS SANTOS, A. C.; TOLENTINO, B.; VARGAS, A. C.; DE SOUZA, P.; DA SILVA, L. M. Gastroprotective effect of the alkaloid boldine: Involvement of non-protein sulfhydryl groups, prostanoids and reduction on oxidative stress. **Chemico-Biological Interactions**, v. 327, p. 109166, 2020.

BRITO, S. M. O.; AOBPB, M.; DE OLIVEIRA, M. R. C.; VIDAL, C. S.; DE LACERDA NETO, L. J.; RAMOS, A. G. B.; DE MENEZES, I. R. A. Gastroprotective and cicatrizing activity of the *Ziziphus joazeiro* Mart. leaf hydroalcoholic extract. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 71, n. 3, p. 429-436, 2020.

BUCCIARELLI, A.; MINETTI, A.; MILCZAKOWSKYG, C.; SKLIAR, M. Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 9, p. 1025-1030, 2010.

CALDAS, G. F. R.; DA SILVA OLIVEIRA, A. R.; ARAÚJO, A. V.; QUIXABEIRA, D. C. A.; DA COSTA SILVA-NETO, J.; COSTA-SILVA, J. H.; WANDERLEY, A. G. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii* Benth.(Lamiaceae). **PloS one**, v. 9, n. 1, p. e84400, 2014.

CALDAS, G. F. R.; DO AMARAL COSTA, I. M.; DA SILVA, J. B. R.; DA NÓBREGA, R. F.; RODRIGUES, F. F. G.; DA COSTA, J. G. M.; WANDERLEY, A. G. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth.(Lamiaceae). **Journal of ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 886-892, 2011.

CASCAES, M. M.; GUILHON, G. M. S. P.; ANDRADE, E. H. D. A.; ZOGHBI, M. D. G. B.; SANTOS, L. D. S. Constituents and pharmacological activities of *Myrcia* (Myrtaceae): A review of an aromatic and medicinal group of plants. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 10, p. 23881-23904, 2015.

CELINSKI, K.; CICHOSZ-LACH, H.; MADRO, A.; SLOMKA, M.; KASZTELAN-SZCZERBINSKA, B.; DWORZANSKI, T. Non-variceal upper gastrointestinal bleeding--guidelines on management. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 59, n. 2, p. 215-229, 2008.

COGO, L. L.; MONTEIRO, C. L. B.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; CUNICO, M. M.; RIBEIRO, M. L.; COSTA, L. M. D. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plant extracts traditionally used for the treatment of gastrointestinal disorders. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 304-309, 2010.

COSTANZO, L. S.; **Fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

DAR, R. A.; SHAHNAWAZ, M.; QAZI, P. H. General overview of medicinal plants: A review. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 6, n. 6, p. 349-351, 2017.

DEVI, R. S.; NARAYAN, S.; VANI, G.; DEVI, C. S. S. Gastroprotective effect of *Terminalia arjuna* bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 167, n. 1, p. 71-83, 2007.

EL-MARAGHY, S. A.; RIZK, S. M.; SHAHIN, N. N. Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. **Chemico-biological interactions**, v. 229, p. 26-35, 2015.

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

FARIA, F. M.; ALMEIDA, A. C. A.; LUIZ-FERREIRA, A.; TAKAYAMA, C.; DUNDER, R. J.; DA SILVA, M. A.; TOMA, W. Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

FARIA-JÚNIOR, J. E. Q. D. Revisão taxonômica e filogenia de *Eugenia* sect. *Pilothecium* (Kiaersk.) D. Legrand (Myrtaceae). 2014.

FARIAS, P. D.; NERI-NUMA, I. A.; DE ARAÚJO, F. F.; PASTORE, G. M. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. **Food chemistry**, v. 306, p. 125630, 2020.

FLICKINGER, J. A.; JESTROW, B.; OVIEDO PRIETO, R.; SANTIAGO- VALENTÍN, E.; SUSTACHE- SUSTACHE, J.; JIMÉNEZ- RODRÍGUEZ, F.; FRANCISCO- ORTEGA, J. A phylogenetic survey of Myrtaceae in the Greater Antilles with nomenclatural changes for some endemic species. **Taxon**, v. 69, n. 3, p. 448-480, 2020.

FONESKA, A.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current opinion in gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 604-610, 2010.

FREITAS, F. F. B. P.; FERNANDES, H. B.; PIAUILINO, C. A.; PEREIRA, S. S.; CARVALHO, K. I. M.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Gastroprotective activity of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. in animal models. **Journal of ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 700-708, 2011.

GELBERG, H. B. Comparative anatomy, physiology, and mechanisms of disease production of the esophagus, stomach, and small intestine. **Toxicologic pathology**, v. 42, n. 1, p. 54-66, 2014.

GISBERT, J. P.; CALVET, X.; COSME, A.; ALMELA, P.; FEU, F.; BORY, F.; PIQUÉ, J. M. Long-Term Follow-Up of 1,000 Patients Cured of *Helicobacter pylori* Infection Following an Episode of Peptic Ulcer Bleeding. **Official journal of the American College of Gastroenterology ACG**, v. 107, n. 8, p. 1197-1204, 2012.

HAJIMAHMOODI, M.; SHAMS-ARDAKANI, M.; SANIEE, P.; SIAVOSHI, F.; MEHRABANI, M.; HOSSEINZADEH, H.; FOROUMADI, A. In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori*. **Natural Product Research**, v. 25, n. 11, p. 1059-1066, 2011.

HAN, X.; PARKER, T. L. Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 1619-1622, 2017.

HANIF, M. A.; NISAR, S.; KHAN, G. S.; MUSHTAQ, Z.; ZUBAIR, M. Essential oils. *In: Essential oil research*. Springer, Cham, 2019. p. 3-17.

HATWARE, K. V.; SHARMA, S.; PATIL, K.; SHETE, M.; KARRI, S.; GUPTA, G. Evidence for gastroprotective, anti-inflammatory and antioxidant potential of methanolic extract of *Cordia dichotoma* leaves on indomethacin and stress induced gastric lesions in Wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 317-325, 2018.

HENRIQUES, A. T.; SOBRAL, M. E.; CAUDURO, A. D.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L.; LAMATY, G.; BESSIÈRE, J. M. Aromatic plants from Brazil. II. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 5, p. 501-505, 1993.

HERMES-LIMA, M.; WILLMORE, W. G.; STOREY, K. B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III) xylenol orange complex formation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, n. 3, p. 271-280, 1995.

HSU, D. Z.; CHU, P. Y.; LIU, M. Y. Effect of sesame oil on acidified ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 33, n. 4, p. 423-427, 2009.

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

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, Anthony J. Farmakologi dasar & klinik. **Edisi**, v. 12, p. 187-188, 2014.

KHAN, M. S. A.; KHUNDMIRI, S. U. K.; KHUNDMIRI, S. R.; AL-SANEA, M. M.; MOK, P. L. Fruit-derived polysaccharides and terpenoids: Recent update on the gastroprotective effects and mechanisms. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, p. 569, 2018.

KODAMA, M.; MURAKAMI, K.; OKIMOTO, T.; SATO, R.; UCHIDA, M.; ABE, T.; FUJIOKA, T. Ten-year prospective follow-up of histological changes at five points on the gastric mucosa as recommended by the updated Sydney system after *Helicobacter pylori* eradication. **Journal of gastroenterology**, v. 47, n. 4, p. 394-403, 2012.

KORONA, I. G.; GLOWNIAK-LIPA, A.; LUDWICZUK, A.; BAJ, T.; MALM, A. The in vitro activity of essential oils against *Helicobacter pylori* growth and urease activity. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 586, 2020.

KOUIDHI, B.; ZMANTAR, T.; BAKHROUF, A. Anticariogenic and cytotoxic activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*) against a large number of oral pathogens. **Annals of microbiology**, v. 60, n. 4, p. 599-604, 2010.

KOUITCHEU MABEKEU, L. B.; NANFACK NANA, B.; EYOUM BILLE, B.; TCHUENTE TCHUENGUEM, R.; NGUEPI, E. Anti-*Helicobacter pylori* and antiulcerogenic activity of *Aframomum prunosum* seeds on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 929-936, 2017.

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

KWIECIEŃ, S.; MAGIEROWSKA, K.; ŚLIWOWSKI, Z.; WÓJCIK, D.; MAGIEROWSKI, M.; BRZOZOWSKI, T. New insight into the mechanisms of gastroduodenal injury induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: practical implications. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej= Polish Archives of Internal Medicine**, v. 125, n. 3, 2015.

LAGOO, J.; PAPPAS, T. N.; PEREZ, A. A relic or still relevant: the narrowing role for vagotomy in the treatment of peptic ulcer disease. **The American Journal of Surgery**, v. 207, n. 1, p. 120-126, 2014.

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

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

LEEM, H. H.; KIM, E. O.; SEO, M. J.; CHOI, S. W. Antioxidant and anti-inflammatory activities of eugenol and its derivatives from clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 10, p. 1361-1370, 2011.

LE MOS, A. J. J. M.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, Á. A. C.; FERNANDA DAS CHAGAS, A. S.; OLIVEIRA, J. V.; DE SIQUEIRA, H. Á. A. Response of blastocyst–endometrium interactions in albino rats to sublethal doses of biological and synthetic insecticides. **Food and chemical toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2541-2547, 2011.

LE MOS, T. L. G.; NOGUEIRA, P. C. L.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A. Composition of the leaf oils of four Spondias species from Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 5, p. 561-563, 1995.

LICHTENBERGER, L. M. Gastroduodenal mucosal defense. **Current opinion in gastroenterology**, v. 15, n. 6, p. 463, 1999.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. Gastroprotective activity of essential oils from turmeric and ginger. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, v. 26, n. 1, p. 95-103, 2015.

LIMA-JÚNIOR, R. C. P.; FIGUEIREDO, A. A.; FREITAS, H. C.; MELO, M. L. P.; WONG, D. V. T.; LEITE, C. A. V.; RIBEIRO, R. A. Involvement of nitric oxide on the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis: role of cytokines on inducible nitric oxide synthase activation. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 69, n. 4, p. 931-942, 2012.

MARTINS, J. L. R.; RODRIGUES, O. R. L.; DA SILVA, D. M.; GALDINO, P. M.; DE PAULA, J. R.; ROMÃO, W.; COSTA, E. A. Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent on gastric lesions in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 155, n. 3, p. 1616-1624, 2014.

UCHIDA, M.; SHIMIZU, K.; KURAKAZU, K. Yogurt containing *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21 yogurt) accelerated the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 74, n. 9, p. 1891-1894, 2010.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. **Life Sciences**, v. 65, n. 2, p. PL27-PL32, 1999.

MAZINE, F.F.; VALDEMARIN, K.S.; BÜNGER, M.; FARIA, J.E.Q.; FERNANDES, T.; GIARETTA, A.; SANTANA, K.C.; SOBRAL, M.; SOUZA, M.A.D. *Eugenia in Flora do Brasil 2020 under construction*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB25845>>. Accessed on: 12 Jan. 2021

- MEI, X. T.; XU, D. H.; XU, S. K.; ZHENG, Y. P.; XU, S. B. Zinc (II)–curcumin accelerates the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats by decreasing oxidative stress and downregulation of matrix metalloproteinase-9. **Food and chemical toxicology**, v. 60, p. 448-454, 2013.
- MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 33, n. 5, p. 939-945, 1983.
- MORAES, T. M.; KUSHIMA, H.; MOLEIRO, F. C.; SANTOS, R. C.; ROCHA, L. R. M.; MARQUES, M. O.; HIRUMA-LIMA, C. A. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion. **Chemico-Biological Interactions**, v. 180, n. 3, p. 499-505, 2009.
- MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 495-505, 1991.
- MORISSET, J. The gastrointestinal cholecystokinin receptors in health and diseases. In: **Annales Academiae Medicae Bialostocensis**. 2005. p. 21-36.
- MORON, M. S.; DEPIERRE, J. W. Mannervirk (1979). **Biochem. Biophys. Acta**, v. 582, p. 67-68.
- MOUSA, A. M.; EL-SAMMAD, N. M.; HASSAN, S. K.; ABD EL NASSER, A. M.; HASHIM, A. N.; MOUSTAFA, E. S.; ELSAYED, E. A. Antiulcerogenic effect of *Cuphea ignea* extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019.
- NUÑEZ, L.; D'AQUINO, M. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). **Brazilian journal of microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1255-1260, 2012.
- OKABE, S.; ROTH, J. LA; PFEIFFER, C. J. A method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. **The American journal of digestive diseases**, v. 16, n. 3, p. 277-284, 1971.
- OLALEYE, S. B.; ADARAMOYE, O. A.; ERIGBALI, P. P.; ADENIYI, O. S. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 13, n. 38, p. 5121, 2007.
- OLIVEIRA, I. S.; DA SILVA, F. V.; VIANA, A. F. S.; DOS SANTOS, M. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; MARIA DO CARMO, C. M.; DE CM OLIVEIRA, R. Gastroprotective activity of carvacrol on experimentally induced gastric lesions in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 385, n. 9, p. 899-908, 2012.
- PARK, J. M.; HAN, Y. M.; KANGWAN, N.; LEE, S. Y.; JUNG, M. K.; KIM, E. H.; HAHM, K. B. S-allyl cysteine alleviates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric mucosal damages by increasing cyclooxygenase-2 inhibition, heme oxygenase-1 induction, and histone deacetylation inhibition. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 29, p. 80-92, 2014.

PARRAH, J. D.; MOULVI, B. A.; GAZI, M. A.; MAKHDOOMI, D. M.; ATHAR, H.; DAR, S.; MIR, A. Q. Gastric ulceration in dog: A review. **Vet world**, v. 6, n. 7, p. 449-54, 2013.

PEREIRA, A. C. H.; LENZ, D.; NOGUEIRA, B. V.; SCHERER, R.; ANDRADE, T. U.; COSTA, H. B. D.; ENDRINGER, D. C. Gastroprotective activity of the resin from *Virola oleifera*. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 472-480, 2017.

PROCTOR, M. J.; DEANS, C. Complications of peptic ulcers. **Surgery (Oxford)**, v. 32, n. 11, p. 599-607, 2014.

PUSCAS, I.; PUSCAS, C.; COLTAU, M.; PASCA, R.; TORRES, J.; MÁRQUEZ, M.; ORTIZ, J. A. Comparative study of the safety and efficacy of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxicam-induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittelforschung**, v. 47, n. 4A, p. 568-572, 1997.

RAFATULLAH, S.; TARIQ, M.; AL-YAHYA, M. A.; MOSSA, J. S.; AGEEL, A. M. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 29, n. 1, p. 25-34, 1990.

RAISH, M.; AHMAD, A.; ANSARI, M. A.; ALKHARFY, K. M.; ALJENOABI, F. I.; JAN, B. L.; ALI, N. *Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, inflammation, and apoptosis in ethanol-induced gastritis in mucosa through NF-kB signaling pathway inhibition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 193-199, 2018.

RASTOGI, L.; PATNAIK, G. K.; DIKSHIT, M. Free radicals and antioxidant status following pylorus ligation induced gastric mucosal injury in rats. **Pharmacological Research**, v. 38, n. 2, p. 125-132, 1998.

ROZZA, A. L.; DE MELLO MORAES, T.; KUSHIMA, H.; TANIMOTO, A.; MARQUES, M. O. M.; BAUAB, T. M.; PELLIZZON, C. H. Gastroprotective mechanisms of *Citrus lemon* (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and β -pinene: Involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E2. **Chemico-biological interactions**, v. 189, n. 1-2, p. 82-89, 2011.

ROZZA, A. L.; PELLIZZON, C. H. Essential oils from medicinal and aromatic plants: a review of the gastroprotective and ulcer-healing activities. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 51-63, 2013.

SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN-JÚNIOR, L. C.; MACHADO, I. D.; COSTA, P.; DE OLIVEIRA, A. P.; DE ANDRADE, S. F. Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 383, n. 2, p. 149-158, 2011.

SANTIN, J.R.; LEMOS, M.; KLEIN JR., L.C.; NIERO, R.; ANDRADE, S.F. Antiulcer effects of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Asteraceae)(Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 334-339, 2010.

SANTOS, K. K. D.; MATIAS, E. F.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E.; BRAGA, M. F.; GUEDES, G. M.; COUTINHO, H. D. Cytotoxic, trypanocidal, and antifungal activities of *Eugenia jambolana* L. **Journal of medicinal food**, v. 15, n. 1, p. 66-70, 2012.

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

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, n. 7, p. 1842-1860, 2008.

SEPULVEDA, B.; QUISPE, C.; SIMIRGIOTIS, M.; TORRES-BENÍTEZ, A.; REYES-ORTÍZ, J.; ARECHE, C.; GARCÍA-BELTRÁN, O. Gastroprotective activity of synthetic coumarins: Role of endogenous prostaglandins, nitric oxide, non-protein sulfhydryls and vanilloid receptors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 26, n. 23, p. 5732-5735, 2016.

SHANG, W.; LI, Y.; REN, Y.; YANG, Y.; LI, H.; DONG, J. Nephrolithiasis and risk of hypertension: a meta-analysis of observational studies. **BMC nephrology**, v. 18, n. 1, p. 1-6, 2017.

SIKIRIĆ, P.; SEIWERTH, S.; GRABAREVIĆ, Ž.; RUČMAN, R.; PETEK, M.; JAGIĆ, V.; MAROVIĆ, A. The influence of a novel pentadecapeptide, BPC 157, on NG-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effects on stomach mucosa integrity and blood pressure. **European journal of pharmacology**, v. 332, n. 1, p. 23-33, 1997.

SILVA, A. P. G.; SPRICIGO, P. C.; PURGATTO, E.; DE ALENCAR, S. M.; SARTORI, S. F.; JACOMINO, A. P. Chemical composition, nutritional value and bioactive compounds in six uvaia accessions. **Food chemistry**, v. 294, p. 547-556, 2019.

SILVA, L. M.; ALLEMAND, A.; MENDES, D. A. G.; DOS SANTOS, A. C.; ANDRÉ, E.; DE SOUZA, L. M.; WERNER, M. F. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. **Food and chemical toxicology**, v. 51, p. 179-187, 2013.

SILVERTHORN, D. U. Fisiologia Humana: uma abordagem Integrada. 7^o edição. São Paulo: Artmed, 2017.

SINGH, J.; BAGHOTIA, A.; GOEL, S. P. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (family myrtaceae): a review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1469-1475, 2012.

SINGH, A. K.; SINGH, S. K.; SINGH, P. P.; SRIVASTAVA, A. K.; PANDEY, K. D.; KUMAR, A.; YADAV, H. Biotechnological aspects of plants metabolites in the treatment of ulcer: A new prospective. **Biotechnology Reports**, v. 18, p. e00256, 2018.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2015. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB25845>>.

SØREIDE, K.; THORSEN, K.; HARRISON, E. M.; BINGENER, J.; MØLLER, M. H.; OHENE-YEBOAH, M.; SØREIDE, J. A. Perforated peptic ulcer. **The Lancet**, v. 386, n. 10000, p. 1288-1298, 2015.

SOUZA, A. M.; DE OLIVEIRA, C. F.; DE OLIVEIRA, V. B.; BETIM, F. C. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Traditional uses, Phytochemistry, and antimicrobial activities of *Eugenia* species—a review. **Planta medica**, v. 84, n. 17, p. 1232-1248, 2018.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; MOREIRA, R. R.; SACRAMENTO, L. V.; PIETRO, R. C. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, Myrtaceae, leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 48-53, 2010.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry & biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73-94, 2011.

SZELENYI, I.; THIEMER, K. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. **Archives of Toxicology**, v. 41, n. 1, p. 99-105, 1978.

TAHA Y, A. E.; MALIK, S. A. Taxonomic significance of anatomical characters in some species of the family Myrtaceae. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2012, 2012.

TAKAYAMA, C.; DE-FARIA, F. M.; DE ALMEIDA, A. C. A.; REHEN, C. S.; DUNDER, R. J.; SOCCA, E. A. R.; HIRUMA-LIMA, C. A. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam.(Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 1, p. 147-155, 2011.

TANIH, N. F.; OKELEYE, B. I.; NAIDO, N.; CLARKE, A. M.; MKWESHANA, N.; GREEN, E.; NDIP, L. M.; NDIP, R. N. Marked susceptibility of South African *Helicobacter pylori* strains to ciprofloxacin and amoxicillin: clinical implications. **South African Medical Journal**, v. 100, n. 1, p. 45-48, 2010.

THORSEN, K.; SØREIDE, J. A.; KVALØY, J. T.; GLOMSAKER, T.; SØREIDE, K. Epidemiology of perforated peptic ulcer: age-and gender-adjusted analysis of incidence and mortality. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 19, n. 3, p. 347, 2013.

TROLAND, D.; STANLEY, A. Endotherapy of peptic ulcer bleeding. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v. 28, n. 3, p. 277-289, 2018.

TSUI, C. P. **Effects of somatostatin and glucagon on portal pressure, gastric mucosal blood flow and gastric mucosal injury in portal hypertension**. 1998. Tese de Doutorado. Chinese University of Hong Kong.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

VERMA, S.; KUMAR, V. L. Attenuation of gastric mucosal damage by artesunate in rat: modulation of oxidative stress and NFκB mediated signaling. **Chemico-biological interactions**, v. 257, p. 46-53, 2016.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VIANA, A. F. S.; LOPES, M. T. P.; OLIVEIRA, F. T. B.; NUNES, P. I. G.; SANTOS, V. G.; BRAGA, A. D.; RITA DE CÁSSIA, M. O. (–)-Myrtenol accelerates healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats and in human gastric adenocarcinoma cells. **European journal of pharmacology**, v. 854, p. 139-148, 2019.

VIDAL, C. S.; MARTINS, A. O. B. P. B.; DE ALENCAR SILVA, A.; DE OLIVEIRA, M. R. C.; RIBEIRO-FILHO, J.; DE ALBUQUERQUE, T. R.; DE MENEZES, I. R. A. Gastroprotective effect and mechanism of action of *Croton rhamnifolioides* essential oil in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 89, p. 47-55, 2017.

VISSCHER, F. E.; SEAY, P. H.; TAZELAAR, A. P.; VELDKAMP, W.; VANDER BROOK, M. J. Pharmacology of pamine bromide. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 110, n. 2, p. 188-204, 1954.

WALDUM, H. L.; HAUSO, Ø.; FOSSMARK, R. The regulation of gastric acid secretion—clinical perspectives. **Acta Physiologica**, v. 210, n. 2, p. 239-256, 2014.

WATANABE, T.; FUJIWARA, Y.; CHAN, F. K. Current knowledge on non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small-bowel damage: a comprehensive review. **Journal of gastroenterology**, v. 55, n. 5, p. 481-495, 2020.

WAUGH, A.; GRANT, A. **Ross & Wilson Anatomy and physiology in health and illness E-book**. Elsevier Health Sciences, 2014.

WHALEN, K.; FINKEL, R.; PANAVELIL, T. A. **Farmacologia Ilustrada-6ª Edição**. Artmed Editora, 2016.

WU, J. Z.; LIU, Y. H.; LIANG, J. L.; HUANG, Q. H.; DOU, Y. X.; NIE, J.; WU, Q. D. Protective role of β -patchoulene from *Pogostemon cablin* against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Involvement of anti-inflammation and angiogenesis. **Phytomedicine**, v. 39, p. 111-118, 2018.

YANG, H.; LU, Y.; ZENG, X. F.; LI, L.; ZHANG, R. P.; REN, Z. K.; LIU, X. Antichronic gastric ulcer effect of zinc-baicalin complex on the acetic acid-induced chronic gastric ulcer rat model. **Gastroenterology research and practice**, v. 2018, 2018.

ZHENG, H.; CHEN, Y.; ZHANG, J.; WANG, L.; JIN, Z.; HUANG, H.; GAO, W. Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. **Chemico-biological interactions**, v. 250, p. 68-77, 2016.

ZHOU, J. T.; LI, C. L.; TAN, L. H.; XU, Y. F.; LIU, Y. H.; MO, Z. Z.; XIE, J. H. Inhibition of *Helicobacter pylori* and its associated urease by palmatine: investigation on the potential mechanism. **PLoS one**, v. 12, n. 1, p. e0168944, 2017.

**ANEXO A - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
(CEUA) DA UFPE: PROCESSO Nº 0056/2019**



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50720-400 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126-8844
ceua@ufpe.br

Recife, 30 de setembro de 2019

Ofício nº 71/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Rafael Matos Ximenes
Departamento de Antibióticos/CB
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0056/2019

Certificamos que a proposta intitulada "Atividade gastroprotetora do óleo essencial das folhas de *Eugenia pohliana* DC. (Myrtaceae).", registrado com o nº 0056/2019 sob a responsabilidade de Prof. Rafael Matos Ximenes o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 24/09/2019

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/10/2019 a 31/02/2020
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogenico /Camundongos heterogênico
Nº de animais	256
Peso/idade	Camundongo heterogenico (35 ± 5/ g 60 dias) Rato heterogenico(220 ± 20g/ 60 dias)
Sexo	Fêmeas (236) e Macho (20)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Antibióticos
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Antibióticos

Atenciosamente,


Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2343891