

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**MARCIO ANDRÉ DE PAULA**

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E ATIVIDADE  
GASTROPROTETORA DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE  
*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent**

**GOIÂNIA  
2009**

**MARCIO ANDRÉ DE PAULA**

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E  
ATIVIDADE GASTROPROTETORA  
DO EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE  
*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Área de Concentração:** Fármacos e Medicamentos

**Orientador:** Prof. Dr. Elson Alves Costa

**GOIÂNIA  
2009**

*À Deus, dono da vida, pelas bênçãos e  
oportunidades concedidas.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao estimado professor Dr Elson Alves Costa, orientador desta dissertação, por toda atenção dispensada, conhecimento e ensino, acadêmico e de vida;

Ao querido professor Dr José Realino de Paula pela educação e presteza, atenção, cordialidade e imensa contribuição, e pelo apoio na área de farmacognosia e fitoquímica;

Às professoras Maria Tereza, Leonice, Patrícia e Eliana pela imensa colaboração;

Aos colegas Marquinhos, Heloísa, Nádlá, Pablinny, Tereza e Fábio, do laboratório de farmacologia de produtos naturais (LFPN);

Ao colega Renê do laboratório de pesquisa de produtos naturais (LPPN), pela imensa colaboração;

Às colegas, da empresa Cifarma, especialmente Anna Heliza, Vitória, Alessandra, Michele, Lívia, Luciene, Dr<sup>a</sup> Leila e Carol, que, por muitas vezes, me apoiaram e incentivaram;

À minha mãe que, mesmo sem entender o que eu estava fazendo, sempre e incondicionalmente me apoiou;

À todas as pessoas da minha família que me incentivaram e apoiaram, especialmente Neta e meu pai;

À Universidade Federal de Goiás pela oportunidade de participar de um programa de pós-graduação público e de qualidade;

À todos os professores, alunos e funcionários do LPPN e ICB;

À todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho, os meus inestimáveis agradecimentos

*Somos todos um só. Acabo de perceber. Células de um corpo que não vemos como os peixes não vêem o mar.*

*Daí nos invejamos, nos ferimos, nos odiamos. Tólice, não é? A célula cardíaca odiar a pulmonar.*

*Cassie, Os três*

## RESUMO

A *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent é uma planta de pequeno porte pertencente à família Ulmaceae, possui ramos muito flexíveis, geralmente em forma de zigue-zague, compridos e armados de espinhos. As folhas são curto-pecioladas, ovado-oblongas ou ovadas e possui tamanhos que podem variar de 5-13 cm de comprimento e 3-7 cm de largura. O chá das folhas desta planta é usado popularmente para dores no corpo, reumatismo, dores no peito, asma, cólicas, má-digestão e como diurético. Amostras das folhas foram coletadas em Campestre-GO, identificadas e uma exsicata depositada no Herbário da UFG sob o nº 40110. Foram realizadas análises macro e microscópicas e parte do material botânico foi seco e triturado para a realização dos testes de umidade, cinzas totais e insolúveis em ácido, triagem fitoquímica e obtenção do extrato aquoso das folhas do esporão-de-galo (EAEG). O EAEG foi obtido por infusão a 3% do pó das folhas. Camundongos Swiss (machos, adultos, pesando entre 25 – 35 g) foram pré-tratados oralmente com EAEG (70, 200 e 600 mg/kg), veículo (água filtrada 10 mL/kg) e ranitidina (50 mg/kg), antes da indução das lesões gástricas por indometacina (30 mg/kg s.c.), etanol 75% (v/v) e estresse por contenção e hipotermia. Os efeitos do extrato sobre o volume, pH e acidez total da secreção gástrica foram avaliados pelo método da ligadura pilórica, sendo que os tratamentos foram realizados por via intraduodenal (i.d.). Avaliou-se também a influência do EAEG no trânsito intestinal dos animais, com tratamentos prévios realizados por via oral. Na análise macroscópica observou-se características comuns da espécie. Na análise microscópica observou-se estruturas, tais como: tricomas tectores curtos e longos, unicelulares e pluricelulares, células epidérmicas de tamanhos variados, células contendo drusas, cristais prismáticos e cristólitos. Na prospecção fitoquímica foi detectada a presença de mucilagem, cumarinas e flavonóides. O rendimento do processo extrativo para obtenção do EAEG foi de 20%. Nos modelos de úlceras induzidas pelos diferentes agentes: indometacina, etanol e estresse nas doses de 70, 200 e 600 mg/kg, observou-se redução do número de lesões provocadas por esses agentes. Quando o EAEG foi administrado pela via intraduodenal, observou-se diminuição do volume, da acidez livre e total da secreção gástrica em camundongos com ligadura de piloro. Na avaliação da influência do EAEG sobre o trânsito intestinal observou-se aumento somente com a dose de 600 mg/kg. Os resultados encontrados neste trabalho permitem sugerir que o EAEG contém princípios ativos gastroprotetores que não reduzem a motilidade intestinal podendo justificar o uso popular da planta para tratar gastrites e úlceras.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, *Celtis*, cumarinas, flavonóides, mucilagens, gastroproteção.

## ABSTRACT

*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent is a small postage plant belonging to the Ulmaceae family, it has very flexible branches, usually in a crossed and overcoated form armed with spines. The leaves are short-petioled, ovals and have sizes that vary from 5-13 cm long and 3-7 cm wide. The tea obtained through it leaves is popularly used for body pain, rheumatism, chest pain, asthma, cramps, poor digestion, and as diuretic. Samples were collected in Campestre-GO, a exsiccates identified and deposited in the Herbarium of UFG under number 40110. It was performed macro and microscopic analysis and part of the botanical material was dried and ground to testing for moisture, total ash and acid insoluble ash, phytochemical screening and obtaining the aqueous extract of leaves of esporão-de-galo (EAEG). The EAEG was obtained by infusion of 3% of the powder of the leaves. Swiss mice (male adult, weighing between 25 to 35 g) were pre-treated orally with EAEG (70, 200 and 600 mg / kg), vehicle (water filtered 10 mL / kg) and ranitidine (50 mg / kg) before induction of gastric lesions by indomethacin (30 mg / kg sc), ethanol 75% (v / v) and by restraint stress and hypothermia. The effects of the extract on the volume, pH and total acidity of gastric secretion were evaluated by the method of pyloric ligation, and the treatments were performed by intraduodenal administration (id). It also assessed the influence of intestinal transit EAEG in animals with previous treatments made orally.. In macroscopic analysis were confirmed common characteristics of the species. In the microscopic analysis it was observed structures, such as: short and long trichomes, unicellular and pluricellular, epidermal cells of various sizes, cells containing druses, prismatic crystals and cystoliths. In phytochemical prospecting was detected the presence of mucilage and secondary metabolites as coumarins and flavonoids. The efficiency of the extraction process was 20%. In models of ulcers induced by different agents: indomethacin, ethanol and stress in doses of 70, 200 and 600 mg/kg, there was reduction in the number of injuries caused by these agents. When the EAEG was administered by intraduodenal route, there was reduction in the volume of total and free acidity of gastric secretion in mice with ligation of pylorus. In assessing the influence of EAEG on intestinal transit was observed increase only with the dose increased to 600 mg/kg. The results suggest that the EAEG contains active ingredients gastro protectors that do not reduce intestinal motility and may justify the popular use of the plant to gastritis and ulcers.

Keywords: Medicinal plants, *Celtis*, coumarins, flavonoids, mucilages, gastro protection.

## LISTA DE FIGURAS E QUADROS

- FIGURA 1** Árvore de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo), zona rural em Goiânia-GO, fevereiro de 2007. PAULA, M. A. .... 30
- FIGURA 2** Folhas e frutos de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo), zona rural em Goiânia-GO, fevereiro de 2007. PAULA, M. A. .... 30
- FIGURA 3** Características morfológicas das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. .... 48
- FIGURA 4** Secções paradérmicas das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent.... 51
- FIGURA 5** Secção transversal da região internervural da folha de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. .... 52
- FIGURA 6** Secção transversal da nervura principal da folha de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. .... 53
- FIGURA 7** Secção transversal do caule jovem de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. .... 54
- FIGURA 8** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600/mgkg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg – v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina (30 mg/kg - s.c.)..... 57
- FIGURA 9** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg – v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (75% v/v - v.o.)..... 58
- FIGURA 10** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600/mg kg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg – v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por estresse..... 59

<b>FIGURA 11</b>	Efeito do extrato aquoso das folhas de <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d.) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre a secreção ácida gástrica de camundongos – volume secretado após 4 horas da ligadura pilórica. ....	61
<b>FIGURA 12</b>	Efeito do extrato aquoso das folhas de <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d.) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre a secreção ácida gástrica de camundongos - acidez livre (pH) após 4 horas da ligadura pilórica. ....	62
<b>FIGURA 13</b>	Efeito do extrato aquoso das folhas de <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d.) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre a secreção ácida gástrica de camundongos - acidez total da secreção após 4 horas da ligadura pilórica.....	63
<b>FIGURA 14</b>	Efeito do extrato aquoso das folhas de <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – v.o.) sobre o trânsito intestinal.....	64
<b>QUADRO 1</b>	Principais classes de metabólitos secundários detectados nas amostras de <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sargent.....	55

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b>	Ficha padrão de triagem farmacológica. ....	85
<b>TABELA 2</b>	Tabela de pontuação das lesões gástricas. ....	86
<b>TABELA 3</b>	Índice de lesões gástricas induzidas por indometacina (30 mg/kg - s.c.) em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral. ....	87
<b>TABELA 4</b>	Índice de lesões gástricas induzidas por etanol (75% v/v - v.o.) em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral. ....	87
<b>TABELA 5</b>	Índice de lesões gástricas induzidas por estresse em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral.....	88
<b>TABELA 6</b>	Volume do conteúdo gástrico acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via i.d.....	88
<b>TABELA 7</b>	Acidez livre (pH) do conteúdo gástrico acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via intraduodenal.....	89
<b>TABELA 8</b>	Acidez total (mEq[H <sup>+</sup> ]/L) do conteúdo gástrico acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina pela via intraduodenal.....	89
<b>TABELA 9</b>	Trânsito intestinal do marcador carvão ativado em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg ou veículo (água filtrada 10 mL/kg) pela via oral .....	90

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AINE</b>	Antiinflamatório não-esteroidal
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclica
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>CCK-2</b>	Receptor de colecistocinina e gastrina
<b>CGRP</b>	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
<b>Co</b>	Colênquima
<b>COBEA</b>	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
<b>COX</b>	Ciclooxigenase
<b>COX-1</b>	Ciclooxigenase isoforma 1
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenase isoforma 2
<b>Cp</b>	Células pétreas
<b>Cpr</b>	Cristais prismáticos
<b>Dr</b>	Drusa
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucléico
<b>EAEG</b>	Extrato aquoso do esporão-de-galo
<b>ECL</b>	Enterochromaffin-like cells (células tipo enterocromafins)
<b>EP<sub>1</sub></b>	Receptor de prostaglandina subtipo 1
<b>EP<sub>2</sub></b>	Receptor de prostaglandina subtipo 2
<b>EP<sub>3</sub></b>	Receptor de prostaglandina subtipo 3
<b>EP<sub>4</sub></b>	Receptor de prostaglandina subtipo 4
<b>EPM</b>	Erro padrão da média
<b>ERO</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>Es</b>	Estômatos
<b>Fi</b>	Fibras esclerênquimáticas
<b>FI</b>	Floema
<b>FPA</b>	Formaldeído, ácido propiônico e etanol
<b>GC</b>	Guanilato ciclase
<b>GMPc</b>	Guanosina monofosfato cíclica
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>H<sub>2</sub></b>	Receptor de histamina subtipo 2
<b>H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/ATPase</b>	Bomba de prótons

<b>i.d.</b>	Intraduodenal
<b>IP</b>	Receptor de prostaciclina
<b>M<sub>1</sub></b>	Receptor muscarínico subtipo 1
<b>M<sub>3</sub></b>	Receptor muscarínico subtipo 3
<b>M<sub>5</sub></b>	Receptor muscarínico subtipo 5
<b>mEq</b>	Miliequivalente
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Óxido nítrico sintase
<b>NP-SH</b>	Grupos sulfidrílicos não-protéicos
<b>p</b>	Significância estatística
<b>PACAP</b>	Peptídeo ativador de adenilato ciclase pituitário
<b>PAF</b>	Fator de agregação plaquetária
<b>PG</b>	Prostaglandina
<b>PGE<sub>1</sub></b>	Prostaglandina E <sub>1</sub>
<b>PGE<sub>2</sub></b>	Prostaglandina E <sub>2</sub>
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostaciclina (Prostaglandina I <sub>2</sub> )
<b>PGR</b>	Receptor de prostaglandina
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>RNA</b>	Ácido ribonucléico
<b>RPM</b>	Rotações por minuto
<b>SBCAL</b>	Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório
<b>s.c.</b>	Subcutânea
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SSTR<sub>1</sub></b>	Receptor de somatostatina subtipo 1
<b>SSTR<sub>5</sub></b>	Receptor de somatostatina subtipo 5
<b>TGI</b>	Trato gastrointestinal
<b>Ttc</b>	Tricoma tector curto
<b>Ttl</b>	Tricoma tector longo
<b>TXA<sub>2</sub></b>	Tramboxano A <sub>2</sub>
<b>V<sub>1</sub></b>	Volume inicial
<b>V<sub>f</sub></b>	Volume final
<b>Xi</b>	Xilema

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	17
1.1 ÚLCERA PÉPTICA .....	18
1.1.1 Etiologia.....	18
1.1.2 Fatores agressores da mucosa gástrica.....	19
1.1.2.1 Ácido clorídrico e pepsina .....	19
1.1.2.2 Anti-inflamatórios não esteroidais .....	19
1.1.2.3 Etanol.....	20
1.1.2.4 Estresse fisiológico.....	20
1.1.2.5 Motilidade gastrintestinal.....	21
1.1.2.6 Helicobacter pylori.....	21
1.1.2.7 Tabagismo .....	22
1.1.3 Fatores protetores da mucosa gástrica .....	22
1.1.3.1 Prostaglandinas .....	22
1.1.3.2 Circulação sanguínea.....	23
1.1.3.3 Óxido nítrico .....	23
1.1.3.4 Mucosa.....	24
1.2 SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICA.....	25
1.2.1 Fatores estimulantes da secreção ácida gástrica.....	25
1.2.1.1 Gastrina.....	25
1.2.1.2 Histamina .....	26
1.2.1.3 Acetilcolina .....	26
1.2.2 Fatores inibidores da secreção ácida gástrica.....	27
1.2.2.1 Somatostatina .....	27
1.2.2.2 Prostaglandinas .....	27
1.3 MORFOLOGIA E OCORRÊNCIA DE <i>Celtis iguanaea</i> (Jacq) Sargent .....	28
2 OBJETIVOS .....	31
2.1 OBJETIVOS GERAIS .....	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3. METODOLOGIA .....	32
3.1 MATERIAL BOTÂNICO .....	32
3.2 REAGENTES, SOLUÇÕES E DROGAS .....	32
3.2.1 Reagentes .....	32

3.2.2 Soluções.....	32
3.2.3 Fármacos.....	32
3.3 ANIMAIS.....	33
3.4 DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA.....	33
3.4.1 Descrição macroscópica.....	33
3.4.2 Descrição microscópica.....	34
3.5 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO EXTRATO.....	35
3.6 MÉTODOS FITOQUÍMICOS.....	35
3.6.1 Determinação do teor de cinzas totais.....	35
3.6.2 Determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido.....	35
3.6.3 Determinação do teor de água.....	36
3.6.4 Prospecção fitoquímica.....	36
3.6.4.1 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos.....	36
3.6.4.2 Pesquisa de heterosídeos digitálicos.....	37
3.6.4.2.1 Reação de Liebermann-Burchard.....	37
3.6.4.2.2 Reação de Keller-Kiliani.....	37
3.6.4.2.3 Reação de caracterização do núcleo esteróide.....	38
3.6.4.2.4 Reação de Kedde (reação específica para o anel lactônico).....	38
3.6.4.3 Pesquisa de heterosídeos flavonóides.....	38
3.6.4.3.1 Reação de Shinoda.....	38
3.6.4.3.2 Reação oxalo-bórica.....	38
3.6.4.3.3 Reação com ácido sulfúrico concentrado.....	39
3.6.4.3.4 Reação com hidróxidos alcalinos.....	39
3.6.4.3.5 Reação com cloreto de alumínio.....	39
3.6.4.3.6 Reação com cloreto férrico.....	39
3.6.4.4 Pesquisa de heterosídeos saponínicos.....	39
3.6.4.5 Pesquisa de taninos.....	40
3.6.4.5.1 Reação com gelatina.....	40
3.6.4.5.2 Reação com alcalóides.....	40
3.6.4.5.3 Reação com sais metálicos.....	40
3.6.4.5.4 Reação com hidróxidos alcalinos.....	40
3.6.4.6 Pesquisa de alcalóides.....	41
3.6.4.7 Determinação do índice de intumescência (mucilagem).....	42
3.7 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE FARMACOLÓGICA.....	43

3.7.1	Teste geral de atividade farmacológica (screening hipocrático).....	43
3.7.2	Avaliação da atividade antiulcerogênica do EAEG em modelos experimentais de úlcera gástrica .....	43
3.7.2.1	Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos .....	43
3.7.2.2	Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos .....	44
3.7.2.3	Lesões gástricas induzidas por estresse em camundongos .....	44
3.7.3	Avaliação da atividade do EAEG na secreção ácida gástrica .....	45
3.7.3.1	Ligadura pilórica em camundongos para determinação de volume e acidez livre e total da secreção gástrica.....	45
3.7.4	Avaliação da atividade do EAEG na motilidade gastrintestinal em camundongos.....	46
3.7.4.1	Trânsito intestinal .....	46
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	46
4	RESULTADOS.....	47
4.1	PROCESSO EXTRATIVO .....	47
4.2	DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA.....	47
4.2.1	Descrição macroscópica .....	47
4.2.2	Descrição microscópica.....	49
4.3	FARMACOGNOSIA E FITOQUÍMICA .....	55
4.3.1	Teor de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido .....	55
4.3.2	Teor de água .....	55
4.3.3	Prospecção fitoquímica .....	55
4.4	ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO EAEG.....	56
4.4.1	Atividades farmacológicas gerais (screening hipocrático) do EAEG .....	56
4.4.2	Atividade antiulcerogênica em modelos de úlcera aguda.....	57
4.4.2.1	Efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por indometacina .....	57
4.4.2.2	Efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por etanol.....	58
4.4.2.3	Efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por estresse .....	59
4.4.3	Atividade antissecretora ácida gástrica do EAEG .....	60
4.4.3.1	Efeito do EAEG na secreção gástrica em modelo de ligadura de piloro .. .....	60
4.4.4	Atividade do EAEG na motilidade gastrointestinal.....	64
4.4.4.1	Efeito do EAEG sobre o trânsito intestinal em camundongos.....	64
5	DISCUSSÃO .....	65

6 CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXOS .....	85
APÊNDICE – Tabelas de dados .....	87

## 1 INTRODUÇÃO

A história do desenvolvimento das sociedades humanas esteve sempre intimamente ligada ao uso que os povos faziam dos recursos naturais ao seu dispor. Entre eles, um dos recursos que mais contribuiu e continua a contribuir para a sobrevivência dos povos é o conjunto de espécies vegetais que constitui a flora de cada região do globo terrestre. Foi desses recursos que os diferentes povos, pela observação dos animais e pela experimentação, através do método de tentativa e erro, foram selecionando as plantas úteis para suprir as mais diversas necessidades, desde a alimentação ao seu uso como planta medicinal (HOLMSTEDT, 1995).

Em termos históricos podemos dizer que muitos dos fármacos usados na medicina ocidental durante o século XX resultaram de estudos etnofarmacológicos efetuados inicialmente pelos médicos e naturalistas, alguns dos quais integraram as expedições científicas que os europeus realizaram às diferentes regiões geográficas do globo a partir do século XVI. Dos relatos do uso e das amostras de muitas drogas utilizadas pelos povos indígenas, com que os europeus contactaram, resultou a experimentação, o estudo e a inclusão de muitas dessas drogas nas farmacopéias (COX, 1994).

Atualmente, a estratégia utilizada para a utilização de plantas medicinais é a abordagem etnofarmacológica, que consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades locais que fazem uso da flora medicinal com estudos químicos/farmacológicos. Este método permite a formulação de hipóteses quanto às atividades farmacológicas e às substâncias-alvos responsáveis pelas ações terapêuticas relatadas pelas populações usuárias (ELISABETSKY; SETZER, 1985; ELISABETSKY, 1987).

A consideração de conhecimentos populares acerca do uso de plantas medicinais possibilitou a descoberta de alguns fármacos, dentre eles; atropina, artemisina, colchicina, digoxina, efedrina, morfina, pilocarpina, quinina, reserpina, taxol, vincristina e vinblastina (GILANI, 2005).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1998), 65 a 80% da população mundial utilizam as plantas medicinais como primeira alternativa em cuidados de saúde. Contudo, poucas plantas, menos de 10%, têm estudos científicos que as validem quanto à qualidade, eficácia e segurança (GARCIA, 2009). No entanto, os estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos de plantas

medicinais tem crescido expressivamente, um exemplo importante foi a obtenção do oseltamivir, fármaco derivado a partir de modificação química do Anis estrelado.

Existem no mundo cerca de 250.000 a 300.000 espécies de plantas sendo que o Brasil possui cerca de 20% da flora mundial e somente uma pequena parte é alvo de pesquisas científicas (CALIXTO, 2005).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), fitoterápico é o medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Existem 3 formas de registro para medicamentos fitoterápicos. O primeiro obedece um sistema de pontuação para cada tipo de referência bibliográfica dentro de uma lista padronizada devendo atingir no mínimo 6 pontos, fitoterápicos já estudados em outros países. O segundo sistema de registro baseia-se na comprovação de segurança de uso (toxicologia pré-clínica e clínica) e de eficácia terapêutica (farmacologia pré-clínica e clínica) do medicamento e o terceiro sistema onde o registro é feito a partir de levantamento bibliográfico (etnofarmacológico e de utilização, documentações tecnicocientíficas ou publicações) que comprove indicação de uso, ausência de risco tóxico ao usuário e comprovação de uso seguro por no mínimo 20 anos, fitoterápicos de uso tradicional. Os medicamentos fitoterápicos, como todos os outros medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada, eficácia e segurança de uso para a população (BRASIL, 2004).

## 1.1 ÚLCERA PÉPTICA

### 1.1.1 Etiologia

A úlcera péptica pode ser dividida de acordo com a sua localização em úlcera gástrica e úlcera duodenal e representa uma condição patológica que afeta grande parte da população mundial e que apresenta diversos fatores de risco, tais como: estresse, tabagismo, ingestão de bebidas alcoólicas, deficiências nutricionais e uso crônico de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) (ISHIHARA *et al.*, 2008).

A fisiopatologia destas úlceras é multifatorial. É o resultado de um desequilíbrio entre fatores de agressão (HCl, pepsina, *Helicobacter pylori*) e fatores

de proteção da mucosa (prostaglandinas, muco, bicarbonato, óxido nítrico e outros) (ARUN; ASHA, 2008) e da sua interação com os fatores exógenos (GOTTELAND *et al.*, 2002).

### **1.1.2 Fatores agressores da mucosa gástrica**

#### **1.1.2.1 Ácido clorídrico e pepsina**

O ácido clorídrico juntamente com a pepsina configuram-se como importantes fatores de agressão da mucosa gástrica (ABDEL-SALAM *et al.*, 2001). Contudo, a presença do suco gástrico na luz do estômago, não é o único fator na patogênese da gastroenteropatia provocada por AINEs, por exemplo, mas é um importante fator de contribuição da cronicidade destas lesões, interferindo com a homeostase e inativação de fatores que são importantes na defesa e reparação da mucosa gástrica (WALLACE, 2001).

Outras substâncias endógenas, como a bile e enzimas pancreáticas, também participam do processo de injúria da mucosa duodenal (ABDEL-SALAM *et al.*, 2001).

#### **1.1.2.2 Anti-inflamatórios não-esteroidais**

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são os principais agentes relacionados à úlcera gástrica (HEEBA *et al.*, 2009).

Aproximadamente 20% dos usuários de AINE's desenvolvem algum tipo de úlcera gástrica ou duodenal (WALLACE, 2001).

Os AINEs inibem a ciclooxigenase (COX) e conseqüentemente a produção de prostaglandinas  $E_2$  ( $PGE_2$ ) e  $I_2$  ( $PGI_2$ , prostaciclina) e reduzem a intrínseca habilidade da mucosa gástrica em resistir a injúria induzida por agressores endógenos e exógenos (HEEBA *et al.*, 2009).

Os AINEs reduzem o fluxo sanguíneo e provocam lesão da mucosa gástrica através de diversos mecanismos incluindo a inibição da síntese de prostaglandinas (PG), inibição da produção de muco e secreção de bicarbonato (retrodifusão de íon  $H^+$ ), redução da hidrofobicidade da camada de muco, geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), peroxidação lipídica, infiltração de leucócitos e indução de apoptose (CHAN, 2001; HEEBA *et al.*, 2009).

O uso de AINEs, especialmente os inibidores da ciclooxigenase 2 (COX-2), permanece limitado pela capacidade desses agentes de provocar ulceração gastroduodenal (WALLACE, 2001; BLANDIZZI *et al.*, 2009) e alterações cardiovasculares, principalmente através da diminuição da vasodilatação mediada pela prostaciclina, agregação plaquetária mediada também pela prostaciclina e tramboxano A2 (TXA2) e maior risco de desenvolvimento de aterosclerose (ARAÚJO *et al.*, 2005).

#### 1.1.2.3 Etanol

O uso excessivo de álcool etílico resulta em lesão gástrica caracterizada por edema de mucosa, hemorragias subepiteliais, exfoliação celular e infiltração de células inflamatórias. Estudos sobre a patogênese da úlcera gástrica induzida por etanol sugerem que o evento inicial no processo são as alterações no endotélio vascular resultando em aumento da permeabilidade vascular, formação de edema e alterações epiteliais. Contudo os mecanismos pelos quais o etanol provoca lesão gástrica dependem da concentração do etanol e não são totalmente conhecidos, sendo que soluções mais concentradas exibem efeito local e soluções mais diluídas efeito central culminando no estímulo da liberação de HCl. Outros fatores também estão implicados, dentre eles, produtos do metabolismo do ácido araquidônico, radicais livres derivados de oxigênio e produtos liberados pelos mastócitos (JAHOVIC *et al.*, 2007).

O etanol provoca congestão capilar que precede a total estase do fluxo sanguíneo na área da mucosa gástrica lesionada (ABDEL-SALAM *et al.*, 2001), provoca também aumento da permeabilidade da mucosa e liberação de produtos vasoativos causando dano vascular e necrose das células da mucosa gástrica. As ERO têm importante papel na patogênese das lesões gástricas provocadas por etanol (ARUN; ASHA, 2008).

#### 1.1.2.4 Estresse fisiológico

Estresse fisiológico denota o estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e, ao perturbarem a homeostasia, disparam um processo de adaptação caracterizado, entre outras alterações, pelo aumento de

secreção de adrenalina produzindo diversas manifestações sistêmicas, que podem ser psicológicas ou fisiológicas. O termo estresse refere-se a uma resposta geral e inespecífica do organismo a um agente ou a uma situação estressante (MARGIS *et al.*, 2003).

O estresse induz a peroxidação lipídica a partir do aumento dos níveis de peroxidase lipídica. A consequência desse processo é o aumento da geração de ERO ocasionando, conseqüentemente, dano oxidativo que é considerado fator comum na patogenia de diferentes modelos experimentais e clínicos de úlcera (SAIRAM *et al.*, 2002).

Estudos revelam que a ativação de nervos sensores que atuam no trato gastrointestinal (TGI) podem influenciar a função secretora do estômago e tem um importante papel no mecanismo de integridade da mucosa gástrica e citoproteção por aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa via liberação de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) pelas terminações nervosas aferentes (BRZOZOWSKI *et al.*, 2008).

#### 1.1.2.5 Motilidade gastrintestinal

Dentre os vários fatores responsáveis pela regulação da motilidade gastrintestinal estão a acetilcolina e a serotonina (JEONG *et al.*, 2009). A serotonina presente nos nervos entéricos é sintetizada no sistema nervoso entérico pelos neurônios serotoninérgicos que constituem cerca de 2% de todos os neurônios mesentéricos (SIKANDER *et al.*, 2009). A ativação intrínseca de subtipos de receptores de serotonina, especialmente 5-HT<sub>3</sub> e 5-HT<sub>4</sub>, em nervos aferentes pode estimular o peristaltismo e a secreção ácida gástrica contribuindo para a formação de lesão gástrica (JEONG *et al.*, 2009).

#### 1.1.2.6 *Helicobacter pylori*

A bactéria *Helicobacter pylori* coloniza o estômago de mais da metade da população mundial e a infecção provocada, continua a ter um papel chave na patogênese de doenças gastroduodenais.

A colonização do estômago por *H. pylori* resulta no desenvolvimento de gastrite crônica nos indivíduos infectados e em uma extensão de pacientes a gastrite

evolui para complicações como úlceras e neoplasias gástricas (KANDULSKI *et al.*, 2008).

Indivíduos infectados com *H. pylori* e que utilizam AINE's têm uma diminuição do fluxo sanguíneo na mucosa duodenal , sendo que o fluxo da mucosa gástrica permanece praticamente inalterado (CHAN, 2001).

A forte correlação entre a colonização por *H. pylori* e a úlcera gástrica está bem estabelecida por um grande número de estudos. O resultado clínico da infecção é altamente variável e depende do hospedeiro, fatores ambientais e virulência da bactéria (KANDULSKI *et al.*, 2008).

#### 1.1.2.7 Tabagismo

Estudos epidemiológicos indicam que o tabagismo está comumente relacionado ao desenvolvimento de úlcera gástrica, sendo o mesmo um altíssimo fator de risco para o desenvolvimento de câncer gástrico (GOTTELAND *et al.*, 2002).

A úlcera gástrica e duodenal é mais prevalente em fumantes que em não fumantes. O tabagismo provoca diminuição da secreção de bicarbonato, diminuição da pressão do esôfago e esfíncter pilórico e diminuição da cicatrização de úlceras induzidas por medicamentos (PASUPATHI *et al.*, 2009).

Tem sido demonstrado em estudos que o tabagismo diminui os efeitos terapêuticos dos antagonistas de receptores H<sub>2</sub> (GOTTELAND *et al.*, 2002; PASUPATHI *et al.*, 2009), estimula a secreção de pepsina, promove o refluxo de conteúdo do duodeno para o estômago, aumenta a produção de radicais livres e liberação de fator de agregação plaquetária (PAF). Também provoca diminuição de fatores de proteção como o muco, prostaglandinas e fluxo sanguíneo da mucosa (GOTTELAND *et al.*, 2002).

### 1.1.3 Fatores protetores da mucosa gástrica

#### 1.1.3.1 Prostaglandinas

As prostaglandinas (PGs) representam o principal fator de proteção da mucosa gástrica, são eicosanóides derivados da COX-1 e COX-2 e estão envolvidos em uma variedade de processos fisiológicos e patológicos no TGI.

As PGs estão presentes em todo TGI. Dentre elas, a PGE<sub>2</sub> e a PGI<sub>2</sub> (prostaciclina) são as produzidas em maior quantidade, mais conhecidas e com maior variedade de ações (DING *et al.*, 1997).

A PGI<sub>2</sub> tem um importante papel na citoproteção e vasodilatação da mucosa gástrica (WANG *et al.*, 2005).

A produção de PGs pela ciclooxygenase na mucosa gástrica mantém uma adequada circulação, estimula a produção de muco e secreção de bicarbonato. A diminuição dos níveis de PGs, geralmente provocada por AINE's, provoca aumento da secreção ácida, possibilitando o surgimento de um quadro de úlcera gástrica (HEEBA *et al.*, 2009).

Estudos farmacológicos têm classificado os receptores de PGE<sub>2</sub> em 4 subtipos, EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub> e EP<sub>4</sub>, presentes em todo TGI. No estômago o receptor EP<sub>1</sub> está presente na camada muscular gástrica e os receptores EP<sub>3</sub> e EP<sub>4</sub> foram encontrados em células do epitélio gástrico e células parietais (DING *et al.*, 1997). O receptor de PGI<sub>2</sub> é denominado de IP (WANG *et al.*, 2005).

#### 1.1.3.2 Circulação sanguínea

Nos últimos anos, tem sido destacadas evidências experimentais que enfatizam o papel do fluxo sanguíneo e em particular da microcirculação na patogênese da lesão gástrica. O fluxo sanguíneo adequado participa do processo de proteção da mucosa e a sua diminuição compromete essa proteção (ABDEL-SALAM *et al.*, 2001).

O fluxo sanguíneo da mucosa contribui para a manutenção da integridade da mucosa gástrica. O estômago pode tolerar altos níveis de acidez, se houver um adequado fluxo sanguíneo para remover o excesso de íon hidrogênio (CHAN, 2001).

#### 1.1.3.3 Óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é um mediador químico que apresenta diversas funções. Ele é gerado a partir da L-arginina pela óxido nítrico sintase (NOS). O NO é considerado o 2º principal fator de defesa da mucosa gástrica e participa do processo de regulação da secreção ácida gástrica e modulação da integridade da mucosa gástrica (HEEBA *et al.*, 2009).

O NO está diretamente envolvido na regulação do fluxo sanguíneo gástrico e na microcirculação, o mesmo provoca relaxamento do músculo liso dos vasos sanguíneos. Isso ocorre através do aumento da  $[Ca^{2+}]$  que favorece a formação do complexo  $Ca^{2+}$ -calmodulina que provoca ativação da NOS que por sua vez aumenta os níveis de NO no citoplasma da célula endotelial. O aumento de NO provoca ativação da guanilato ciclase (GC) que converte o trifosfato de guanosina (GTP) em guanosina monofosfato cíclica (GMPc) provocando relaxamento da célula (OLINDA *et al.*, 2008).

O NO tem um importante papel regulatório na resposta fisiológica. No TGI, doadores de NO provocam diminuição da secreção gástrica por um mecanismo de distensão (HASEBE *et al.*, 2005).

O NO é um dos principais fatores envolvidos na regulação do fluxo gástrico e da microcirculação gástrica por promover relaxamento da musculatura lisa dos vasos sanguíneos (OLINDA *et al.*, 2008).

#### 1.1.3.4 Mucosa

A habilidade do estômago e duodeno em resistir à injúria induzida por enzimas e ácido clorídrico, além de outros agentes irritantes é referida como mecanismo de defesa da mucosa.

A secreção de muco e bicarbonato, a vasodilatação da mucosa e a rápida regeneração do epitélio estão entre os componentes de defesa da mucosa que são fortemente regulados pelas PGs (WALLACE; FIORUCCI, 2003).

O muco é uma substância viscosa e elástica, não homegênea, formada por biopolímeros, que reveste a mucosa do estômago, bem como de todo TGI (LAI *et al.*, 2009).

O muco é uma barreira semipermeável que reveste e protege a maior parte da superfície do tecido endotelial do TGI (CONE, 2009).

A função do muco varia entre os diferentes organismos, dentre elas, a proteção contra patógenos, toxinas, substâncias irritantes e pequenas partículas provenientes do ambiente externo. Também auxilia no transporte de substâncias do estômago para o cólon, servindo como um lubrificante durante o peristaltismo e minimizando a fricção entre os órgãos (LAI *et al.*, 2009).

## 1.2 SECREÇÃO ÁCIDA GÁSTRICA

A secreção ácida gástrica é influenciada por fatores nervosos e hormonais. O processo fisiológico é controlado por um número de segundos mensageiros cujas vias são ativadas como resultado da ligação de gastrina, acetilcolina e histamina à receptores específicos sobre a superfície basolateral das células parietais. O efeito estimulatório da acetilcolina e gastrina é mediado por um aumento do cálcio citosólico, enquanto o da histamina é mediado pela ativação da adenilato ciclase e formação de adenosina monofosfato cíclica (cAMP). A potenciação entre histamina e gastrina ou acetilcolina reflete na interação pelo receptor entre as vias distintas bem como a habilidade da acetilcolina e gastrina em liberar histamina das células tipo enterocromafins “enterochromaffin-like cells (ECL)”. A última etapa na secreção ácida gástrica, contudo, é a estimulação da bomba de prótons ( $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase) para secretar os íons hidrogênio ( $H^+$ ) no lúmen gástrico em troca do íon potássio ( $K^+$ ) e o transporte ativo do íon  $Cl^-$  para canalículos nas células que se comunicam com a luz das glândulas gástricas e, deste modo, com o próprio estômago. A secreção das células parietais é uma solução isotônica de HCl. A enzima  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase permanece em repouso na membrana dos túbulos citoplasmáticos, nas microvilosidades dos canalículos secretórios e, após estímulo das células parietais, ocorre uma fusão das vesículas citoplasmáticas com as microvilosidades dos canalículos secretórios promovendo a secreção de  $H^+$  em troca do íon  $K^+$  (SAVARINO *et al.*, 2009).

### 1.2.1 Fatores estimulantes da secreção ácida gástrica

#### 1.2.1.1 Gastrina

A gastrina é o principal regulador fisiológico da secreção ácida gástrica (SAVARINO *et al.*, 2009; CHAKRAVORTY *et al.*, 2009). A gastrina é um hormônio peptídico produzido e secretado pelas células G, localizadas no antro gástrico, durante a alimentação, cuja secreção é regulada por mecanismos de “feedback” envolvendo a secreção gástrica (ROBERTSON *et al.*, 2009).

As células G são moduladas pela somatostatina que provocam diminuição da secreção de gastrina (KIDD *et al.*, 2007).

Os receptores de gastrina estão presentes nas células parietais, são ativados pela gastrina juntamente com a histamina e acetilcolina que também possuem receptores nas células parietais. Essas ligações aos receptores específicos de cada substância ativam a secreção gástrica (CHAKRAVORTY *et al.*, 2009).

A gastrina, além de estimular diretamente as células parietais, também estimulam as células ECL a liberar histamina. A gastrina estimula os receptores de colecistocinina e gastrina (CCK<sub>2</sub>) presentes nas células parietais e nos receptores para gastrina das células ECL (SAVARINO *et al.*, 2009), estimula a secreção ácida gástrica e a proliferação de células da mucosa gástrica (ISHIHARA *et al.*, 2008).

#### 1.2.1.2 Histamina

A histamina, uma amina biogênica formada a partir da histidina pela histidina descarboxilase, age como mediador bioquímico de uma série de reações de células e tecidos em resposta à inflamação e ação de antígenos. A histamina é uma das responsáveis pela modulação de células epiteliais, do músculo liso e da função do sistema imunológico. No estômago a histamina é liberada pelas células ECL, localizadas nas glândulas oxínticas, e ativam os receptores H<sub>2</sub> das células parietais como parte do processo de regulação da secreção ácida gástrica (ANCHA *et al.*, 2007; KIDD *et al.*, 2007).

Alguns moduladores neurais interferem na liberação de histamina pelas células ECL. Acetilcolina, dopamina, gastrina e peptídeo ativador de adenilato ciclase pituitário (PACAP) são estimulantes das células ECL. O CGRP e a galamina, um bloqueador neuromuscular, são substâncias inibidoras das células ECL (KIDD *et al.*, 2007).

#### 1.2.1.3 Acetilcolina

O estômago contém neurônios colinérgicos que inervam e estimulam as células parietais. Essa estimulação é feita pela acetilcolina (FURNESS, 2000).

Os receptores muscarínicos de acetilcolina consistem em 5 subgrupos (M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub>) que são amplamente expressos, mediando diversas funções autonômicas em alguns órgãos, incluindo o TGI. Os receptores muscarínicos M<sub>1</sub> a M<sub>5</sub> são expressos no estômago, sendo que somente o receptor M<sub>5</sub> não é expresso na mucosa do

estômago. A secreção ácida gástrica é regulada pela ativação de receptores muscarínicos, fato evidenciado em função da secreção ácida gástrica ser inibida pela atropina (antagonista muscarínico) e estimulada pela acetilcolina a qual é liberada pelas fibras pós-ganglionares, do nervo vago, no sistema nervoso entérico. As células parietais são conhecidas por expressarem receptores muscarínicos  $M_1$  e  $M_3$ . A acetilcolina também estimula as células G a secretarem gastrina e as células ECL a liberarem histamina (AIHARA *et al.*, 2005).

## 1.2.2 Fatores inibidores da secreção ácida gástrica

### 1.2.2.1 Somatostatina

A somatostatina, cuja liberação é estimulada por ativação colinérgica (SHRESTHA *et al.*, 2009), é um peptídeo regulatório, produzido e liberado pelas células D, que modula as células G provocando diminuição da secreção de gastrina que estimula as células ECL, portanto é um potente inibidor da secreção de histamina (KIDD *et al.*, 2007; SAVARINO *et al.*, 2009), consequentemente inibe a secreção de ácido gástrico e pepsina (JAHOVIC *et al.*, 2007).

Diversos estudos demonstram que todos os vertebrados têm uma família de genes para a produção de somatostatina. São 5 receptores já descritos, SSTR1 a SSTR5 (SCHONBRUNN, 2008; TOSTIVINT *et al.*, 2008). Destes receptores somente o SSTR1 está presente em todas as espécies de vertebrados (TOSTIVINT *et al.*, 2008).

### 1.2.2.2 Prostaglandinas

As PGs, principalmente as  $E_1$  e  $E_2$ , diminuem a secreção ácida gástrica basal ao se ligarem aos receptores de prostaglandinas (PGR) presentes nas células parietais (WALLACE, 2001).

Após a ligação das PGs aos seus receptores ocorre ativação da proteína G inibitória ( $G_i$ ) e consequentemente inibição da enzima adenilato ciclase que provoca um bloqueio do aumento do AMPc estimulado pela histamina inibindo assim a secreção ácida gástrica (TWARDOWSCHY, 2007).

Diante da revisão da literatura e escassez de informações sobre a espécie *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent e suas possíveis ações terapêuticas relatadas no uso popular (PILATI; SOUZA, 2006), este trabalho se propõe a avaliar as possíveis atividades do extrato aquoso da planta no trato gastrointestinal (visto a alta incidência de patologias que causam desconforto gastrointestinal oriundas de diversos agentes etiológicos) buscando respaldar cientificamente dados etnobotânicos e demonstrar ou não o potencial desta espécie vegetal para o desenvolvimento de fitofármacos.

### 1.3 MORFOLOGIA E OCORRÊNCIA NATURAL DE *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent

A espécie *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (Figuras 1 e 2) pertence à família Ulmaceae, é uma angiosperma e dicotiledônea pertencente à ordem Rosales. O grupo inclui 25 a 30 espécies classificadas nos gêneros; *Ampelocera*, *Chaetachme*, *Celtis*, *Hemiptelea*, *Holoptelea*, *Phyllostylon*, *Planera*, *Ulmus* e *Zelkova*. A planta é caracterizada como arbusto ou pequena árvore, apoiante, de copa globosa, de até 10 m de altura, com ramos geralmente em forma de zigue-zague e compridos (7m), muito flexíveis, armados de espinhos estipulares curtos, agudos, solitários e recurvados e com ramos pequenos, comprimidos e pubescentes. Possui tronco tortuoso, com casca externa castanho-clara, finamente fissurada que fornece madeira forte e muito flexível. Sua casca possui bastante tanino (CORRÊA, 1984). Possui flores pequenas, amarelo-esverdeadas ou brancas, dispostas em cimeiras curtas ou axilares e paniculadas; estígmata lineares e bífidos; ovário unilocular. Possui fruto tipo drupa ovóide-globosa, angulosa, obtusa ou tetrágona, amarela, contendo polpa adocicada e comestível. As folhas são curto-pecioladas (pecíolos pulverulentos), ovado-oblongas ou ovadas, muito variáveis de 5-13 cm de comprimento e 3-7 cm de largura, agudas ou curto-acuminadas no ápice, raramente obtusas, inteiras ou grosso-serreado-crenadas na metade superior, arredondadas ou cordiformes e frequentemente um pouco inequiláteras na base, glabras ou quase glabras nas duas páginas. A grande variação no tamanho de suas folhas, deu a espécie vasta sinonímia botânica. *Celtis aculeata* Sw., *Celtis aculeata* var. *laevigata* (Kunth) Planch., *Celtis alnifolia* (Wedd.) Planch., *Celtis asperula* Miq., *Celtis bonplandiana* Planch., *Celtis brevifolia* (Klotzsch) Miq., *Celtis dichotoma* (Klotzsch) Miq., *Celtis goudotii* Planch., *Celtis hilariana* Planch., *Celtis morifolia* Planch., *Celtis*

*pavonii* Planch., *Celtis spinosa* Spreng., *Celtis spinosissima* (Wedd.) Miq., *Celtis triflora* (Ruiz ex Klotzsch) Miq., dentre inúmeras outras (CORRÊA, 1984).

Pode apresentar grande variação no nome popular, em diversas partes do Brasil, como esporão-de-galo (Goiás), tela, taleira (Rio Grande do Sul), gurrupιά e gumbixava (São Paulo) e sarā no estado do Paraná (PILATI; SOUZA, 2006; GIEHL; JARENKOW, 2008).

Segundo Souza e Lorenzi (2008), atualmente o gênero *Celtis* está classificado na família Cannabaceae, pertencente à Ordem Rosales, de acordo com o sistema de classificação APGII de 2003. Resolveu-se manter o gênero *Celtis* na família Ulmaceae pelo fato desta ser a família mais antiga, e até que as mudanças segundo o sistema de classificação sejam confirmadas e dadas por encerradas.

Por fatores culturais e socio-econômicos a população de Goiás utiliza com frequência plantas medicinais como terapia alternativa. Em Goiânia e cidades vizinhas é comum a comercialização dessas plantas por pessoas denominadas de raizeiros que atuam em feiras livres, mercados municipais e bancas instaladas em vias públicas (TRESVENZOL *et al.*, 2006). Relatos populares espontâneos no Estado de Goiás indicam o uso do Esporão-de-galo sob a forma de chá ou abafado de suas folhas para o tratamento de várias queixas tais como, dores no corpo, reumatismo, dores no peito, asma, cólicas, má-digestão e como diurética. Plantas destinadas ao tratamento de distúrbios gástricos são muito procuradas na prática de auto-medicação. Neste sentido, é necessário a realização de estudos científicos que validem essa utilização através da demonstração da eficácia e segurança.

*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent é um arbusto da família Ulmaceae comumente conhecida no Estado de Goiás por esporão-de-galo, citado por Silva e Proença (2008) como uma planta medicinal utilizada como diurética no município de Ouro Verde-GO, sendo no Estado de Goiás, sua principal utilização.



Figura 1 – Árvore de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo), zona rural em Goiânia-GO, fevereiro de 2007. PAULA, M. A.



Figura 2 – Folhas e frutos de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo), zona rural em Goiânia-GO, fevereiro de 2007. PAULA, M. A.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar a caracterização farmacognóstica e avaliar a ação farmacológica do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (esporão-de-galo) sobre o trato gastrintestinal.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrever as características morfológicas e anatômicas das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent.
2. Determinar o teor de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e o teor de água na amostra.
3. Realizar a prospecção fitoquímica com o pó das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent
4. Realizar o teste geral de atividade farmacológica com o extrato aquoso das folhas do esporão-de-galo (EAEG).
5. Avaliar a atividade anti-ulcerogênica em modelos de lesões gástricas induzidas por indometacina, etanol ou estresse.
6. Avaliar a atividade do EAEG na secreção gástrica pelo método da ligadura pilórica visando determinar o volume, a acidez livre (pH) e a acidez total da secreção gástrica.
7. Avaliar a atividade do EAEG na motilidade intestinal pelo método do carvão ativado.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 MATERIAL BOTÂNICO**

Amostras de folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent foram coletadas em mata ciliar do município de Campestre – Goiás, Brasil (612 m de altitude, 16° 46' 01,7" Sul, 49° 42' 00,6" Oeste). O material botânico coletado foi identificado pelo Professor Dr. José Realino de Paula – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás (UFG) e uma exsicata foi depositada no Herbário da UFG sob o número 40110.

#### **3.2 REAGENTES, SOLUÇÕES E DROGAS**

##### **3.2.1 Reagentes**

Ácido acético glacial PA, ácido clorídrico PA, ácido fosfórico PA, ácido propiônico PA, ácido sulfúrico PA, amônia, anidrido acético PA, azul de alcian, carvão ativado, clorofórmio, éter etílico, formaldeído 37% PA, hidróxido de potássio PA, magnésio em fita e safranina.

##### **3.2.2 Soluções**

Acetato de chumbo 10%, acetato de cobre 4%, ácido bórico 10%, ácido 3,5 dinitrobenzóico 1%, ácido oxálico 10%, ácido pícrico 2%, ácido sílico-túngstico 1%, ácido tânico 0,5 e 1%, cloreto de alumínio 5%, cloreto de sódio 0,9 e 5%, cloreto férrico 2, 4,5 e 9%, etanol 50, 70, 75 e 96%, fenolftaleína 2%, glicerina 50%, glicose 5%, hidróxido de amônio 10%, iodo-bismutato de potássio, reagente de Steinmetz, solução alcoólica de brucina, solução aquosa de iodo em iodato de potássio, solução de gelatina 2,5%, sulfato de quinina 1%, formaldeído 37% PA e tetra-iodomercurato de potássio.

##### **3.2.3 Fármacos**

Indometacina (Indocid - Merck Sharp & Dohme) e ranitidina (Antak - Glaxosmithkline).

### 3.3 ANIMAIS

Os animais utilizados neste estudo foram camundongos albinos (*Mus musculus*) tipo Swiss, machos, pesando entre 25 e 35 g, obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Goiás.

Os tratamentos dos animais com o veículo (grupo controle), extrato e diferentes substâncias foram sempre realizados em concentrações adequadas para a administração de um volume constante de 10 mL/kg.

Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 h), com água e ração “*ad libitum*”, permanecendo no laboratório por um período de adaptação de pelo menos 72 horas antes dos experimentos.

Todos os experimentos foram desenvolvidos seguindo normas que discorrem sobre cuidados com animais de laboratório (CIOMS, 1985) sendo seguidas todas as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL) e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) depois de devida aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG, protocolo nº 106/2008.

### 3.4 DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA

#### 3.4.1 Descrição macroscópica

A caracterização macroscópica das folhas foi realizada à vista desarmada e através de observação com o auxílio de lupa, quando necessário, segundo parâmetros descritos por Oliveira *et al.* (1998) e Oliveira e Akisue (2000).

Para analisar o padrão de venação, as folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent foram submetidas ao processo de diafanização, segundo método proposto por Shobe e Lersten (1967), com as seguintes modificações: clarificação com solução de hidróxido de sódio a 10% (24 a 48 horas), após este período, as folhas foram lavadas em água destilada com 3 trocas de 10 minutos cada; em seguida foram colocadas numa solução de hipoclorito de sódio a 12% (1 hora), lavando

novamente em água destilada 3 trocas, 10 minutos cada; logo após foram desidratadas em série etanólica crescente (30, 50, 70, 95%, por 20 minutos em cada etapa); logo a seguir passagem em solução de xileno-etanol a 100% 1:1 (1 hora); e coloração com safranina 1% em mistura de etanol 100% e xilol (1:1 v/v). As folhas foram distendidas em placas de vidro, tendo como meio de montagem resina sintética (PAIVA *et al.*, 2006) e escaneadas. Para a descrição e classificação do padrão de nervação utilizou-se os tipos básicos definidos por Hickey (1979). As imagens obtidas foram registradas por máquina digital Sony (MPEG-VX).

### 3.4.2 Descrição microscópica

Fez-se secções de aproximadamente 1,0 x 0,5 cm na folha fresca, à mão livre, nas seguintes regiões da lâmina foliar: segmentos da nervura principal, região internervural e bordos. Na região mediana do pecíolo fez-se secções de aproximadamente 0,5 cm. Estas secções foram fixadas com FPA (formaldeído a 37% PA, ácido propiônico PA e etanol a 70%) na proporção de 1:1:18 (v/v) por 3 dias e posteriormente conservadas em etanol 70% (JOHANSEN, 1940; KRAUS; ARDUIN, 1997).

Foram realizados cortes transversais, à mão livre e com o auxílio do micrótomo de mesa, do pecíolo, nervura principal, internervura e bordos (base, região mediana e ápice) da lâmina foliar. Estes cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 30% (v/v), lavados com água destilada, neutralizados com ácido acético a 5%, novamente lavados com água destilada, finalmente submetidos ao processo de dupla coloração azul de alcian/safranina (9:1) e montados em lâmina com glicerina a 50% (v/v) conforme técnica adaptada de Bukatsch (1972 apud KRAUS; ARDUIN, 1997). Os cortes paradérmicos da lâmina foliar fresca foram tratados de maneira semelhante.

Alguns cortes foram submetidos ao reagente de Steinmetz (COSTA, 2001) a fim de conhecer alguns constituintes celulares, tais como, amido, celulose, lignina, suberina, lipídeos diversos, látex, gomo-resinas e cutina.

As fotomicrografias referentes às estruturas anatômicas foram feitas em fotomicroscópio modelo ZEISS-AXIOSKOP, com utilização de filme fotográfico Kodacolor ASA 100. As escalas que acompanham as ilustrações foram obtidas nas mesmas condições ópticas.

### 3.5 OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO EXTRATO

As folhas do esporão-de-galo (*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent) foram dessecadas em estufa a 40°C com ventilação forçada e, em seguida, trituradas em moinho de facas tipo Willey.

O extrato aquoso das folhas do esporão-de-galo (EAEG) foi obtido por infusão do pó das folhas a 3% (p/v) a uma temperatura de 80°C por 30 min, com agitação a cada 10 min. Após filtração à vácuo, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida, a uma temperatura de 45°C. Posteriormente foi determinado o rendimento do extrato pelo método do peso seco. Foram feitas sucessivas diluições do EAEG a fim de se obter concentrações de 7, 20 e 60 mg/mL, concentrações estas, utilizadas nos experimentos. As soluções do EAEG foram sempre preparadas imediatamente antes do seu uso com água filtrada.

### 3.6 MÉTODOS FITOQUÍMICOS

#### 3.6.1 Determinação do teor de cinzas totais

Pesou-se 3 g do pó das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent em cadinho de porcelana previamente calcinado a 500° C, resfriado e pesado. O material botânico foi distribuído de forma uniforme, incinerado em mufla até obtenção de cinzas claras, com temperatura não ultrapassando 450°C. Após, o material foi resfriado em dessecador, pesado e calculada a porcentagem de cinzas totais em relação à amostra inicial (FARM. BRAS. IV, 1988). O experimento foi realizado em triplicata.

#### 3.6.2 Determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido

Ferveu-se o resíduo obtido na determinação de cinzas totais durante 5 minutos com 25 mL de HCl SR em cadinho coberto com vidro de relógio. Posteriormente o vidro de relógio foi lavado com 5 mL de água quente e o conteúdo da lavagem depositado no cadinho. Recolheu-se o material insolúvel em ácido sobre papel de filtro isento de cinza, lavou-se com água quente até que o filtrado se tornasse neutro. Transferiu-se o papel de filtro contendo o resíduo para o cadinho

original, secou-se sobre chapa quente e incinerou-se a cerca de 500°C até peso constante (FARM. BRAS. IV, 1988). O teste foi realizado em triplicata. Calculou-se a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação a amostra inicial.

### 3.6.3 Determinação do teor de água

Pesou-se 3 g do pó de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent foram em cadinho de porcelana previamente calcinado a 100-105°C por 30 minutos e resfriado. A dessecação foi realizada à temperatura de 100-105°C durante 5 horas antes da primeira pesagem. Continuou o processo com pesagens em intervalos de 1 hora. O teste foi concluído quando não houve variação maior que 5 mg entre duas pesagens consecutivas, considerando o peso constante (FARM. BRAS. IV, 1988). A determinação do teor foi realizada em triplicata.

### 3.6.4 Prospecção fitoquímica

A análise qualitativa das principais classes de metabólitos secundários presentes nas folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent, coletadas no município de Campestre-GO, foi realizada na amostra pulverizada. Utilizou-se, nos experimentos, metodologias adaptadas de Costa (2001), Matos (1989) e Matos e Matos (1989), descritas a seguir.

#### 3.6.4.1 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos

Para a pesquisa dos possíveis heterosídeos antraquinônicos, presentes na amostra pulverizada, pesou-se 1 g da amostra e acrescentou-se 30 mL de etanol 75% (v/v). A mistura foi aquecida durante 3 minutos em chapa quente e, em seguida, filtrada ainda quente através de papel de filtro.

Para a caracterização dessa classe de metabólitos secundários transferiu-se 10 mL do filtrado para um béquer de 40 mL que foi designado (I) e 10 mL para outro béquer que foi designado (II). O conteúdo do béquer (I) foi acidificado com 0,5 mL de HCl a 10% (v/v) e levado à fervura por 2 minutos em chapa aquecedora, sendo que com o conteúdo do béquer (II) fez-se o mesmo procedimento, exceto a acidificação.

Os líquidos foram transferidos para tubos de ensaio designados de (I) e (II), respectivamente e após o resfriamento, adicionou-se, a cada um, 10 mL de éter etílico P.A., agitando-os levemente. Em seguida, separou-se 5 mL da fase etérea dos tubos (I) e (II), e acrescentou-se 4 mL de amônia 50% (v/v) em cada um, deixando-os em repouso por 5 minutos. Coloração do róseo ao vermelho na fase amoniacal foi considerada reação positiva para heterosídeos antraquinônicos.

#### 3.6.4.2 Pesquisa de heterosídeos digitálicos

Para a extração dos possíveis heterosídeos digitálicos presentes na amostra pulverizada pesou-se 2,5 g da amostra pulverizada, adicionou-se 25 mL de etanol 50% (v/v) e 10 mL de solução de acetato de chumbo 10% e levou-se à fervura por 4 minutos. Após o resfriamento, o volume foi completado para 25 mL com etanol 50% (v/v) e filtrado. Transferiu-se o filtrado para um funil de separação e extraiu-se por 2 vezes com 15 mL de clorofórmio P.A. A fração clorofórmica foi utilizada nas reações de pesquisa de heterosídeos digitálicos descritas abaixo:

**3.6.4.2.1 Reação de Liebermann-Burchard** (reação de caracterização do núcleo esteróide): Transferiu-se 3 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e levou-se à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo, adicionou-se 1 mL do reagente de Liebermann-Burchard, recém preparado (1 mL de clorofórmio P.A., 1 mL de anidrido acético P.A. e 3 a 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado). Aparecimento de cor do acastanhado ao esverdeado foi considerado reação positiva.

**3.6.4.2.2 Reação de Keller-Kiliani** (reação que detecta desoxi-açúcares): Evaporou-se, até a secura, 5 mL da fração clorofórmica num tubo de ensaio em banho-maria. Ao resíduo do tubo, adicionou-se um reagente recém-preparado que contém ácido acético glacial P.A. e cloreto férrico 9% na proporção de 3:0,1. O conteúdo do tubo foi homogeneizado e lentamente vertido para outro tubo de ensaio contendo 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Observou-se se houve desenvolvimento de um anel de coloração castanho-avermelhada na zona de contato, bem como se houve aparecimento de coloração azul-esverdeada na camada acética.

**3.6.4.2.3 Reação de caracterização do núcleo esteróide:** Evaporou-se 3 mL da fração clorofórmica até a secura numa cápsula de porcelana em chapa aquecedora. Acrescentou-se, ao conteúdo da cápsula, após resfriamento, 3 a 6 gotas de ácido fosfórico concentrado. Observou-se, sob luz ultravioleta, o aparecimento de fluorescência esverdeada, o que indicaria reação positiva.

**3.6.4.2.4 Reação de Kedde (reação específica para o anel lactônico):** Transferiu-se 6 mL da fração clorofórmica para um tubo de ensaio e levou-se à secura em banho-maria. Ao resíduo do tubo acrescentou-se 2 mL de etanol 50% (v/v), 2 mL de água destilada, 2 mL de reagente ácido 3,5 dinitrobenzóico a 1% recém-preparado em etanol 96% (v/v) e 2 mL de hidróxido de potássio 1 M. Após um repouso de 5 minutos observou-se o desenvolvimento de uma coloração castanho-avermelhada a vermelho-violeta que indicaria reação positiva.

#### 3.6.4.3 Pesquisa de heterosídeos flavonóides

Para verificar, na amostra pulverizada, a presença de possíveis heterosídeos flavonóides, pesou-se, 7 g da amostra e adicionou-se 60 mL de etanol a 70% (v/v). Essa mistura foi fervida durante 5 minutos e filtrada em papel de filtro umedecido com etanol a 70% (v/v).

Com o filtrado obtido anteriormente foram realizadas as seguintes reações a fim de caracterizar essa classe de metabólitos secundários:

**3.6.4.3.1 Reação de Shinoda:** Transferiu-se 3 mL do filtrado para um tubo de ensaio. Adicionou-se cerca de 1 cm de fita de magnésio fina e acrescentou-se cuidadosamente 1 mL de HCl concentrado. A presença de heterosídeos flavonóides na amostra seria observada pelo aparecimento de coloração vermelha.

**3.6.4.3.2 Reação oxalo-bórica:** Evaporou-se 5 mL de solução extrativa em uma cápsula de porcelana. Juntou-se ao resíduo semi-seco 3 mL de solução de ácido bórico a 3% e 1 mL de solução de ácido oxálico a 10%. Evaporou-se até secura e adicionou-se, ao resíduo seco, 7 mL de éter etílico P.A. Observou-se sob luz ultravioleta a ocorrência ou não de fluorescência.

**3.6.4.3.3 Reação com ácido sulfúrico concentrado:** Adicionou-se 3 mL da solução extrativa numa cápsula de porcelana e deixou-se evaporar até a semi-secura. Juntou-se 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e observou-se sob luz ultravioleta quanto ao aparecimento de fluorescência.

**3.6.4.3.4 Reação com hidróxidos alcalinos:** Transferiu-se 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de hidróxido de sódio a 20%, agitou-se e observou-se o desenvolvimento de coloração amarela.

**3.6.4.3.5 Reação com cloreto de alumínio:** Transferiu-se cerca de 5 mL da solução extrativa para um béquer ou cápsula de porcelana. Concentrou-se à metade e transferiu-se para um pedaço de papel de filtro espalhando sobre toda a superfície. A seguir, umedeceu-se uma das regiões do papel com solução de cloreto de alumínio a 5% e observou-se sob luz ultravioleta quanto ao aparecimento de fluorescência.

**3.6.4.3.6 Reação com cloreto férrico:** Transferiu-se 3 mL da solução extrativa para um tubo de ensaio. Juntou-se 2 gotas de cloreto férrico a 4,5% e observou-se o aparecimento de coloração azul escura, verde escura ou marrom que indicaria reação positiva.

#### 3.6.4.4 Pesquisa de heterosídeos saponínicos

Para a extração dos possíveis heterosídeos saponínicos presentes na amostra pulverizada, pesou-se 1 g da amostra e adicionou-se em um béquer contendo 100 mL de água destilada. Essa mistura foi levada à fervura em chapa aquecedora por 5 minutos, adicionando-se, durante a decocção, carbonato de sódio em solução até a neutralização, que foi observada utilizando-se fita indicadora de pH. Logo em seguida, a mistura foi filtrada em algodão e ao filtrado acrescentou-se água destilada até completar um volume de 100 mL.

Para a caracterização dessa classe de metabólitos secundários montou-se uma bateria contendo 10 tubos de ensaio de tamanhos e diâmetros iguais. Os tubos de ensaio foram marcados em duas graduações diferentes: a primeira correspondente a 10 mL e a segunda 1 cm acima desta. Em seguida, adicionou-se

ao primeiro tubo 1 mL de solução extrativa e 9 mL de água destilada. Ao segundo tubo, adicionou-se 2 mL de solução extrativa e 8 mL de água destilada. Ao terceiro tubo adicionou-se 3 mL de solução extrativa e 7 mL de água destilada e assim por diante. Ao último tubo adicionou-se apenas solução extrativa (10 mL). Após essa montagem, cada tubo foi vigorosamente agitado por 20 segundos e deixado em repouso por 10 minutos. Observou-se o desenvolvimento ou não de espuma persistente.

#### 3.6.4.5 Pesquisa de taninos

Para a extração dos possíveis taninos presentes na amostra pulverizada, pesou-se 2 g da amostra. Posteriormente, adicionou-se 50 mL de água destilada e ferveu-se durante 5 minutos. Em seguida, filtrou-se a mistura ainda quente, utilizando-se papel de filtro. Completou-se o volume do filtrado obtido para 100 mL e procedeu-se a pesquisa de taninos.

Foi montada uma bateria contendo 6 tubos de ensaio. A cada tubo adicionou-se 5 mL da solução extrativa e procedeu-se as seguintes reações:

**3.6.4.5.1 Reação com gelatina:** Adicionou-se ao primeiro tubo, 5 gotas de solução de gelatina a 2,5% em solução de cloreto de sódio a 5%. A presença de taninos na amostra seria evidenciada pelo aparecimento de um precipitado branco.

**3.6.4.5.2 Reação com alcalóides:** Adicionou-se ao segundo tubo, 5 gotas de solução de sulfato de quinino a 1% em ácido sulfúrico a 5%. Ao terceiro tubo, adicionou-se 5 gotas de solução de brucina a 1% em ácido sulfúrico 5%. A presença de precipitado indicaria a existência de taninos na amostra.

**3.6.4.5.3 Reação com sais metálicos:** Ao quarto tubo adicionou-se 5 gotas de acetato de cobre a 4%. Ao quinto tubo acrescentou-se 2 gotas de cloreto férrico a 2%. O aparecimento de precipitado e coloração escura indicaria a existência de fenóis na amostra.

**3.6.4.5.4 Reação com hidróxidos alcalinos:** Ao sexto tubo adicionou-se 5 gotas de solução de hidróxido de sódio ou potássio a 20%. A presença de fenóis na

amostra seria observada pela ausência de precipitado e aumento da coloração amarela.

Para cada uma dessas reações, paralelamente, foi preparado um tubo controle com 5 mL de ácido tânico 0,5% e os reagentes da reação correspondente, a fim de comparar com o tubo teste.

#### 3.6.4.6 Pesquisa de alcalóides

Pesou-se 2 g da amostra pulverizada, adicionou-se 20 mL de ácido sulfúrico a 5%. Ferveu-se por 3 minutos, filtrou-se em papel de filtro e deixou-se o filtrado esfriar.

Esse filtrado foi submetido a pesquisa de alcalóides utilizando os reagentes gerais dos alcalóides preparados de acordo com Costa (2001) e Assumpção e Morita (1968). Abaixo estão descritos os reagentes e suas respectivas técnicas de preparo:

Reativo de Mayer: Dissolver em água 2,71 g de cloreto de mercúrio e 10 g de iodeto de potássio e, em seguida, completar o volume para 200 mL com água destilada. Agitar e filtrar.

Reativo de Dragendorff: Dissolver 8 g de subnitrito de bismuto em 20 mL de ácido nítrico a 30%. Dissolver, em separado, 22,8 g de iodeto de potássio em um volume mínimo de água destilada. Verter a primeira solução, pouco a pouco, sobre a segunda. Deixar em repouso algumas horas e filtrar. Completar o volume com água destilada para 100 mL. Guardar ao abrigo da luz.

Reativo de Bouchardat: Dissolver 4 g de iodeto de potássio e 2 g de iodo em 100 mL de água destilada.

Reativo de Bertrand: Dissolver 5 g de ácido sílico-túngstico em 100 mL de água destilada.

Reativo de Hager: Dissolver 2 g de ácido pícrico em 100 mL de água destilada.

Ácido Tânico: Dissolver 1 g de ácido tânico em 100 mL de água destilada.

A solução extrativa foi distribuída igualmente em 6 tubos de ensaio, sendo que em cada tubo, respectivamente, acrescentou-se 3 a 9 gotas dos reativos gerais para alcalóides citados acima. Montou-se, em paralelo, uma outra bateria de 6 tubos de ensaio, contendo 3 mL de solução padrão de sulfato de quinina 1%. Em

cada um destes tubos adicionou-se 3 a 9 gotas dos respectivos reativos gerais para alcalóides a fim de servirem de padrão com a primeira bateria de tubos testes.

A presença de alcalóides é demonstrada pelo aparecimento de precipitados nos tubos.

#### 3.6.4.7 Determinação do índice de intumescência (mucilagem)

Pesou-se exatamente 1 g do material vegetal pulverizado e colocou-se em proveta de 25 mL (125 mm comprimento X 16 mm de diâmetro interno) com tampa esmerilhada. Foi medido o volume ocupado pela planta seca ( $V_i$ ). Adicionou-se 25 mL de água e agitou-se a cada 10 minutos por 1 hora. A mistura foi deixada em repouso por 3 horas à temperatura ambiente. Posteriormente o volume ocupado pelo material vegetal intumescido foi medido ( $V_f$ ) e calculou-se o valor médio de 3 determinações (FARM. BRAS. IV, 1988). O índice de intumescência (II) foi calculado pela equação abaixo:

$$II = V_f - V_i, \text{ onde } \begin{array}{l} V_f = \text{volume final da droga} \\ V_i = \text{volume inicial} \end{array}$$

## 3.7 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

### 3.7.1 Teste geral de atividade farmacológica (“screening” hipocrático)

Os animais foram tratados, pelas vias oral (gavagem), intraperitoneal e subcutânea com EAEG nas doses de 13, 130 e 1300 mg/kg sendo que o grupo controle recebeu veículo em volume proporcional. Em cada grupo foram tratados 3 animais por dose/via. Após o tratamento, os animais foram observados em deambulação livre sobre superfície plana, durante 3 minutos, nos tempos de 5, 10, 20, 30 e 60 minutos; 4, 8, 24 e 48 horas e após 4 e 7 dias dos tratamentos. Os efeitos observados nos animais foram anotados em ficha padrão de triagem farmacológica adaptada daquela descrita por Malone (1977).

Esta metodologia forneceu as doses que foram utilizadas nos testes de atividade biológica *in vivo*.

### 3.7.2 Avaliação da atividade antiulcerogênica do EAEG em modelos experimentais de úlcera gástrica

#### 3.7.2.1 Lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos

Empregando-se a metodologia de Djahanguri (1969) foram utilizados grupos experimentais de 9 a 13 camundongos. Os animais foram mantidos em jejum de 18 horas com acesso livre à solução de glicose à 5%. Posteriormente, foram tratados por via oral (gavagem) com veículo (água filtrada 10 mL/kg), EAEG nas doses de 70, 200 ou 600 mg/kg ou com ranitidina 50 mg/kg, usada como controle positivo do teste. Uma hora após estes tratamentos, foi administrado indometacina na dose de 30 mg/kg (s.c.). Decorridas 3 horas da administração do agente lesivo foi realizado novo tratamento com o EAEG, veículo e ranitidina nas doses anteriores e pelas mesmas vias. Após 6 horas da administração da indometacina os animais foram submetidos a eutanásia por deslocamento cervical e seus abdomens foram abertos, os estômagos localizados, removidos, lavados externamente e abertos ao longo da pequena curvatura. Os conteúdos gástricos foram desprezados e a mucosa do estômago lavada, delicadamente, com salina. Os estômagos foram mantidos em béquer com solução salina gelada até a inspeção em estereoscópio.

O índice de lesão gástrica foi determinado segundo protocolo modificado do pré-estabelecido conforme tabela proposta por Macaúbas *et al.* (1988).

Para a quantificação das lesões da mucosa gástrica foi utilizado um índice de ulceração, que considera o edema de mucosa, hemorragias e a intensidade de ulceração, além do número total de úlceras e petéquias por cm<sup>2</sup> da mucosa gástrica. Na composição do índice de lesões foram consideradas as seguintes lesões, atribuindo-se a elas pontos relativos cuja soma reflete a intensidade da lesão da mucosa:

- descoloração da mucosa ..... 1 ponto
  - edema ..... 1 ponto
  - hemorragias ..... 1 ponto
  - perda de pregas da mucosa..... 1 ponto
  - cada 10 petéquias ..... 2 pontos
  - úlceras ou erosões de até 1 mm ..... n<sup>o</sup> X 2 pontos
  - úlceras ou erosões maiores de 1 mm ..... n<sup>o</sup> X 3 pontos
  - úlcera perfurada ..... n<sup>o</sup> X 4 pontos
- onde n<sup>o</sup> refere-se ao número de úlceras encontradas (Macaúbas *et al.*, 1988)

### 3.7.2.2 Lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos

Este experimento foi realizado de acordo com a metodologia de Robert *et al.* (1979). Grupos experimentais de 7 a 9 animais foram mantidos em jejum de 18 horas com acesso livre à solução de glicose à 5%. Foram tratados por via oral (gavagem) com veículo (água filtrada 10 mL/kg), EAEG nas dose de 70, 200 ou 600 mg/kg ou com ranitidina 50 mg/kg, usada como controle positivo do teste. Uma hora após estes tratamentos, foi administrado etanol (75% v/v) na dose de 10 mL/kg. Após 60 minutos da administração do agente necrotizante os animais foram eutanasiados e o índice de lesão gástrica foi determinado como descrito no item 3.7.2.1.

### 3.7.2.3 Lesões gástricas induzidas por estresse em camundongos

Segundo a metodologia descrita por Senay e Levine (1967), camundongos, após jejum de 18 horas com acesso livre à solução de glicose à 5% foram divididos

em 5 grupos, de 9 a 11 animais, que foram tratados por via oral com veículo (água filtrada 10 mL/kg), EAEG nas doses de 70, 200 ou 600 mg/kg ou com ranitidina 50 mg/kg, usada como controle positivo do teste. Após uma hora dos tratamentos os animais foram anestesiados com éter, imobilizados com fita crepe, colocados em contêineres individuais e mantidos em câmara fria (a 4°C) por duas horas. Após este período os animais foram retirados, liberados das amarras e eutanasiados por deslocamento cervical e o índice de lesão gástrica determinado como no item 3.7.2.1.

### **3.7.3 Avaliação da atividade do EAEG na secreção ácida gástrica**

#### **3.7.3.1 Ligadura pilórica em camundongos para determinação de volume e acidez livre e total da secreção gástrica**

De acordo com a metodologia de Visscher *et al.* (1954), camundongos foram mantidos em jejum de 18 horas com livre acesso à solução de glicose a 5%. Os camundongos foram divididos em grupos de 8 animais e posteriormente anestesiados com éter e fixados em decúbito dorsal em placa de cortiça. Através de uma incisão de cerca de 2 cm no abdômen, o estômago foi localizado e procedeu-se a ligadura do piloro com linha cordonê. Os animais foram tratados pela via intraduodenal com o veículo (água filtrada 10 mL/kg), EAEG (70, 200 ou 600 mg/kg) ou com ranitidina 50 mg/kg, usada como controle positivo do teste. A parede do abdômen foi suturada e após quatro horas da cirurgia, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical. O esôfago foi pinçado, o estômago removido e aberto pela curvatura menor, e medidos o volume, o pH e a acidez total do conteúdo estomacal.

O volume secretado foi determinado por medida direta (em provetas), a acidez livre foi determinada em pHmetro e a acidez total (mEq[H<sup>+</sup>]/L/4 h) por titulação com NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína 2% como indicador.

### **3.7.4 Avaliação da atividade do EAEG na motilidade gastrointestinal em camundongos**

#### 3.7.4.1 Trânsito intestinal

Esse método, proposto por Stickney e Northup (1959), consiste na administração de um marcador colorido (carvão ativado) e na avaliação do trajeto do mesmo no intestino delgado durante um período de tempo. Grupo de 7 a 10 camundongos, em jejum de 6 horas (com acesso livre a água), foram tratados por via oral com água filtrada 10 mL/Kg ou EAEG (70, 200 e 600 mg/kg). Após uma hora dos tratamentos, foi administrado solução de carvão ativado 60 mg/mL na dose de 10 mL/kg. Após uma hora da administração da solução de carvão, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e seu intestino delgado exposto para se verificar o espaço do trato gastrointestinal percorrido pelo carvão, considerando-se como 100% a extensão da região gastropilórica até a junção ileocecal.

### **3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram expressos como médias  $\pm$  erro padrão das médias. As diferenças entre os dois grupos foram detectadas pelo teste t de Student e entre três ou mais grupos pela análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Dunnett.

As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$  (SOKAL; ROHLF, 1981).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 PROCESSO EXTRATIVO

O extrato aquoso foi obtido por infusão das folhas de esporão-de-galo. A concentração final após evaporação foi de 65 mg/mL e o rendimento do processo extrativo foi de 20%.

### 4.2 DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA

#### 4.2.1 Descrição macroscópica

*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent apresentou-se como um arbusto ramoso com ramos escandentes em forma de “zigue-zague”, com folhas alternas opostas com um ou dois espinhos estipulares curtos (Figs. 3A e 3B). As folhas, ásperas ao tato, possuem ápice agudo, bases oblíquas e às vezes assimétricas, nervuras proeminentes na superfície abaxial, pecíolos canaletados curtos (côncavo-convexos), podendo ser ovado-oblongas ou ovadas (Figs. 3C e 3D), medindo de 5 a 13 cm de comprimento e 3 a 7 cm de largura, com padrão de venação do tipo actinódromo (Fig. 3E). As flores são dispostas em pequenas inflorescências cimosas bíparas axilares e de coloração esverdeada (Figs. 3A e 3B).

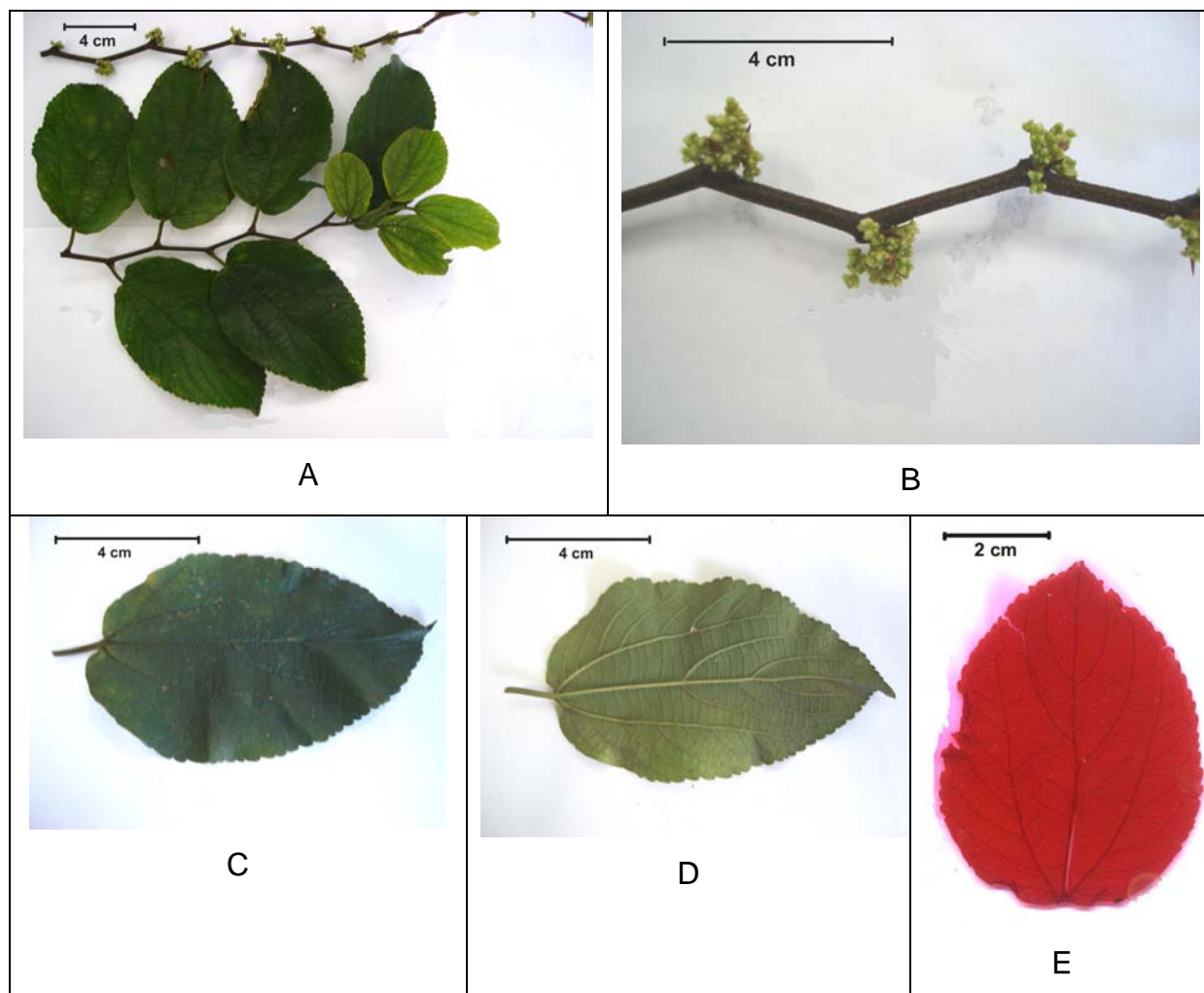


Figura 3: Características morfológicas das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent.

A – Aspecto geral dos ramos com folhas e flores

B – Detalhe de ramo com flores

C – Detalhe da folha com vista frontal da epiderme adaxial

D – Detalhe da folha com vista frontal da epiderme abaxial

E – Detalhe da folha após diafanização

#### 4.2.2 Descrição microscópica

Em secção paradérmica observa-se na epiderme adaxial tricomas tectores curtos unicelulares com paredes silificadas e com rugosidades (Figura 4A e 5A) e células epidérmicas poligonais de tamanhos variados, paredes anticlinais retas e espessadas, às vezes dispostas em círculo envolvendo litocistos, células que contêm cristólitos, em vista frontal (Figura 4B).

A epiderme abaxial em secção paradérmica apresenta estômatos e células epidérmicas de paredes retas a onduladas, tricomas tectores longos, pluricelulares e unisseriados (Figura 4C, 4D e 5B). Observa-se também tricomas unicelulares longos (Figura 5B e 5C).

A secção transversal da região internervural apresenta epiderme adaxial uniseriada. Parênquima paliçádico unisseriado com idioblastos contendo drusas e parênquima lacunoso plurisseriado com até 3 camadas de células caracterizando mesofilo dorsiventral (Figura 5A).

A nervura principal apresenta aspecto geral biconvexo com epidermes adaxial e abaxial unisseriadas, tricomas tectores longos unicelulares em toda a extensão. Na epiderme abaxial é possível observar tricomas tectores unisseriados pluricelulares (Figura 6A).

A epiderme adaxial apresenta franjas e colênquima angular adjacente (Figura 6B). A epiderme abaxial também apresenta franjas seguidas de colênquima angular adjacente com até 5 camadas de células (Figura 6C). Observa-se parênquima cortical envolvendo todo sistema vascular central rico em idioblastos contendo cristais na forma de drusa (Figura 6B e 6C). O sistema vascular central é constituído por um feixe colateral com floema externo ao xilema em formato de arco voltado para a epiderme adaxial (Figura 6A). No floema observa-se numerosos idioblastos contendo cristais em forma de drusa. Observa-se uma calota esclerenquimática constituída por fibras não lignificadas envolvendo o floema em sua face adaxial.

O pecíolo em secção transversal apresenta aspecto côncavo-convexo com epiderme unisseriada em toda a sua extensão apresentando franjas. Observa-se grande quantidade de tricomas simples, longos, unicelulares e raros tricomas pluricelulares unisseriados (Figura 7A). Apresenta colênquima angular com até 4 camadas de células adjacente à epiderme, parênquima cortical com inúmeros cristais em forma de drusa. O sistema vascular central é do tipo colateral em forma

de arco voltado para a epiderme adaxial e floema externo ao xilema. O caule jovem em estrutura secundária apresenta em secção transversal formato oval (Figura 7A) com epiderme unisseriada apresentando franjas e tricomas tectores longos unicelulares (Figura 7A e 7B). Adjacentes à epiderme observa-se um parênquima cortical rico em cristais prismáticos e drusas (Figura 7B e 7C). Observa-se aglomerados de células pétreas ao longo de uma bainha esclerenquimática de fibras não lignificadas envolvendo a região floemática (Figura 7B e 7C). Observa-se no floema, externo ao xilema, idioblastos contendo drusas (Figura 7B). Interno ao xilema observa-se pequenos ninhos contendo floema (Figura 7B) e um parênquima medular com células isodiamétricas contendo pontuações e tamanhos variados (Figura 7B e 7D). Observa-se cristais prismáticos geralmente na região intersticial das células do parênquima medular (Figura 7D).

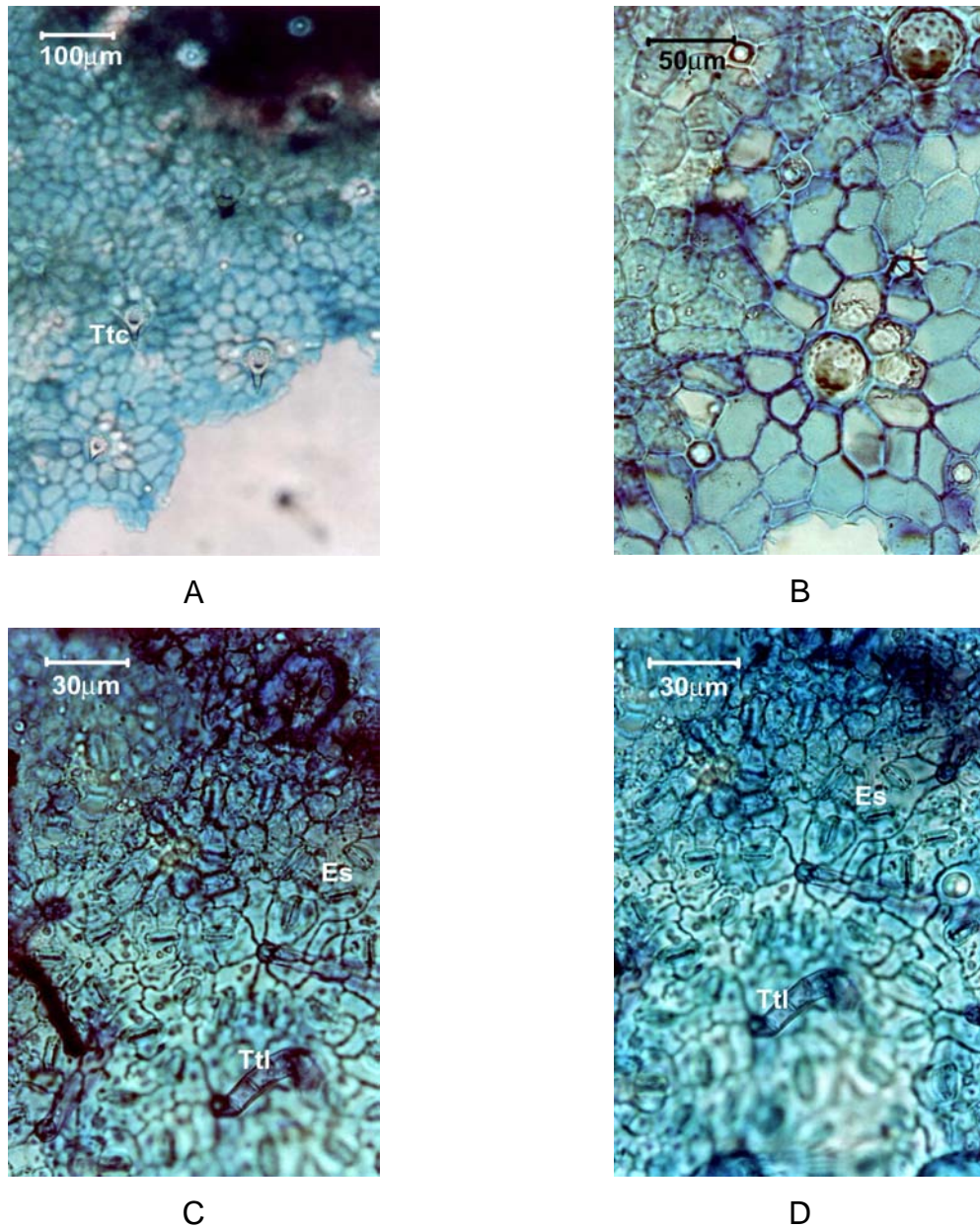


Figura 4: Secções paradérmicas das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent.–  
dupla coloração: Azul de alcian/safranina.

A – Aspecto geral da epiderme adaxial

B – Detalhe da epiderme adaxial

C e D – Detalhe da epiderme abaxial

Es: estômatos, Ttc: tricoma tector curto, Ttl: tricoma tector longo

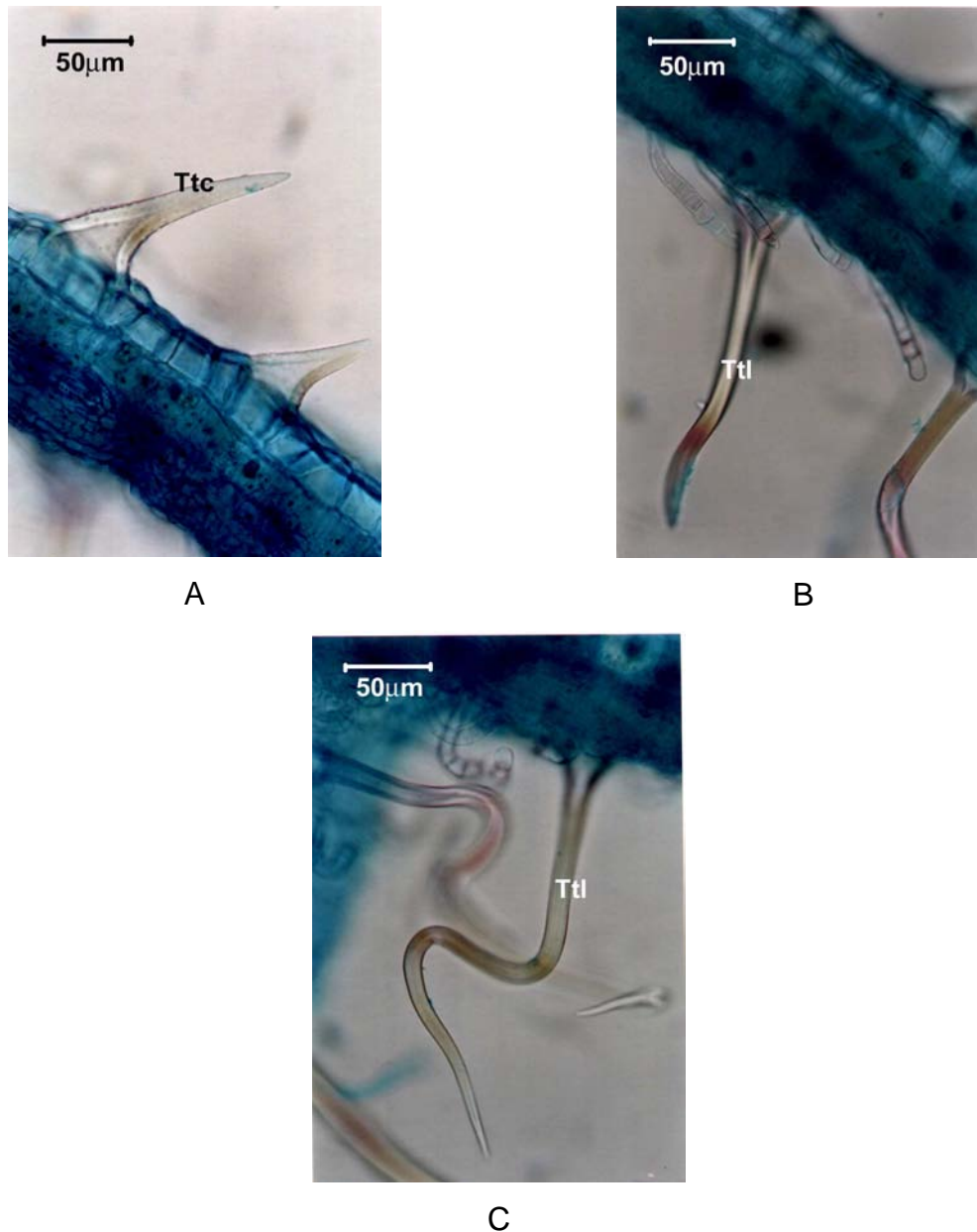


Figura 5: Secção transversal da região internervural da folha de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent – dupla coloração: Azul de alcian/safranina.

A – Aspecto geral do mesofilo com detalhe de tricomas tectores curtos com parede silificada e rugosidades na epiderme adaxial

B – Detalhe de tricomas tectores simples unicelulares e pluricelulares na epiderme abaxial

C – Detalhe de tricomas tectores simples unicelulares longos na epiderme abaxial

Ttc: tricoma tector curto, Ttl: tricoma tector longo

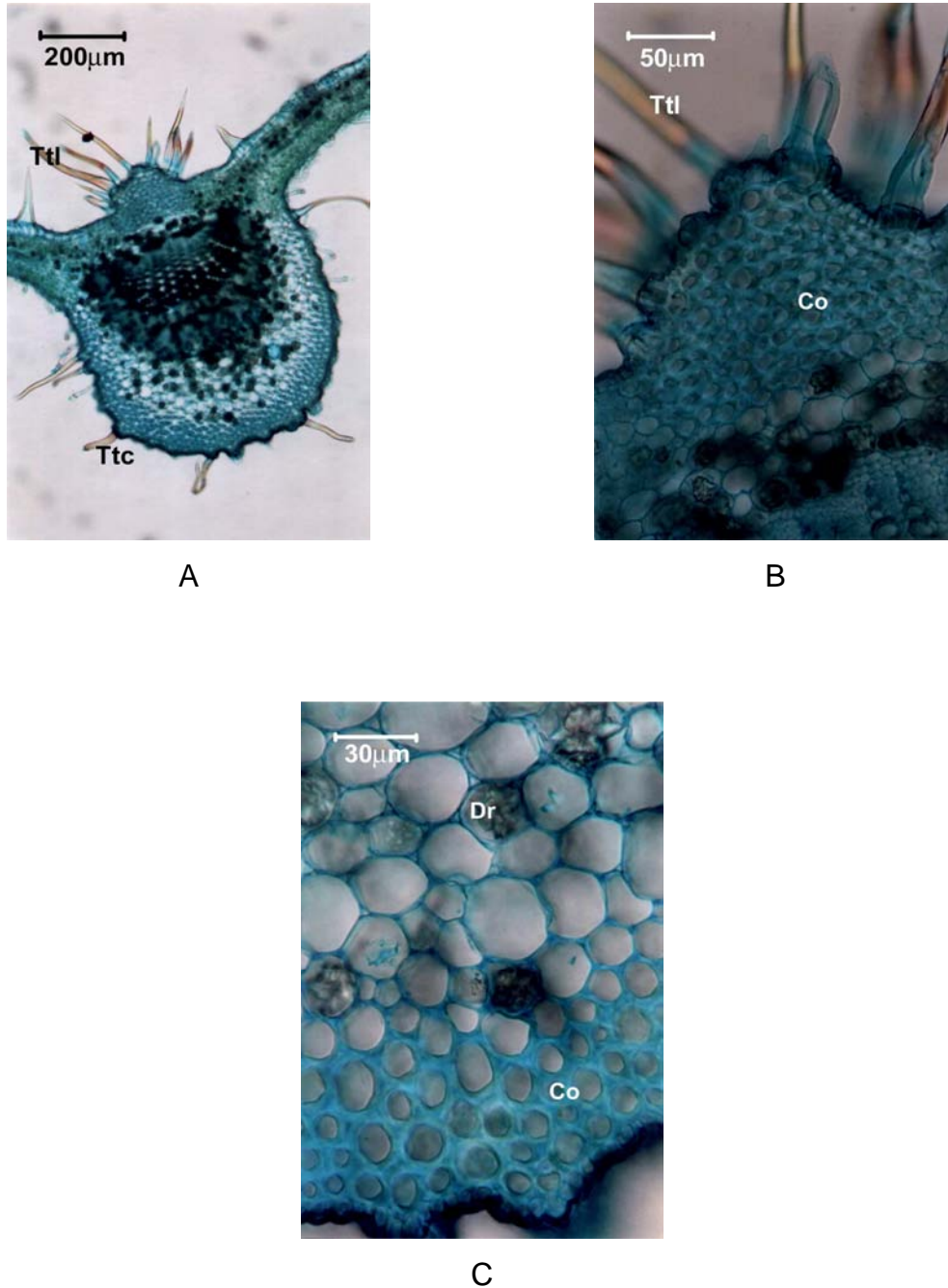


Figura 6: Secção transversal da nervura principal da folha de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent – dupla coloração: Azul de alcian/safranina.

A – Aspecto geral da nervura principal

B – Detalhe da epiderme adaxial

C – Detalhe da epiderme abaxial

Ttl: tricoma tector longo, Dr: drusas, Co: colênquima

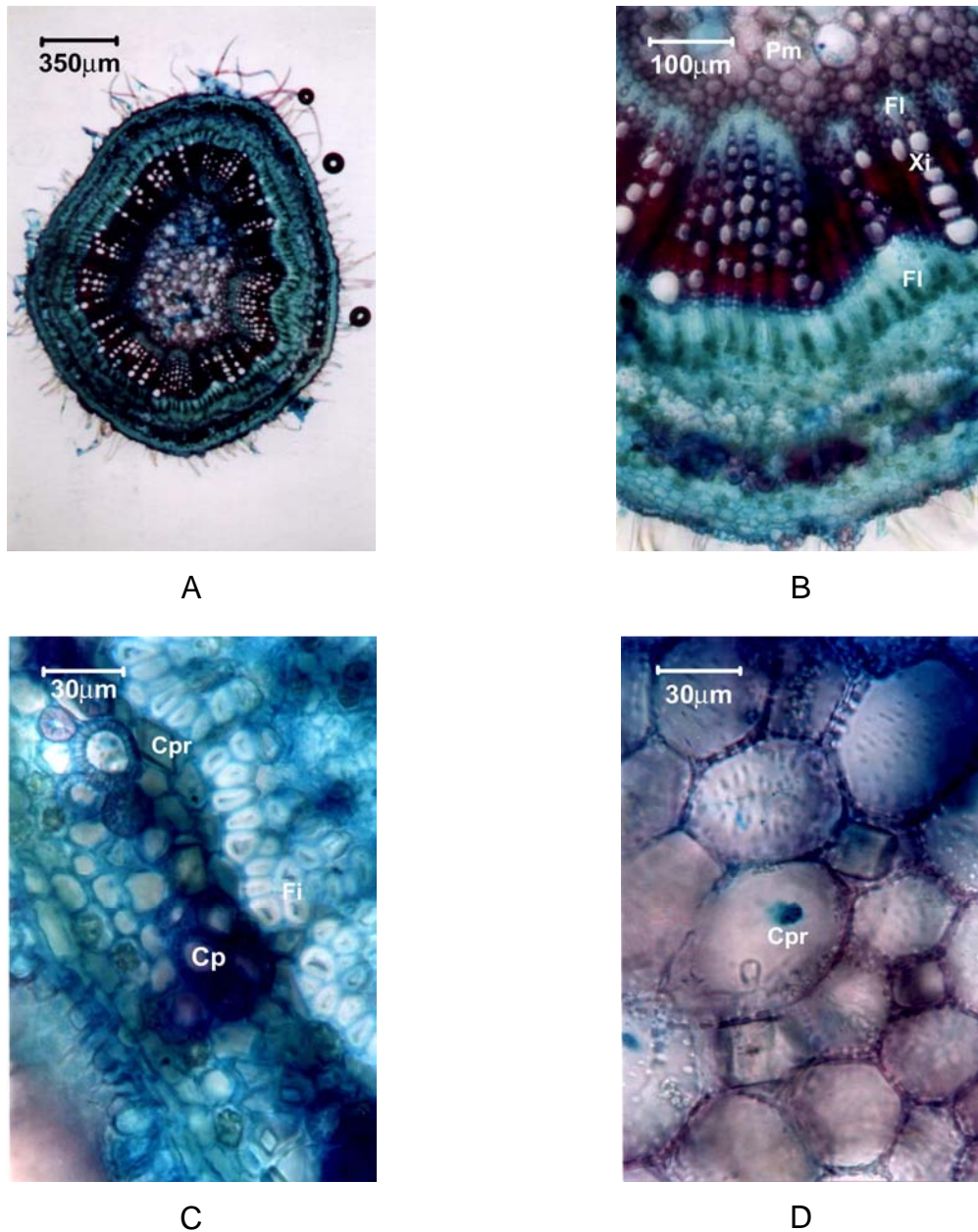


Figura 7: Secção transversal do caule jovem de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent em crescimento secundário – dupla coloração: Azul de alcian/safranina.

A – Aspecto geral

B – Detalhe da epiderme até parênquima medular

C – Detalhe de células pétreas e bainha esclerenquimática envolvendo a região floemática

D – Detalhe do parênquima medular

Cp: células pétreas, Fi: fibras esclerenquimáticas, Cpr: cristais prismáticos, Xi: xilema, FI: floema, Pm: parênquima medular

### 4.3 FARMACOGNOSIA E FITOQUÍMICA

#### 4.3.1 Teor de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido

O teor de cinzas totais foi de  $18,2 \pm 0,18\%$  e o teor de cinzas insolúveis em ácido foi de  $7,43 \pm 1,03\%$  para as folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. Os resultados representam a média de três determinações.

#### 4.3.2 Teor de água

O teor de água para a amostra de folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent analisada foi de  $7,05 \pm 0,22\%$ . O resultado representa a média de três determinações.

#### 4.3.3 Prospecção fitoquímica

Os resultados dos testes fitoquímicos para detecção das principais classes de metabólitos secundários presentes na amostra analisada estão expressos no quadro abaixo.

Classe de metabólitos secundários	Resultado
Saponinas	Negativo
<b>Cumarinas</b>	<b>Positivo</b>
Antraquinonas	Negativo
Taninos	Negativo
<b>Flavonóides</b>	<b>Positivo</b>
Esteróides/triterpenos	Negativo
Digitálicos	Negativo
<b>Mucilagem</b>	<b>Positivo</b>
Alcalóides	Negativo

Quadro 1: Principais classes de metabólitos secundários detectados nas folhas da *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent

#### 4.4 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO EAEG

##### 4.4.1 Atividades farmacológicas gerais do EAEG (“screening” hipocrático)

O tratamento por via oral (gavagem) dos animais causou uma redução da movimentação espontânea de maneira dose dependente. Com a maior dose (1,3 g/kg) foi também observado piloereção e movimentos estereotipados, além de ereção e tremores de cauda, efeitos estes observados a partir dos 10 minutos dos tratamentos.

Pela via subcutânea a redução na movimentação espontânea só ocorreu com as duas maiores doses, a partir dos 10 minutos e com a maior dose foi observado alienação ambiental.

Pela via intraperitoneal os efeitos foram semelhantes aos observados quando utilizou-se a via oral, porém iniciaram-se a partir dos 5 minutos do tratamento e foram mais intensos. Com a maior dose observou-se hiperpnéia à partir dos 10 minutos, alienação ambiental a partir dos 30 minutos e óbito antes das 24 horas.

#### 4.4.2 Atividade antiulcerogênica do EAEG em modelos de úlcera aguda

##### 4.4.2.1 Avaliação do efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por indometacina

Nos camundongos tratados previamente com o extrato aquoso de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent as doses de 70 (n = 13), 200 (n = 12) e 600 mg/kg - v.o. (n = 13) provocaram redução dos índices de lesões de  $12,1 \pm 1,26$  (grupo controle, n = 11) em 5,2%; 32,4% e 64,4% respectivamente. Nos animais que receberam ranitidina 50 mg/kg - v.o. (n = 9), o índice de lesão foi reduzido em 69,6% (Figura 8; Tabela 3). Somente as doses de 200 e 600 mg/kg produziram efeito significativo na redução do índice de lesões gástricas.

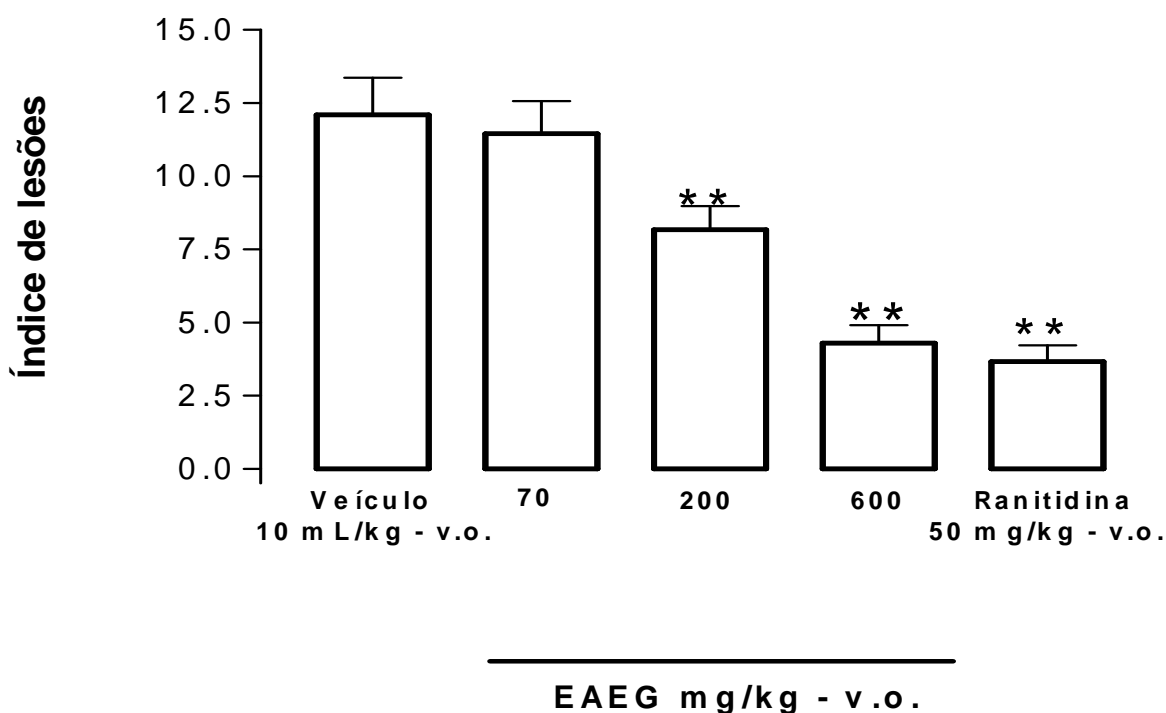


Figura 8: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg - v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina (30 mg/kg - s.c.). Os animais do grupo controle foram tratados com água filtrada (10 mL/kg - v.o.). As barras verticais representam as médias  $\pm$  EPM, referentes ao índice de lesões observadas após 6 horas da administração de indometacina em cada grupo experimental. \*\* =  $p < 0,01$ .

#### 4.4.2.2 Efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por etanol

Neste experimento as lesões gástricas foram induzidas com etanol (75% v/v – 10 mL/kg v.o.). As três doses do EAEG, 70 (n = 07), 200 (n = 08) e 600 mg/kg - v.o. (n = 09) reduziram os índices de lesões em 40,2%; 52,8% e 63,6% respectivamente, o grupo controle (n = 09) apresentou índice de  $28,44 \pm 3,81$ . Nos animais que receberam ranitidina 50 mg/kg – v.o. (n = 08), o índice de lesão foi reduzido em 53,6% (Figura 9; Tabela 4). As 3 doses do EAEG provocaram redução do índice de lesões gástricas sendo que com as doses de 200 e 600 mg/kg a redução foi à semelhança do controle positivo.

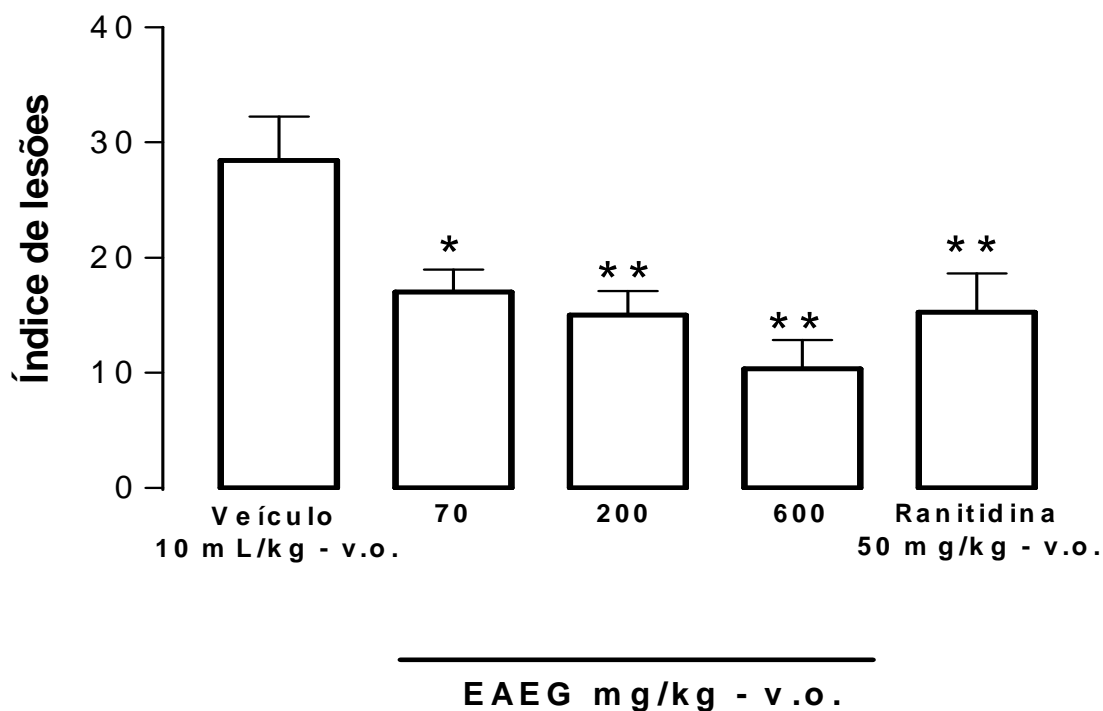


Figura 9: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg – v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol (75% v/v - v.o.). Os animais do grupo controle foram tratados com água filtrada (10 mL/kg – v.o.). As barras verticais representam as médias  $\pm$  EPM, referentes ao índice de lesões observadas após 1 hora da administração de etanol em cada grupo experimental. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ .

#### 4.4.2.3 Efeito do EAEG na lesão gástrica induzida por estresse

Foram realizados tratamentos com as doses de 70 (n = 11), 200 (n = 09) e 600 mg/kg - v.o. (n = 11). O índice de lesões foi reduzido em 28,1%, 35,1% e 45,3% respectivamente em relação ao grupo controle (n = 09) cujo índice de lesões foi de  $21,77 \pm 2,13$ . Nos animais que receberam ranitidina 50 mg/kg - v.o. (n = 10), o índice de lesão foi reduzido em 42,1% (Figura 10; Tabela 5). Observou-se efeito significativo na redução do índice de lesões com as 3 doses testadas do EAEG. O estresse provocado por contensão a 4°C/2 h induziu a produção de lesões e úlceras na mucosa gástrica, acompanhada da perda de pregas, aparecimento de edema e hemorragia.

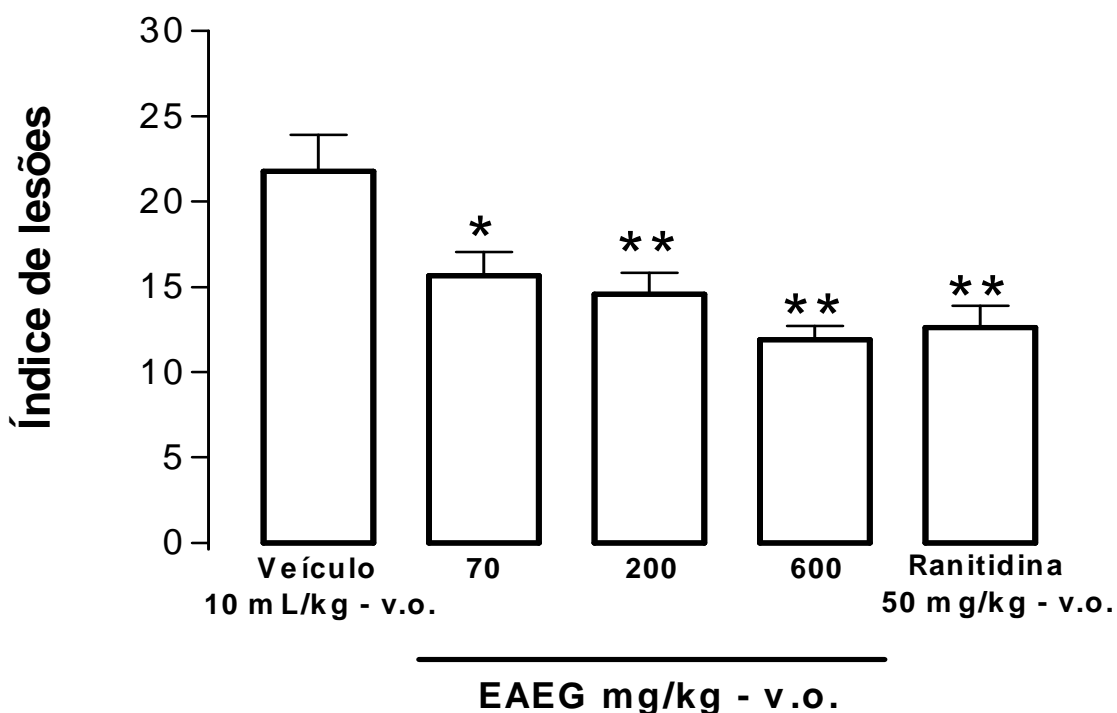


Figura 10: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg - v.o.) e da ranitidina (50 mg/kg - v.o.) sobre as lesões gástricas induzidas por estresse. Os animais do grupo controle foram tratados com água filtrada (10 mL/kg - v.o.). As colunas representam as médias  $\pm$  EPM, referentes ao índice de lesões observadas após 2 horas da indução das lesões provocadas por imobilização e hipotermia. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ .

### 4.4.3 Atividade antissecretora ácida gástrica do EAEG

#### 4.4.3.1 Efeito do EAEG na secreção gástrica em modelo de ligadura de piloro

Os experimentos foram realizados em camundongos que foram divididos em grupos de 8 animais. O EAEG reduziu o volume de suco gástrico secretado, nas doses administradas de 70, 200 e 600 mg/kg - i.d. para  $2,15 \pm 0,07$  mL;  $1,95 \pm 0,11$  mL e  $1,87 \pm 0,09$  mL em relação ao grupo controle que foi de  $2,4 \pm 0,05$  mL. Com a ranitidina 50 mg/kg - i.d., o valor observado foi de  $1,93 \pm 0,08$  mL. Somente as doses de 200 e 600 mg/kg do EAEG provocaram redução significativa do volume gástrico secretado. (Figura 11; Tabela 6).

Na avaliação da acidez livre o pH observado com as doses administradas do EAEG de 70, 200 e 600 mg/kg - i.d. foi de  $5,08 \pm 0,29$ ;  $5,67 \pm 0,31$  e  $5,76 \pm 0,25$  respectivamente e  $3,70 \pm 0,24$  para o grupo controle. Os animais que receberam ranitidina 50 mg/kg - i.d., o valor obtido foi de  $5,20 \pm 0,32$ . As 3 doses do EAEG provocaram redução significativa da acidez livre do volume gástrico secretado (Figura 12; Tabela 7).

Na avaliação da acidez total, os valores observados para as doses de 70, 200 e 600 mg/kg - i.d.. foram respectivamente  $2,77 \pm 0,30$ ;  $2,82 \pm 0,62$  e  $2,60 \pm 0,47$  em relação ao grupo controle que foi de  $6,04 \pm 0,72$  mEq[H<sup>+</sup>]/mL. Nos animais que receberam ranitidina 50 mg/kg - i.d., observou-se o valor de  $2,16 \pm 0,20$ . Houve redução significativa da acidez total com as 3 doses do EAEG (Figura 13; Tabela 8).

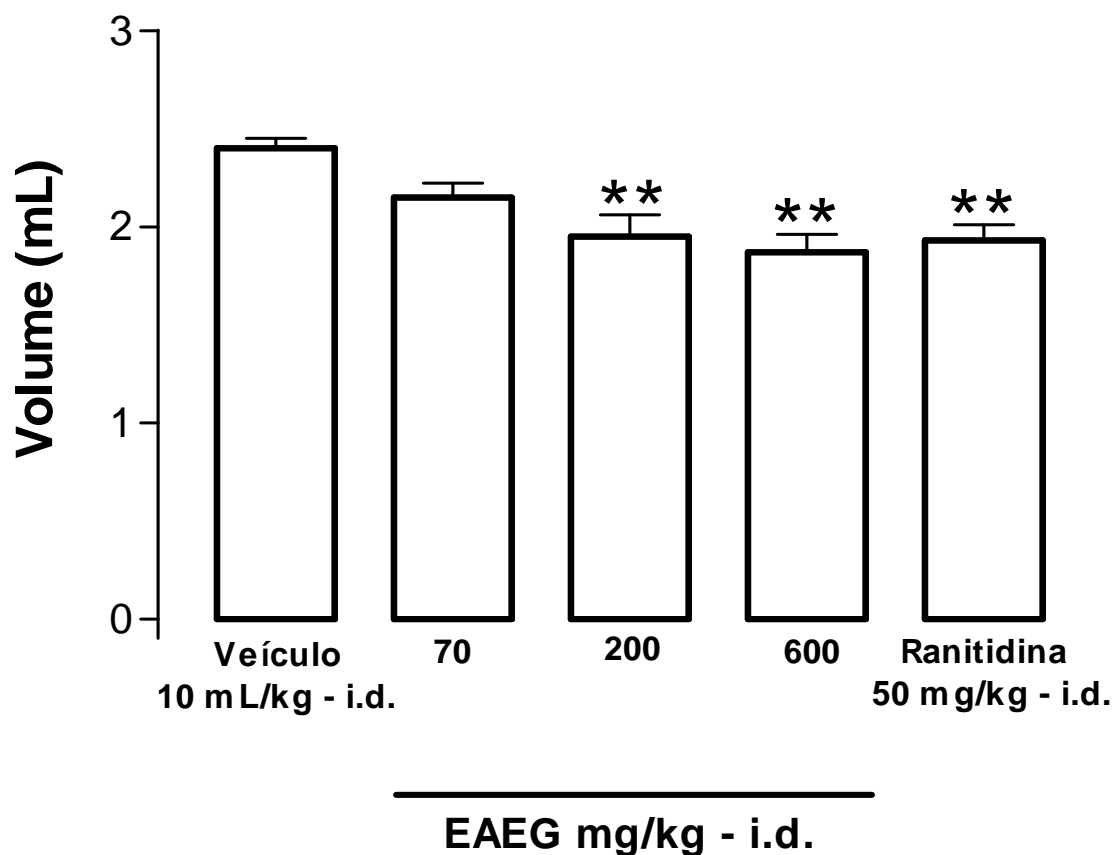


Figura 11: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d.) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre o volume de secreção ácida gástrica de camundongos. O grupo controle foi tratado com água filtrada (10 mL/kg – i.d.). As colunas representam as médias  $\pm$  EPM e demonstram os resultados referentes ao volume secretado após 4 horas da ligadura pilórica. \*\* =  $p < 0,01$ .

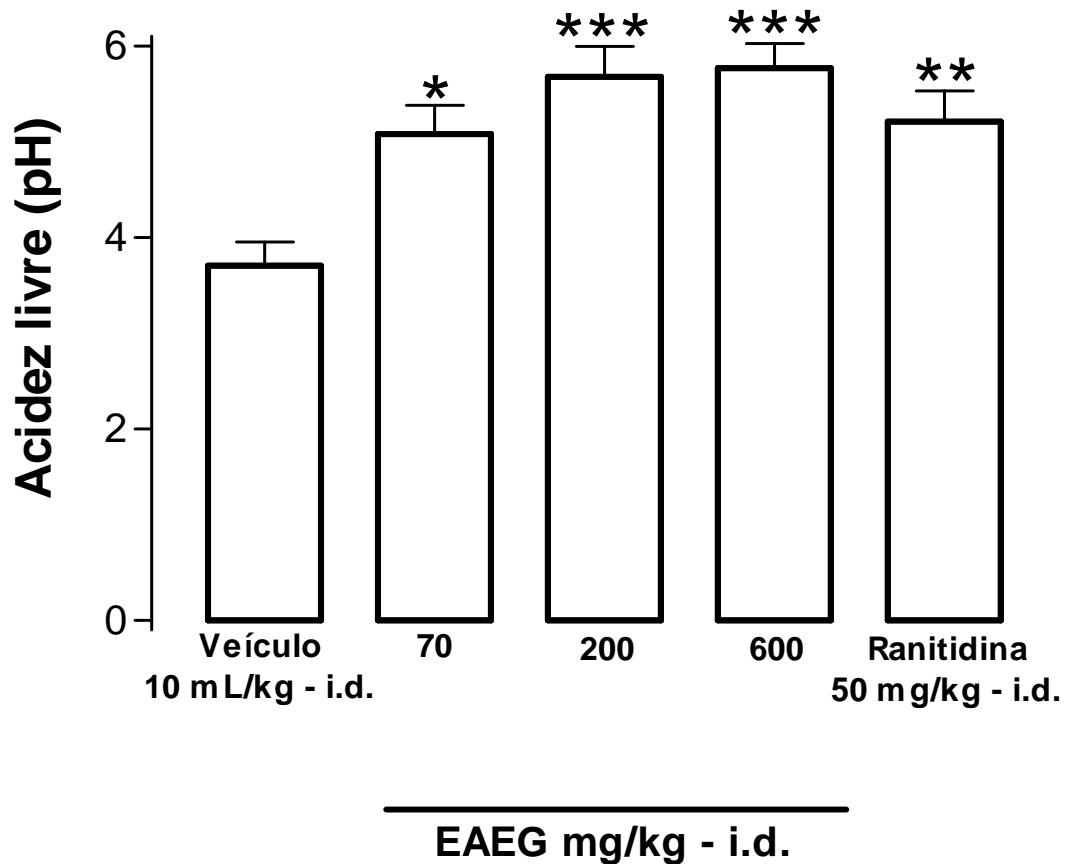


Figura 12: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d..) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre o pH da secreção ácida gástrica de camundongos. O grupo controle foi tratado com água filtrada (10 mL/kg – i.d.). As colunas representam as médias  $\pm$  EPM e demonstram os resultados referentes a acidez livre (pH) após 4 horas da ligadura pilórica. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  e \*\*\* =  $p < 0,001$ .

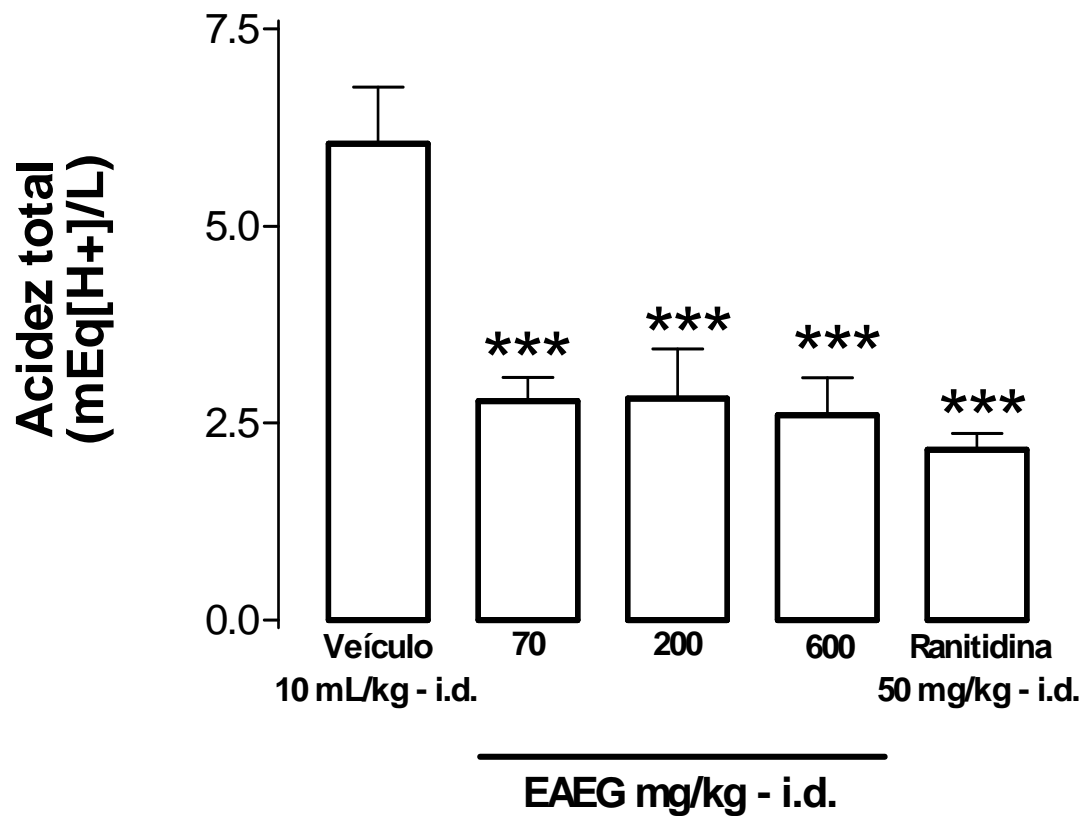


Figura 13: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg – i.d.) e da ranitidina (50 mg/kg – i.d.) sobre a acidez total da secreção ácida gástrica de camundongos. O grupo controle foi tratado com água filtrada (10 mL/kg – i.d.). As colunas representam as médias  $\pm$  EPM e demonstram os resultados referentes a acidez total da secreção, após 4 horas da ligadura pilórica. \*\*\* =  $p < 0,001$ .

#### 4.4.4 Atividade do EAEG na motilidade gastrointestinal

##### 4.4.4.1 Efeito do EAEG sobre o trânsito intestinal em camundongos

A porcentagem da distância percorrida pelo marcador carvão ativado no intestino delgado dos camundongos foi de  $42,2 \pm 3,1$ ;  $61,7 \pm 2,2$  e  $68,1 \pm 4,9\%$ , após tratamento prévio com EAEG nas doses de 70 (n = 07), 200 (n = 10) e 600 mg/kg v.o. (n = 09) respectivamente, enquanto no grupo controle (n = 09) o resultado foi de  $52,7 \pm 2,0\%$ . Somente o EAEG na dose de 600 mg/kg provocou alterações significativas (aumento) do trânsito intestinal (Figura 14; Tabela 9).

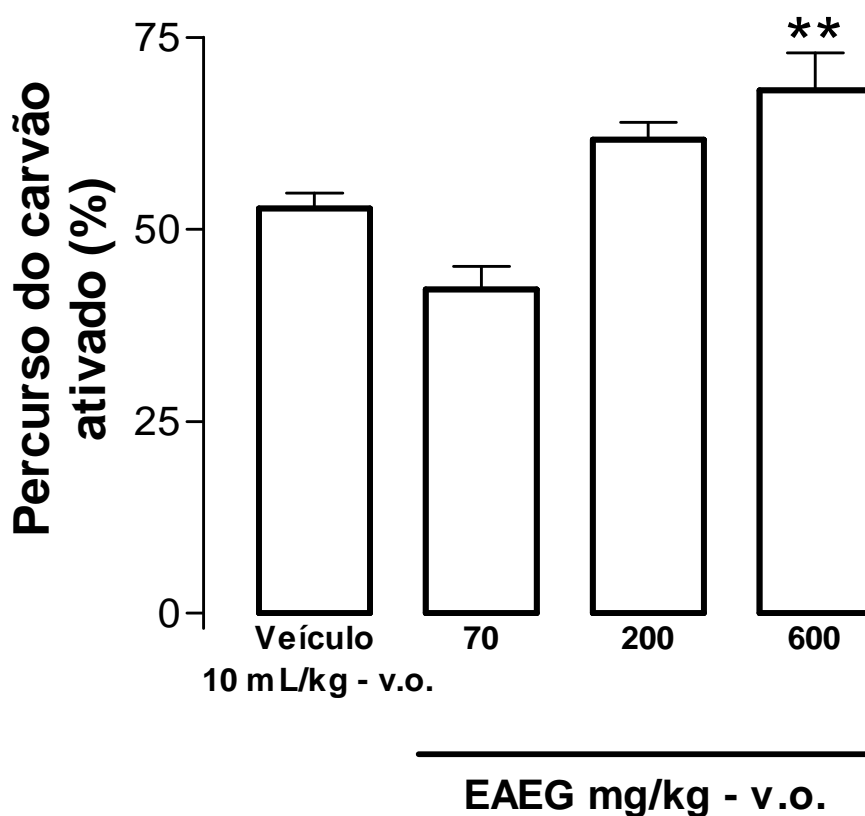


Figura 14: Efeito do extrato aquoso das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (EAEG 70, 200 e 600 mg/kg - v.o.) sobre o trânsito intestinal. O grupo controle foi tratado com água filtrada (10 mL/kg - v.o.). Os resultados estão expressos como médias  $\pm$  EPM e correspondem às porcentagens da distância percorrida pelo marcador carvão ativado em relação ao comprimento total do intestino delgado após 1 hora do tratamento. \*\* =  $p < 0,01$ .

## 5. DISCUSSÃO

Ulmaceae é uma família caracterizada por possuir folhas de diversos tamanhos. O gênero *Celtis* é classificado, por alguns autores, na família Celtidaceae pelo fato de ter um padrão de venação diferente dos outros gêneros da família Ulmaceae (ZAVADA; KIM, 1996).

A análise morfo-anatômica das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent realizada neste estudo, revelou a presença de características gerais descritas para espécies da família Ulmaceae (METCALFE; CHALK, 1957; PILATI; SOUZA, 2006) como a presença de folhas anfiestomáticas, ovado-oblongas ou ovadas, de tamanhos variados apresentando tricomas tectores curtos e longos, unisseriados e plurisseriados, drusas, cristais prismáticos e células com paredes silificadas. A folha do esporão-de-galo possui três nervuras principais, o padrão de venação é do tipo actinódromo, o que segundo alguns autores a classifica como pertencente à família Celtidaceae (UEDA *et al.*, 1997).

Pilati e Souza (2006) relatam a presença de folhas anfiestomáticas em plântulas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent, neste trabalho verificamos que na planta adulta ocorre uma maior presença de estômatos na epiderme abaxial (epiderme inferior).

As matérias-primas vegetais contêm, naturalmente, uma certa quantidade de água, que se mantêm após a secagem das plantas. É interessante conhecer este valor, pois este índice está relacionado com a correta preparação e garantia da perfeita conservação das drogas vegetais (COSTA, 2001). O excesso de água em drogas vegetais propicia o desenvolvimento de microorganismos e hidrólise de constituintes químicos facilitando, conseqüentemente a deterioração (FARIAS, 2004; WHO, 1998). Pode indicar ainda que o material foi mal preparado ou encontra-se acondicionado inconvenientemente. Muitas vezes revela simplesmente presença de fraude (COSTA, 2001). A Farmacopéia Brasileira (1998) estabelece limites de 8 a 14% de umidade para as matérias-primas vegetais, em geral, com algumas exceções especificadas em monografias.

O limite máximo de cinzas totais em uma matéria-prima vegetal deve ser determinado caso a caso. As cinzas, resíduos não-voláteis, isentos de carbono, que se originam da combustão de substâncias orgânicas em condições apropriadas, provém, basicamente, dos constituintes minerais e dos organo-metálicos que

integram as plantas (cinzas fisiológicas) e, ainda, de materiais estranhos, especialmente areia e terra aderente à superfície da droga (cinzas não fisiológicas) (COSTA, 2001; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1998).

Portanto, o teor de cinzas totais acima do estabelecido como parâmetro para uma determinada matéria-prima vegetal indica presença de impurezas inorgânicas não-voláteis que podem estar presentes como contaminantes ou adulterantes (FARIAS, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 1998).

Segundo Park (1996) o conhecimento das cinzas nas diversas partes de uma planta é reconhecidamente um parâmetro essencial para determinar a distribuição dos minerais nos vegetais.

A determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico destina-se à detecção de sílica e constituintes silicosos que em quantidade acima da estabelecida para a droga vegetal indica contaminação por excesso de terras ou areias (FARIAS, 2004; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1998).

Não foi encontrado na literatura pesquisada, valores padrões de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido para amostras de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent. Neste trabalho foi encontrado o valor médio de 18,2% e 7,43% respectivamente.

O teor de cinzas totais elevado pode ser justificado pela presença de grande quantidade de drusas e cristais prismáticos verificados na análise morfo-anatômica. O teor de cinzas insolúveis em ácido apresenta valor elevado devido a grande quantidade de sílica e compostos silicosos presentes na amostra, fato também verificado através dos cortes histológicos da folhas, onde observou-se grande quantidade de células com paredes silificadas. Provavelmente, um outro fator para a presença considerável de sílica na amostra é a espécie ser típica de mata ciliar. Plantas de locais com maior quantidade de água tendem a acumular mais sílica.

A triagem fitoquímica do pó das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent evidenciou a presença de heterosídeos flavonóides, cumarinas e mucilagens.

Os metabólitos secundários foram considerados, por algum tempo, como produtos de excreção do vegetal. Na atualidade, já se sabe que muitas dessas substâncias participam de alguma forma nos mecanismos de adequação e adaptação do vegetal às condições ambientais. Atribui-se o fato de os vegetais estarem fixos, enraizados no solo e não poderem se deslocar, à imensa diversidade de metabólitos secundários que são capazes de produzir (SANTOS, 2004).

Os flavonóides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal.

Plantas ricas em flavonóides são utilizadas para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão, como antivirais, anti-hemorragicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antitumorais e antioxidantes (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Diversos compostos flavonóides, isoliquiritigenina, isoliquiritina, kumatakenina, licoflavonol e isoflavona, apresentam atividade antiúlcera (SAITOH *et al.*, 1976). Nicoletti *et al.* (1984) isolaram uma biflavona das folhas de *Strychnos pseudoquina* St. Hil. e Silva *et al.* (2005) demonstraram atividade gastroprotetora para o extrato metanólico das folhas desta planta. Os flavonóides eupafolina, quercetina, luteolina e apigenina foram isolados da *Baccharis trimera* e apresentaram atividade gastroprotetora (SOICKE; LENG-PESCHLOW, 1987; VERDI *et al.*, 2005; BORELLA *et al.*, 2006).

A procura de medicamentos de origem vegetal tem conduzido a um renovado interesse farmacêutico em cumarinas, pelo fato dessas substâncias mostrarem atividade farmacológicas potentes e relevantes e serem de baixa toxicidade para mamíferos (HOULT; PAYÁ, 1996).

Já foram isoladas cumarinas com atividade imunossupresora, relaxante vascular, hipolipidêmica, hipotensora, inibidora da agregação plaquetária, miorrelaxante, antiespasmódica, vasodilatadora e antitrombótica (KUSTER; ROCHA, 2004).

Algumas cumarinas com atividade anti-HIV foram identificadas a partir de fontes vegetais. Como exemplo cita-se os canalídeos A e B isolados das folhas de uma árvore de floresta tropical, *Calophyllum lanigenun* Miq. Var. *austrocoriaceum*, família Guttiferae, encontrada na Malásia. Essas substâncias inibiram a replicação *in vitro* do HIV-1, provavelmente por inibição da atividade enzimática da DNA-polimerase dependente de DNA e da DNA-polimerase dependente de RNA presentes no vírus (VLIETINCK *et al.*, 1998).

Drogas contendo mucilagens são analisadas através da determinação do índice de intumescimento, volume ocupado pelo intumescimento de 1 g da droga pela adição de água ou outro agente intumescente, sob condições definidas.

As mucilagens são constituintes naturais do vegetal, não sendo indicativas de alterações patológicas da planta. Ocorrem, predominantemente, em sementes, nas

quais parecem ter a função de retenção de água para auxiliar na germinação, mas podem ocorrer também em outros órgãos do vegetal. A propriedade das mucilagens de reter água explica a sua ação laxativa, ao formar um bolo fecal volumoso, permanentemente túrgido, evitando a absorção de água através das paredes dos intestinos e o endurecimento das fezes, ao mesmo tempo que excitam, por via reflexa, as contrações intestinais. No entanto, em certos casos, atuam como anti-diarréicos, devido à sua natureza coloidal, impedindo a ação de substâncias irritantes e até bactérias sobre a mucosa (JENKINS *et al.*, 1978; DYKES; HODGSON, 1981; SCHNEEMAN, 1986; TULUNG *et al.*, 1987; TODD *et al.*, 1990; ROMBI, 1991; BRUNETON, 1993; SPILLER, 1996; ROBBERS *et al.*, 1996).

As características estruturais descritas neste estudo e a prospecção fitoquímica contribuem na identificação da espécie e fornecem parâmetros que poderão ser aplicados futuramente no controle de qualidade e no estudo farmacognóstico desta espécie. A presença de heterosídeos flavonóides, cumarinas e mucilagens podem justificar algumas das atividades biológicas de uso popular desta planta.

Neste trabalho foi realizado um estudo com o EAEG procurando avaliar seu efeito protetor gástrico, de acordo com o uso popular. Neste sentido foram utilizados os modelos de lesão aguda gástrica induzidos por indometacina, etanol ou estresse, os quais permitem estudar estes efeitos.

O uso dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) está entre os principais fatores que promovem desequilíbrio dos fatores de proteção da mucosa gástrica. A indução de lesões por indometacina representa um modelo animal simples e efetivo, sua ação antiinflamatória através da inibição da enzima COX (ciclooxigenase) e, conseqüente, redução da produção de PG, é responsável pelas lesões gástricas observadas. Diversos estudos demonstram que as 2 isoformas da COX, COX-1 e COX-2, contribuem significativamente para a proteção da mucosa gástrica. A COX-1 é uma das responsáveis pela manutenção do fluxo sanguíneo adequado e secreção de muco, e a COX-2 pela rápida cicatrização das lesões/úlceras e diminuição da adesão de leucócitos ao endotélio vascular, o que compromete a microcirculação da mucosa gástrica. A inibição das 2 isoformas de COX provoca alteração desses parâmetros (WALLACE, 2001). Os AINE's também provocam irritação gástrica por contato com a mucosa, principalmente se tiverem caráter ácido (WALLACE, 2006).

Os camundongos que foram tratados com EAEG antes da indução das lesões com indometacina apresentaram menor índice de lesões na mucosa gástrica, em comparação ao grupo não tratado, sugerindo um efeito gastroprotetor.

O etanol é apontado como um dos principais fatores de risco para lesões gástricas. Após a ingestão de álcool, a barreira de muco é afetada e torna-se permeável ao etanol que provoca lesão no epitélio e favorecimento do ataque do ácido gástrico, este processo provoca a formação de úlcera gástrica (WALLACE, 2001). O etanol penetra na mucosa gástrica rapidamente, causando necrose de membrana, exfoliação do epitélio superficial e erosões. Isto facilita a injúria vascular progressiva dos capilares superficiais e subepiteliais mucosos. As lesões são aparentemente causadas por um efeito direto do etanol, modulado indiretamente, pela liberação de produtos vasoativos das células mastocitárias, macrófagos, leucócitos e plaquetas (SZABO; SZELENYI, 1987, OATES; HAKKINEN, 1988, SZABO; NAGY, 1992). Agentes necrotizantes, como o etanol, aumentam a peroxidação lipídica e reduzem o conteúdo de grupos sulfidrílicos não protéicos da mucosa gástrica, indicando que os radicais livres derivados de oxigênio e a peroxidação lipídica estão envolvidos neste tipo de lesão (SALIM, 1990). Dentre os fatores que contribuem para a injúria gástrica por etanol podemos citar: aumento da liberação de histamina e serotonina, diminuição da produção de muco, aumento de radicais livres, aumento da retrodifusão de ácido, aumento da motilidade gástrica, diminuição da produção endógena de grupos sulfidrílicos, aumento do efluxo de sódio e potássio, aumento do influxo de cálcio e da produção de leucotrienos, redução da produção de prostaglandinas e do fluxo sanguíneo gástrico, isquemia e aumento da permeabilidade vascular gástrica (GLAVIN; SZABO, 1992).

Agentes que aumentam os fatores de proteção da mucosa gástrica, doadores de grupos sulfidrílicos como a cisteamina e o análogo da PGE<sub>1</sub>, misoprostol, que atua como agonista do receptor EP1, reduzem as lesões induzidas por etanol (ROBERT *et al.*, 1979) Apesar da hipersecreção gástrica não ser causa primária das lesões induzidas por etanol, agentes anti-secretóres como os antagonistas dos receptores H<sub>2</sub> e os inibidores da bomba de prótons, também podem reduzir as lesões induzidas por etanol como observado com o controle positivo utilizado.

Testou-se o EAEG por via oral neste modelo experimental, e observou-se que o EAEG foi capaz de proteger a mucosa gástrica dos camundongos contra as lesões

induzidas por etanol, sugerindo uma ação citoprotetora eficiente dos princípios ativos presentes neste extrato.

Outro fator, que tem um importante papel na etiopatologia da úlcera gástrica é o estresse (GOVINDARAJAN *et al.*, 2006). Úlcera induzida por estresse é provavelmente mediada pela liberação de histamina e se desenvolve usualmente em poucas horas após queimadura, politraumas, lesão no sistema nervoso central, choque, grandes operações ou infecção severa (DEMBINSK *et al.*, 2005). Além do aumento da secreção gástrica outros fatores como: alterações na microcirculação da mucosa gástrica, motilidade e redução da produção de muco. Contudo, o modelo de úlceras induzidas por estresse em animal pode ser parcialmente ou totalmente evitada por vagotomia. O aumento da atividade vagal tem sido sugerido como o principal fator em ulceração induzida por estresse (SINGH; MAJUMDAR, 1999). O nervo vago estimula a secreção ácida gástrica via interação de mediadores químicos (acetilcolina) com o receptor muscarínico. A ativação do receptor muscarínico desencadeia a sequência de eventos que resultam no aumento da secreção ácida gástrica (CLAPHAM, 1995). No entanto o aumento da secreção gástrica não é uma consequência somente da atividade da acetilcolina na célula secretora de histamina, mas também, devido a sua ação na célula parietal (SCHUBERT, 2000).

Algumas drogas com atividade antiúlcera, como a cimetidina, ranitidina e famotidina, são usadas no tratamento de úlcera gástrica por bloquearem receptores  $H_2$  de histamina. No presente estudo verificou-se que o EAEG inibiu a produção de úlcera por estresse, que pode ter ocorrido por aumento dos fatores protetores, diminuição dos fatores agressores ou alteração dos dois parâmetros ao mesmo tempo.

Depois de observado que o EAEG é capaz de proteger a mucosa gástrica podendo nesta ação estar envolvidos diversos mecanismos tais como: a preservação do muco, aumento da produção de PG e a presença de princípios ativos com atividade antioxidante, o que pode ser devido a flavonóides, cuja presença na espécie vegetal estudada foi confirmada na triagem fitoquímica, passou-se a estudar se este extrato estaria interferindo de alguma forma com a secreção ácida gástrica, já que este efeito (redução da secreção ácida) também participa do processo de proteção da mucosa gástrica.

Esse ensaio também foi realizado para descartar a hipótese de que o EAEG estivesse agindo apenas como uma barreira física, exercendo, portanto uma ação

mecânica formando uma película de extrato sobre a mucosa e impedindo que o etanol removesse a camada de muco, foi administrado o EAEG pela via intraduodenal. A administração por essa via exige a absorção dos princípios ativos do extrato e seu efeito ocorrerá após absorção e distribuição.

A regulação da secreção ácida gástrica é mediada por fatores parácrinos, hormonais e neurais de maneira interdependente. A secreção de  $H^+$  para formação do suco gástrico é estimulada pela histamina, acetilcolina e gastrina que se ligam aos seus receptores na célula parietal (SCHUBERT, 2002). Assim, uma ação inibidora do EAEG em qualquer nível da estimulação da secreção ácida, poderia levar à proteção gástrica por diminuir os fatores agressores da mucosa.

O método da ligadura pilórica é um modelo que permite avaliar o efeito de substâncias na secreção ácida gástrica e os eventos envolvidos na proteção da mucosa gástrica. O tratamento dos animais com o EAEG provocou diminuição do volume do conteúdo gástrico com diferenças significativas somente com as doses de 200 e 600 mg/kg. Já a acidez total da secreção gástrica foi reduzida significativamente com as três doses, isso sugere que o EAEG inibe a secreção de ácido, especificamente, sem provocar alteração de outras secreções do estômago. Essa conclusão é possível pelo fato de não ocorrer diminuição do volume secretado de maneira muito intensa. Na avaliação da acidez livre pela medição do pH em pHmetro verificou-se uma diminuição proporcional de pH em relação ao aumento da dose do EAEG.

O aumento da motilidade gastrointestinal provocado pela dose de 600 mg/kg v.o. do EAEG pode também ser responsável pela proteção da mucosa gástrica, considerando-se que o esvaziamento gástrico aumentado diminuiria a quantidade de ácido presente no estômago e reduziria o efeito agressor do ácido.

A motilidade gastrointestinal é um processo integrado que inclui atividade mioelétrica, contrátil, tônus, complacência e trânsito. Esses diferentes fatores de mobilidade podem ser gerados e modulados por substâncias neurais ou hormonais liberadas localmente ou através da circulação. A principal substância responsável pela modulação da motilidade gastrointestinal é a acetilcolina. Essa regulação é feita através da ligação aos receptores muscarínicos M1 e M3 presentes na camada de músculo circular do TGI (HANSEN, 2003).

Outras metodologias, complementares, poderão ser utilizadas para caracterizar o possível mecanismo pelo qual o EAEG produz gastroproteção, tais

como: determinação de muco da mucosa, método que consiste na determinação de mucopolissacarídeos solúveis; determinação de grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH) da mucosa gástrica, que se baseia na reação do reagente de Ellman (ácido 2-nitrobenzóico) com o tiol livre originando um dissulfeto misto mais ácido 2-nitro-5-tiobenzóico, cujo produto da reação é medido por leitura da absorbância; lesão gástrica crônica induzida por ácido acético, método baseado na observação das lesões induzidas por esse agente, injetado na parede suberosa do estômago, 7 dias antes do término do teste; determinação da atividade H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/ATPase, que pode ser realizado direta ou indiretamente em ensaios *in vivo* e *in vitro*, onde a enzima pura pode ser obtida por centrifugação diferencial, mantendo-se estável quando conservada à temperatura baixa (-15°C). Os ensaios *in vitro* são realizados com preparações da enzima purificada ou parcialmente purificada e baseiam-se na medida direta da atividade de hidrólise do ATP pela enzima.

O conjunto de nossos resultados permite sugerir que no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent podem estar envolvidos o aumento de fatores protetores da mucosa gástrica e/ou a redução de fatores agressores, tais como a inibição da secreção ácida gástrica. Essas ações tornam esta espécie vegetal uma fonte em potencial para novos estudos que comprovem a sua utilização como uma forma alternativa para o tratamento de distúrbios gástricos.

Com o prosseguimento dos estudos poderemos isolar os princípios ativos e determinar os processos envolvidos no efeito gastroprotetor.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem que:

- Os dados obtidos na caracterização farmacognóstica das folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent fornecem parâmetros importantes para a identificação da matéria-prima vegetal, como teor de cinzas, caracterização microscópica, entre outros.
- As folhas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent apresentam os metabólitos mucilagem, cumarina e falvonóides, prováveis responsáveis pela ação gastroproterora do EAEG.
- O EAEG administrado por via oral foi capaz de proteger a mucosa gástrica de camundongos contra lesões induzidas por indometacina, etanol ou estresse.
- O EAEG foi capaz de diminuir o volume e a acidez da secreção ácida gástrica em camundongos.
- O EAEG alterou significativamente a motilidade intestinal através do aumento do trânsito somente com a dose de 600 mg/kg.
- Este estudo pode respaldar o uso popular de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent como protetora da mucosa gástrica e para tratamento de distúrbios gástricos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-SALAM, O. M. E.; CZIMMER, J.; DEBRECENI, A.; SZOLCSÁNYI, J.; MÓZSIK, G. Gastric mucosal integrity: Gastric mucosal blood flow and microcirculation: An overview. **Journal of Physiology**, Paris, v. 95, p. 105-127, 2001.

AIHARA, T.; NAKAMURA, Y.; TAKETO, M. M.; MATSUI, M.; OKABE, S. Cholinergically stimulated gastric acid secretion is mediated by M3 and M5 but not M1 muscarinic acetylcholine receptors in mice. **AJP – Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 288, p. 1199-1207, 2005.

ANCHA, H. R.; KURELLA, R. R.; STEWART, C. A.; DAMERA, G.; CERESA, B. P.; HARTY, R. F. Histamine stimulation of MMP-1 (collagenase-1) secretion and gene expression in gastric epithelial cells: Role of EGRF transactivation and the MAP kinase pathway. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 2143-2152, 2007.

ARAÚJO, L. E.; SOEIRO, A. M.; FERNANDES, J. L.; SERRANO JÚNIOR, C. V. Eventos cardiovasculares: Um efeito de classe dos inibidores de COX-2. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 85, p. 222-229, 2005.

ARUN, M.; ASHA, V. V.; Gastroprotective effect of *Dodonea viscosa* on various experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 460-465, 2008.

ASSUMPÇÃO, R. M. V.; MORITA, T. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação e purificação**. São Paulo: Edgar Blucher, 1968.

BLANDIZZI, C.; TUCCORI, M.; COLUCCI, R.; FORNAI, M.; ANTONIOLI, L.; GHISU, N.; TACCA, M. D. Role of coxibs in the strategies for gastrointestinal protection in patients requiring chronic non-steroidal anti-inflammatory therapy. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 90-100, 2009.

BORELLA, J. C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A. G.; MENEZES, Jr. A.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P. A. S.; VENEZIANI, R. C. S.; LOPES, N. P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 557-561, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, 16 de março de 2004.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; SLIWOWSKI, Z.; DROZDOWICZ, D.; BURNAT, G.; PAJDO, R.; PAWLIK, M.; BIELANSKI, W.; KATO, I.; KUWAHARA, A.; KONTURE, S.; PAWLIK, W. W. Gastroprotective action of orexin-A against stress-induced gastric damage is mediated by endogenous prostaglandins. **Regulatory Peptides**, v. 148, p. 6-20, 2008.

BRUNETON, J. **Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales**. 2<sup>ème</sup> ed. Paris: Lavoisier, 1993.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology** v.100, p.131–134, 2005.

CHAKRAVORTY, M.; DE, D. D.; CHOUDHURY, A. ROYCHOUDHURY, S. IL-1 $\beta$  promoter polymorphism regulates the expression of gastric acid stimulating hormone gastrin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 2009.

CHAN, F. K. L. Helicobacter pylori and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 30, n. 4, p. 93-952, 2001.

CIOMS. International guiding principles for biomedical research involving animals. In: SMITH, J. A. ; BOYD. K. M. (Ed.) **Lives in balance**. New York: Oxford University Press, p. 259, 1985.

CLAPHAM, D.E.. Calcium signaling. **Cell** **80**, 259-268., 1995.

CONE, R. A. Barrier properties of mucus. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, p. 75-85, 2009.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e exóticas cultivadas**. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro, v. 6, p. 465 e 466, 1984.

COSTA, Aloísio F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 3v, 2001.

COX, P. A. The ethnopharmacological approach to drug discovery : strengths and limitations. **Ethnobotany and the search for new drugs**. Ciba Foundation Symposium 185, edit. D. J. Chadwick. J. Marsh, Chichester, Ed. Jhon Wiley & Sons, p. 25-41, 1994.

DEMBINSKI, A.; WARZECHA, Z.; CERANOWICZ, P.; BRZOZOWSKI, T.; DEMBINSKI, M.; KONTUREK, S. J.; PAWLIK, W. W. Role of capsaicin-sensitive nerves and histamine H1, H2, and H3 receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcers in rats. **European Journal of Pharmacology**. v.508, p. 211-221, 2005.

DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. **Scand . J. Gastroenterol.**, v.4, p. 265, 1969.

DING, M.; KINOSHITA, Y.; KISHI, K.; NAKATA, H.; HASSAN. S.; KAWANAMI, C.; SUGIMOTO, Y.; KATSUYAMA, M.; NEGISHI, M.; NARUMIYA, S.; ICHIKAWA, A.; CHIBA, T. Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract. **Prostaglandins**. v.53 (3), p.199-216, 1997.

DYKES, V.; HODGSON, W. Guar gum is not a panacea in diabetes management. **New Zealand, Medicine Journal**, v.93, n.683, p. 292-294, 1981.

ELISABETSKY, E. From indigenous disease concepts to laboratory working hypothesis: the case "New Tonics" from the Brazilian Amazon. Stockholm: IFS, Grev Turegatan. **Provisional Report Series**, v. 19, p. S-11438, 1987.

ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazônia. In: PARKER, E. P. (ed.). **The Amazon Caboclo: historical and contemporary perspectives**. Williamsburgh: Studies on Third World Societies Publication Series, v. 32, p. 243-278, 1985.

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. rev. ampl. Florianópolis: Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, , p. 263-288, 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988, parte 1.

FURNESS, J. B. Types of neurons in the enteric nervous system. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 81, . 87-96, 2000.

GARCIA, E. S. ; SILVA, A. C. P. ; GILBERT, B. ; CORREA, C. B. V. ; CAVALHEIRO, M. V. S. ; SANTOS, R. R. ; TOMASSINI, T. Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas. **Fitoterápicos**. Disponível em: <<http://wvtfw.bdt.org.br/publicações/padct/bio/cap10/Eloi.html>>. Acesso em 13 de jun de 2009.

GIEHL, E. L. H.; JARENKOW, J. A. Structural gradient of the tree component and relationship with flooding in a riverine forest, Rio Uruguai, southern Brazil. **Bot. Bras.**, vol.22, n. 03, 2008.

GILANI, A. H.; ATTA-UR-RAHMAN. Trends in ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.43–49, 2005.

GLAVIN, G. B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **Fased Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.

GOTTELAND, M.; CRUCHET, S.; FRAU, V.; WEGNER, M. E.; LOPEZ, R.; HERRERA, T.; SANCHEZ. A. ; URRUTIA, C. ; BRUNSER, O. Effect of acute cigarette smoking, alone or with alcohol on gastric barrier function in healthy volunteers. **Digest Liver Disease**, v. 34, p. 702-706, 2002.

GOVINDARAJAN, R., VIJAYAKUMAR, M., SINGH, M., RAO, C.V., SHIRWAIKAR, A., RAWAT, A.K.S., PUSHPANGADAN, P. Antiulcer and antimicrobial activity of *Anogeissus latifolia*. **Journal of Ethnopharmacology** 106, 57-61, 2006.

HANSEN, M.B. Neurohumoral Control of Gastrointestinal Motility. **Physiological Research.**, v. 52, p. 1-30, 2003.

HASEBE, K.; HORIE, S.; NOJI, T.; WATANABE, K.; YANO, S. Stimulatory effects of endogenous and exogenous nitric oxide on gastric acid secretion in anesthetized rats. **Nitric Oxide**, v. 13, p. 264-271, 2005.

HEEBA, G. H.; HASSAN, M. K. A.; AMIN, R. S. Gastroprotective effect of simvastatin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats: Role of nitric oxide and prostaglandins. **European Journal of Pharmacology**, v. 607, p. 18-193, 2009.

HICKEY, L. J.. **A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves**. In: Metcalfe, C. R.; CHALK, L. (Eds.), *Anatomy of the Dicotyledons*. Second edition. *Sistematis Anatomy of Leaf and Stem, With a Brief History of the Subject*. Oxford; Clarendon Press, vol. 1, p. 25-39, 1979.

HOLMSTEDT, B. R. Historical perspective and future of Ethnopharmacology. **Ethnobotany evolution of a discipline**. Edit. Richard Evans Schultes and Siri von Reis. Ed. Dioscorides Press, Portland, Oregon, p. 320-342, 1995.

HOULT, J. R. S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **Gen. Pharmacol.**, v.27, p. 713-722, 1996.

ISHIHARA, M.; KOJIMA, R.; ITO, M. Influence of aging on gastric ulcer healing activities of the antioxidants  $\alpha$ -tocopherol and probucol. **European Journal of Pharmacology**, v. 601, p. 143-147, 2008.

JAHOVIC, N.; ERKANLI, G.; ESERI, S.; ARBAK, S.; ALICAN, I. Gastric protection by  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone against ethanol in rats: Involvement of somatostatin. **Life Sciences**, v. 80, p. 1040-1045, 2007.

JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; NINEHAM, R.; TAYLOR, R.; METZ, G. L.; BACON, S.; HOCKADAY, T. D. R. Guar crispbread in diabetic diet. **British Medical Journal**, v.2, p. 1744-1746, 1978.

JEONG, S. I.; KIM, Y. S.; LEE, M. Y.; KANG, J. K.; LEE, S.; CHOI, B. K.; JUNG, K. Y. Regulation of contractile activity by magnolol in the rat isolated gastrointestinal tracts. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 183-188, 2009.

JOHANSEN, D. A. PLANT MICROTECHNIQUE. **Mcgraw - Hill Book Company**, New York, p. 523, 1940.

KANDULSKI, A.; SELGRAD, M.; MALFERTHEINER, P. *Helicobacter pylori* infection: A clinical overview. **Digestive and liver disease**, v. 40, p. 619-626, 2008.

KIDD, MODLIN, I. M.; BLACK, J. W.; BOYCE, M.; CULLER, M. A comparison of the effects of gastrin, somatostatin and dopamine receptor ligands on rat gastric enterochromaffin-like cell secretion and proliferation. **Regulatory Peptides**, v. 143, p. 109-117, 2007.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. rev. ampl. Florianópolis: Ed. Da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p. 544-546, 2004.

LAI, S. K.; WANG, Y. Y. ; WIRTZ, D. ; HANES, J. Micro-and macrorheology of mucus. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, p. 86-100, 2009.

MACAÚBAS, C. I. P.; OLIVEIRA, M. G. M.; FORMIGONI, M. L. O. S.; SILVEIRA-FILHO, N.G.; CARLINI, E.A. Estudo da eventual ação anti-úlceras gástrica do bálsamo (*Sedum sp.*); folha-da-fortuna (*Bryophyllum calycinum*), couve (*Brassica oleraceae*) e da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) em ratos. In: **Estudo de ação anti-úlceras gástrica de plantas brasileiras (Maytenus ilicifolia “Espinheira-santa” e outras)**, Central de Medicamentos CEME, Ministério da Saúde, p. 05-20, 1988.

MALONE, M. R. Natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity, 1977.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. Stressfull life-events, stress and anxiety. **Rev. psiquiatr. Rio Gd Sul**. Porto Alegre v. 25, suppl., 2003.

MATOS, F. J. A. **Introdução à química experimental**. Fortaleza: UFC, 1989.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. **Farmacognosia**. Fortaleza.: UFC, 1989.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons – leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. **Oxford: At the Clarendon Press**, 1957.

NICOLETTI, M.; GOULART, M. O.; DE LIMA, R. A. ; GOULART, A. E.; DELLE-MONACHE, F.; MARINI-BETTOLO, G. B. Flavonoids and alkaloids from *Strychnos pseudoquina*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, p. 953-957, 1984.

OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 1, n. 1, p. 1-117, 1988.

OLINDA, T. M.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; RAO, V. S.; SANTOS, S. A. Quebrachitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K<sup>+</sup> ATP channels. **Phytomedicine**, v. 15, p. 327-333, 2008.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1998.

PAIVA, J. G. A.; FANK-DE-CARVALHO, S. M.; MAGALHÃES, M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Verniz Vitral 500\*: uma alternativo de meio de montagem economicamente viável. **Acta Bot. Bras.**, vol. 20, p> 257-264, 2006.

PARK, Y. W. Determination of moisture and ash contents of food. In: NOLLET, L. M. L. **Handdbook of food analysis: physical characterization and nutrient analysis**. New York: Marcel Dekker, v. 1, p. 59-92, 1996.

PASUPATHI, P.; BAKTHAVATHSALAM, G.; RAO, Y. Y.; FAROOK, J. Cigarette smoking – Effect of metabolic health risk: A review. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, 2009.

PILATI, R.; SOUZA, L. A. Morfologia da plântula *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent (ULMACEA). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 28, p. 1-6, 2006.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996.

ROBERT, A.; NÈZAMIS, J. E.; LANCASTER, C. ; HAUCHAR, A. J. Cytoprotection by prostaglandins in tats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl an thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, p. 433-443, 1979.

ROBERTSON, D. J.; SANDLER, R. S.; AHNEN, D. J.; GREENBERG, E. R.; MOTT, L. A.; COLE, B. F.; BARON, J. A. Gastrin, Helicobacter pylori and colorectal adenoms. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 7, p. 163-167, 2009.

ROMBI, M. **100 Plantes medicinales**. Paris: Romart, 1991.

SAIRAM, K.; RAO, C, H, V.; DORA BABU, M.; VIJAY KUMAR, K.; AGRAWAL, V. K.; GOEL, R. K. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Emblica officinallis*: na experimental study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p. 1-9. 2002.

SAITOH, T.; KINOSHITA, T.; SHIBATA, S. Chem. Pharm. Bull. v. 24, p. 1242-1245, 1976.

SALIM, A. S. Sulfhydryls protect patients against complications of erosive gastritis. **Dig. Dis. Sci.** v. 11, p. 1436-7, 1990.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. ampl. Florianópolis: Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p. 403-434, 2004.

SAVARINO, V.; MARIO, F. D.; SCARPIGNATO, C. Próton pump inhibitors in GORD. An overview of their pharmacology, efficacy and safety. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 135-13, 2009.

SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. **Food Technology**, Feb., p. 104-110, 1986.

SCHONBRUNN, A. Selective agonism in somatostatin receptor signaling and regulation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 286, p. 35-39, 2008.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Gastroenterology**, v. 16, p. 463-468, 2000.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Gastroenterology**, v. 18, p. 639-649, 2002.  
SENAY, S. E.; LEVINE, R. J. Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcer in rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 124, p. 1221-1223, 1967.

SENAY, S. E.; LEVINE, R. J. Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcer in rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 124, p. 1221-1223, 1967.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining Gymnosperm leaves. **Botanical Gazette**, vol. 128, n. 2, p. 150-152, 1967.

SHRESTHA, Y.; WICKWIRE, K.; GIRAUDO, S. Q. Direct effects of nutrients, acetylcholine, CCK, and insulin of ghrelin release from the isolated stomachs of rats. **Peptides**, 2009.

SIKANDER, A.; RANA, S. V.; PRASAD, K. K. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. **Clin Chim Acta**, 2009.

SILVA, M. A.; RAFACHO, B. P.; HIRUMA-LIMA, C. A.; ROCHA L. R. M.; SANTOS L. C.; SINNOMIYA, M.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Evaluation of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 53, p. 881-885, 2005.

SILVA, C. S. P.; PROENÇA, C. E. B. Use and availability of medicinal resources in Ouro Verde de Goiás, Goiás State, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 02, 2008.

SINGH, S.; MAJUMDAR, D.K. Evaluation of the gastric activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil). **Journal of Ethnopharmacology**, 65, 13-19, 1999.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterisation of flavonoids from *Baccharis trimera* and their anti hepatotoxic properties. **Planta Med**, v. 3, p. 37-39, 1987.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F.J. The principles and practice of statistics in biological research. **Biometry**. Freeman, New York, 1981.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGII, 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarium, p. 704, 2008.

SPILLER, R. C. Cholesterol, fibre and bile acids. **Lancet**, v. 347, p. 425-416, 1996.

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

SZABO, S.; SZELENYI, I. Cytoprotection in gastrointestinal pharmacology. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 8, p. 149-154, 1987.

SZABO, S.; NAGY, L. Pathways, mediators and mechanism of gastroduodenal mucosal injury. **Acta Physiologica Hungarica**. V. 80, p. 9-21, 1992.

TOOD, P. A.; BENFIELD, P.; GOA, K. L. Guar gum: a review of its pharmacological properties, and use as a dietary adjunct in hypercholesterolemia. **Drugs**, v.39, n.6, p. 917-928, 1990.

TOSTIVINT, H.; LIHRMANN, I.; VAUDRY, H. New insight into the molecular evolution of the somatostatin family. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 286, p. 5-17, 2008.

TRESVENZOL, L. M.; PAULA, J. R.; RICARDO, A. F.; FERREIRA, H. D.; ZATTA, D. T. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3 (1),p. 23-28, 2006.

TULUNG, B.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. Specific effects of guar gum or gum Arabic on adaptation of cecal digestion to high fiber diets in rat. **Journal of Nutrition**. v.117, p.1556-1561, 1987.

TWARDOWSCHY, A. Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae). **Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2007.

UEDA, K.; KOSUGE, K.; TOBE, H. A molecular phylogeny of Celtidaceae and Ulmaceae (Urticales) base don rbcL nucleotide sequences. **Journal of Plant Research**. v. 110, p. 171-178, 1997.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, p. 85-94, 2005.

VISSCHER, F. E. SEAY, P. H.; TAZELAAR, A. P. JR.; VEDKAMP, W.; VANDER, BROOK, M. J.; Pharmacology of Pamine Bromide. **J. Pharmac. Exp. Ther.**, v. 110, p. 188-204, 1954.

VLIETINCK, A. J., DE BRUYNE, T., APERS, S<sup>o</sup>, PIETERS, L. A Plant derive leading compounds for chemotherapy of human imunodeficiency virus (HIV) infection. **Planta medica**, v.64, p.97-109, 1998.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. v.15, p.691-703, 2001.

WALLACE, J. L.; FIORUCCI, S. A magic bullet for mucosal protection and aspirin is the trigger! **Trends in Pharmacological Sciences**. v.24, p.323-326, 2003.

WALLACE, J. L. COX-2: A Pivotal Enzyme in Mucosal Protection and Resolution of Inflammation. **The Scientific World Journal**. v. 6, p. 577-588, 2006.

WANG, D.; MANN, J. R.; DUBOIS, R. N. The role of prostaglandins and other eicosanoids in the gastrointestinal tract. **Gastroenterology**, v. 128, p. 1445-1461, 2005.

WHO. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: World Health Organization, 1998.

ZAVADA, M. S.; KIM, M. Plant Systematics and Evolution. **Printed in Austria Phylogenetic analysis of Ulmaceae**. p. 1, 1996.

ZUANAZZI, J. A. S; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. rev. ampl. Florianópolis: Ed. Da UFSC; Porto Alegre: Ed. Da UFRGS, p. 577-581, 2004.

## ANEXOS

ANEXO A - Tabela 1: Ficha padrão de triagem farmacológica.

AÇÃO	PARÂMETROS	COM TRO LE	TEMPO DE INJEÇÃO														
			MINUTOS					HORAS				DIAS					
			5	10	20	30	60	4	8	24	48	4	7				
S I S T E M A  N E R V O S O  C E N T R A L	E S T I M U L A N T E S	>MOTILIDADE															
		>FREQ. RESPIRATÓRIA															
		PILOEREÇÃO															
		EXOFTALMIA															
		MOVIMENTOS ESTEREOTIPADOS															
		Lamber patas															
		Coçar focinho															
		Morder cauda															
		CONVULSÃO CLÔNICA															
		CONVULSÃO TÔNICA															
		TREMORES FINOS															
		TREMORES GROSSEIROS															
		SIALORRÉIA															
		FASCICULAÇÕES															
		MIDRIASE															
		EREÇÃO DE CAUDA															
		TREMOR DA CAUDA															
	DIÂMETRO PUPILAR																
	D E P R E S S O R E S	<MOTILIDADE															
		<FREQ. RESPIRATÓRIA															
		SEDAÇÃO															
		CATATONIA															
		PTOSE PALPEBRAL															
		ANALGESIA															
		ANESTESIA															
		PERDA REFLEXO CORNEANO															
		DIÂMETRO PUPILAR															
		ATAXIA															
		DISPNÉIA															
		PASSIVIDADE															
		ALIENAÇÃO AMBIENTE															
		<TÔNUS DORSAL															
		PERDA PREENSÃO PATA															
		PARALISIA TREM POSTERIOR															
O U T R O S		O R E L H A	PALIDEZ														
	CIANOSE																
	HIPEREMIA																
	U R I N A	AUMENTADA															
		REDUZIDA															
		COLORAÇÃO															
	E F E I T O S	DIARRÉIA															
		CONTORÇÃO															
		REAÇÃO DE FUGA															
		AGRESSIVIDADE GRANIDOS															

Adaptado de M. H. MALONE (Natural Products & Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity, 1977).



## APÊNDICE

APÊNDICE A - Tabela 3: Índice de lesões gástricas induzidas por indometacina (30 mg/kg s.c.) em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral.

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	10	12	10	2	4
2	18	16	12	4	2
3	15	4	6	8	2
4	16	10	8	8	6
5	6	15	6	4	5
6	12	12	8	6	4
7	9	16	10	4	1
8	15	12	8	4	5
9	10	16	4	2	4
10	16	6	12	6	
11	6	8	4	2	
12		14	10	2	
13		8		4	
Média±EPM	12,1±1,26	11,46±1,11	8,17±0,8	4,3 ±0,6	3,67±0,55

APÊNCIDE B - Tabela 4: Índice de lesões gástricas induzidas por etanol (75% v/v, v.o.) em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 20 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	14	10	16	20	26
2	34	11	4	3	6
3	22	18	16	4	1
4	30	16	12	8	14
5	40	18	24	8	22
6	46	24	18	4	12
7	24	22	12	8	13
8	34		18	24	28
9	12			14	
Média±EPM	28,44±3,81	17,0±1,96	15,0±2,07	10,33±2,48	15,25±3,35

APÊNDICE C - Tabela 5: Índice de lesões gástricas induzidas por estresse em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via oral.

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	12	10	8	8	5
2	14	10	9	8	6
3	18	12	13	10	11
4	22	12	15	10	12
5	22	12	16	12	14
6	23	16	16	12	14
7	25	18	17	13	16
8	28	18	18	13	16
9	32	20	19	14	16
10		22		15	16
11		22		16	
Média±EPM	21,77±2,13	15,64±1,4	14,55±1,28	11,9±0,8	12,6±1,31

APÊNDICE D - Tabela 6: Volume do conteúdo gástrico (mL) acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via intraduodenal.

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	2,4	2,0	1,9	2,0	2,2
2	2,4	2,4	1,9	2,0	2,0
3	2,6	2,1	1,7	2,2	1,4
4	2,2	2,4	1,4	1,4	2,1
5	2,4	2,0	1,9	2,0	2,0
6	2,4	1,9	2,4	2,0	2,0
7	2,2	2,0	2,2	1,6	1,8
8	2,6	2,4	2,2	1,8	2,0
Média±EPM	2,4 ± 0,05	2,15 ± 0,07	1,95 ± 0,11	1,87 ± 0,09	1,93 ± 0,08

APÊNDICE E - Tabela 7: Acidez livre (pH) do conteúdo gástrico acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina (50 mg/kg) pela via intraduodenal

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	3,86	4,33	4,44	5,19	7,04
2	4,95	4,24	6,25	4,96	5,00
3	3,19	6,10	6,60	5,27	4,63
4	2,57	4,10	5,24	6,73	4,55
5	4,17	5,04	5,75	6,98	4,31
6	3,44	5,27	4,43	5,80	5,70
7	3,74	5,20	5,95	5,51	5,75
8	3,72	6,38	6,76	5,69	4,68
Média±EPM	3,70 ± 0,24	5,08 ± 0,29	5,67 ± 0,31	5,76 ± 0,25	5,20 ± 0,32

APÊNDICE F - Tabela 8: Acidez total (mEq[H<sup>+</sup>]/L) do conteúdo gástrico acumulado após 4 horas de ligadura pilórica em animais tratados com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg, veículo (água filtrada 10 mL/kg) ou ranitidina pela via intraduodenal.

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg	Ranitidina 50 mg/kg
1	8,5	3,2	2,0	1,8	3,0
2	3,3	1,1	2,1	4,4	1,7
3	5,5	4,0	4,4	1,9	2,2
4	3,9	3,3	0,4	1,7	2,9
5	9,3	2,2	2,0	2,5	1,3
6	5,8	2,8	3,7	5,0	2,3
7	6,1	2,9	6,0	2,0	2,0
8	6,0	2,7	1,9	1,5	1,9
Média±EPM	6,04 ± 0,72	2,77 ± 0,30	2,81 ± 0,62	2,60 ± 0,47	2,16 ± 0,20

APÊNDICE G - Tabela 9: Trânsito intestinal do marcador carvão ativado (em valores percentuais) em animais tratados previamente (60 min) com EAEG 70, 200 e 600 mg/kg ou veículo (água filtrada 10 mL/kg) pela via oral.

Animal	Veículo	EAEG 70 mg/kg	EAEG 200 mg/kg	EAEG 600 mg/kg
1	56	46	65	81
2	52	50	66	75
3	49	33	57	82
4	52	42	51	60
5	55	31	70	46
6	45	53	66	53
7	48	41	63	53
8	66		54	84
9	52		71	79
10			54	
Média±EPM	52,7±2,0	42,2±3,1	61,7±2,2	68,1±4,9