

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ANA KELY ARAÚJO DE SOUSA

ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO AQUOSO
DAS FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ

São Luís

2016

ANA KELY ARAÚJO DE SOUSA

**ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO AQUOSO
DAS FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Marilene Oliveira da Rocha Borges.

Co-orientadora: Profa. Dra. Germana Freire Rocha Caldas.

São Luís

2016

Sousa, Ana Kely Araújo de

Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* SWARTZ / Ana Kely Araújo de Sousa. – São Luís, 2016.

54f.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marilene Oliveira da Rocha Borges.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2016.

1. Araçá. 2. Úlcera péptica. 3. Antiulcerogênico. I. Título.

CDU 615.32

ANA KELY ARAÚJO DE SOUSA

**ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO EXTRATO AQUOSO DAS
FOLHAS DE *Psidium guineense* SWARTZ**

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Marilene Oliveira da Rocha Borges (Presidente)
Doutora em Farmacologia

Prof. Dr. Lídio Gonçalves Lima Neto
Doutor em Ciências Aplicada a Farmácia

Prof^a. Dr^a. Sônia Maria de Farias Freire
Doutora em Biotecnologia

Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro
Doutora em Biotecnologia

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida diário e por me dar a força necessária para vencer os obstáculos.

Aos meus pais, José Astrogildo e Iolanda, por todo amor e apoio durante toda minha vida, sentimentos que me propiciaram o ânimo e a coragem para chegar até aqui.

Aos meus avós, Raimundo e Isabel *in memoriam*, e a minha madrinha Maria Vanda, incentivadores incansáveis do meu progresso intelectual.

À minha irmã, Ana Karolyne, pelo convívio e apoio nas lutas diárias.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Marilene Oliveira Rocha Borges, por me abrir as portas do mundo científico, e por todo carinho e orientação neste trabalho.

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Germana Freire Rocha Caldas, profissional competente e amiga, que tive a honra de conhecer. Contribuiu imensamente para o enriquecimento deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Sônia Maria Farias Freire e aos alunos Janaína, Renata, Rômulo e Jaiane por toda contribuição a este trabalho.

Aos meus colegas, amigos e professores do Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia, em especial as alunas Ramilya, Thalita e aos alunos Antônio Luís e Nilson por todo auxílio e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu noivo, Danylo, pelo amor e companheirismo.

Aos meus familiares, por todo o carinho e torcida que recebo.

À Universidade Federal do Maranhão e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pela oportunidade de ter mais uma conquista acadêmica nessa casa.

Aos órgãos de fomentos CAPES, CNPq e FAPEMA, que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

Psidium guineense Swartz (Myrtaceae) é um arbusto conhecido vulgarmente como araçá, araçá do campo, araçá vedaleiro, araçá mirim, araçá pedra ou araçazinho, e está amplamente distribuído pelo Brasil, ocorrendo na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Suas cascas e raízes são usadas popularmente no tratamento de distúrbios gastrointestinais tais como cólica, diarreia, gastroenterite e gastrite. A investigação fitoquímica revela que a espécie é rica em flavonoides e taninos, classes de compostos que têm demonstrado potencial atividade antiulcerogênica. Com base nas suas características fitoquímicas e no uso popular, o objetivo deste estudo foi investigar a ação antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) e os possíveis mecanismos de ação envolvidos nesta atividade. O extrato foi preparado a partir do pó das folhas por extração aquosa. Na toxicidade aguda administrou-se o EAPg por via oral numa dose única (5 g/kg). A atividade antiulcerogênica do EAPg (125, 250 e 500 mg/kg) foi avaliada utilizando modelos de úlcera gástrica induzida por etanol 75% (10 mL/kg) ou indometacina (30 mg/kg). Foram determinados a atividade antissecretória basal pelo método da ligadura pilórica, o envolvimento do óxido nítrico e dos compostos sulfidrílicos, e quantificados os níveis de muco gástrico e compostos sulfidrílicos. A atividade anti-*Helicobacter pylori* foi determinada por ensaio *in vitro*, utilizando microplaca. Nenhum sinal de toxicidade ou mortes foi registrado após a administração oral do EAPg na dose de 5,0 g/kg. A administração oral do EAPg (125, 250 e 500 mg/kg) foi efetiva na proteção da mucosa gástrica, reduzindo em 45,0; 88,0 e 93,0% a lesão gástrica induzida por etanol, respectivamente. Além disso, EAPg reduziu em 53,0, 79,0 e 94,0% a úlcera gástrica induzida pela indometacina, respectivamente. EAPg (250 mg/kg) aumentou o pH e reduziu a acidez total, mas não alterou o volume da secreção gástrica, sugerindo uma ausência de efeito antissecretório. A atividade antiulcerogênica do EAPg não está relacionada ao óxido nítrico, mas é dependente da presença de compostos sulfidrílicos. A administração prévia do EAPg aumentou os níveis basais de muco em 89,4% e de compostos sulfidrílicos em 78,9% na mucosa gástrica, confirmando assim sua atividade citoprotetora. O EAPg não apresentou atividade anti-*H. pylori*, apresentando uma concentração inibitória mínima (CIM) de 2 mg/mL. Os resultados obtidos demonstram que o extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* apresenta atividade antiulcerogênica. Além disso, contribuem para um maior conhecimento da espécie e para validar o uso desta espécie no tratamento de distúrbios gastrointestinais.

Palavras-chave: *Psidium guineense*; úlcera péptica; antiulcerogênico.

ABSTRACT

Psidium guineense Swartz (Myrtaceae) is a popular shrub commonly as *araçá*, *araçá do campo*, *araçá vedaleiro*, *araçá mirim*, *araçá pedra ou araçazinho*, and is widely distributed in Brazil, taking place in the Amazon, Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest. Its barks and roots are used commonly in the treatment of gastrointestinal disorders such as colic, diarrhea, gastroenteritis and gastritis. The phytochemical research reveals that the species is rich in flavonoids and tannins, classes of compounds that have shown potential antiulcerogenic activity. Based on their phytochemical characteristics and in popular usage, the aim of this study was to investigate the antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Psidium guineense* (EAPg) and possible mechanisms involved in this activity. The extract was prepared from the powder by aqueous extraction of the leaves at 60 °C. In acute toxicity, EAPg was administered orally in a single dose (5g/kg). The antiulcer activity of EAPg (125, 250 and 500 mg/kg) was evaluated using models of gastric ulcer induced by ethanol 75% (10 mL/kg) or indomethacin (30 mg/kg). Were determined baseline antisecretory activity by the method of pyloric ligation, the involvement of nitric oxide and sulfhydryl compounds, and quantified the levels of gastric mucus and sulfhydryl compounds. The anti-*Helicobacter pylori* activity was determined by *in vitro* assay. No signs of toxicity or death was recorded after oral administration of EAPg at a dose of 5.0 g/kg. Oral administration of EAPg (125, 250 and 500 mg/kg) was effective in protecting the gastric mucous membrane, reducing by 45.0, 88.0 and 93.0% gastric lesions induced by ethanol, respectively. Furthermore, EAPg reduced by 53.0, 79.0 and 94.0% gastric ulcer induced by indomethacin, respectively. EAPg (250 mg/kg) increased the pH and reduced the total acidity, but did not change the volume of gastric secretion, suggesting an absence of antisecretory effect. The antiulcerogenic activity EAPg is not related to nitric oxide, but is dependent on the presence of sulfhydryl compounds. The prior administration of EAPg increased basal levels of mucus 89,4% and 78,9% sulfhydryl compounds in the gastric mucosa, thus confirming their cytoprotective activity. The EAPg showed no bactericidal activity against *Helicobacter pylori*, having a minimum inhibitory concentration (MIC) 2000 mg/mL. The results showed that the aqueous extract of *Psidium guineense* has antiulcer activity. In addition, they contribute to a better understanding of the species and to validate the use of this species in the treatment of gastrointestinal disorders.

Keywords: *Psidium guineense*; peptic ulcer; antiulcerogenic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Psidium guineense* Swartz (A), destaque para seus frutos (B) e flores (C).....19

Figura 2. Efeito do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) sobre o muco aderido à mucosa gástrica de camundongos.....34

Figura 3. Efeito do tratamento oral com o extrato aquoso de *P. guineense* (EAPg) sobre o conteúdo gástrico de grupamentos sulfidrílicos, em camundongos após a administração de etanol a 75%.....34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeitos do tratamento por via oral com extrato aquoso das folhas de *P. guineense* (EAPg), por via oral, em modelos de lesão gástrica aguda induzidas por etanol a 75 % e indometacina em camundongos.....32
- Tabela 2.** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre parâmetros da secreção gástrica de camundongos submetidos a ligadura do piloro.....33
- Tabela 3.** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol, em camundongos pré-tratados com L-NAME (70 mg/kg).....34
- Tabela 4.** Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol, em camundongos pré-tratados com NEM (10 mg/kg).....35

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial da Saúde
AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
TGI	Trato gastrointestinal
COX-1	Ciclo-oxigenase 1
PGs	Prostaglandinas
ECL	Células Enterocromafins-like
HCl	Ácido clorídrico
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ACh	Acetilcolina
SSTR-2	Receptor de somatostatina tipo 2
PGE2	Prostaglandina E2
PGI2	Prostaglandina I2
IP3	Inositol Trifosfato
DAG	Diacilglicerol
-SH	Grupamentos sulfidrila
EROs	Espécies reativas de oxigênio
NEM	N-etilmaleimida
NO	Óxido nítrico
cGMP	Guanosina-3', 5'-monofosfatocíclica
EAPg	Extrato aquoso de <i>Psidium guineense</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
NaOH	Hidróxido de sódio
CBX	Carbenoxolona
H₂	Receptores histaminérgicos tipo 2
NOS	Óxido nítrico sintase

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Úlcera Péptica.....	13
2.2 A Secreção gástrica.....	14
2.3 Mecanismos de proteção da mucosa.....	15
2.4 Tratamento da Úlcera Péptica.....	17
2.5 Família Myrtaceae.....	18
2.6 <i>Psidium guineense</i> Swartz.....	18
3. OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
4. ARTIGO	23
1. Introdução.....	25
2. Material e Métodos.....	26
2.1 <i>Material vegetal e preparação do extrato</i>	26
2.2 <i>Animais</i>	27
2.3 <i>Toxicidade Aguda</i>	27
2.4 <i>Atividade Antiulcerogênica</i>	27
2.5 <i>Avaliação dos fatores protetores da mucosa</i>	28
2.6 <i>Atividade anti-Helicobacter pylori</i>	30
2.7 <i>Análise Estatística</i>	31
3. Resultados.....	31
4. Discussão.....	35
Referencias.....	39
5. CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais empregadas tradicionalmente no tratamento de doenças pela humanidade é milenar e difundido por todo o mundo, seja como medicamento ou em rituais religiosos (LI; OHIZUMI, 2004). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população global faz uso de plantas medicinais, sendo a maioria em países em desenvolvimento (GURIB-FAKIM, 2006). As plantas medicinais representam, muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos e, dentre os fatores que determinam o emprego popular das plantas nos cuidados com a saúde, está o alto preço dos medicamentos industrializados (GURIB-FAKIM, 2006).

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total de 550.000, considerando-se que mais da metade dessas espécies encontram-se nas florestas tropicais, cuja área corresponde a apenas 7% da superfície da Terra (GUERRA; NODARI, 2004). Muito ainda precisa ser explorado e conhecido diante de todo esse potencial e variedade vegetal, principalmente no que diz respeito às plantas medicinais, por isso, estudos que visem aumentar o conhecimento farmacológico de espécies já utilizadas por determinadas populações para o tratamento de doenças comuns à sua região, devem ser estimulados, principalmente para oferecer segurança e posologias que propiciem uma maior eficácia no tratamento.

A úlcera péptica é a mais prevalente entre as doenças do trato gastrointestinal na maior parte do mundo, com 7 a 13 milhões de novos casos diagnosticados anualmente (SUNG et al., 2009). Ainda é considerada um problema significativo de saúde pública (LAU et al., 2011), principalmente pela deficiência de uma cura eficaz e pela incidência de efeitos adversos da terapêutica. Isso fez com que as pesquisas por novos agentes antiulcerogênicos crescesse muito nas últimas décadas, baseando-se principalmente, em avaliar a eficiência de produtos naturais que já são utilizados pela população, por meio de testes pré-clínicos com animais (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005). No Brasil existem inúmeros registros de uso de plantas medicinais para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, incluindo a úlcera gástrica (CRUZ, 1995).

Várias espécies vegetais apresentaram resultados promissores como antiulcerogênicas em estudos científicos, incluindo *Campomanesia xanthocarpa* (MARKMAN et al., 2004), *Plinia edulis* (ISHIKAWA et al., 2008), *Syzygium aromaticum* (AGBAJE, 2008), *Eugenia jambolana* (CHATUVERDI et al., 2009), *Syzygium jambos* (DONATINI et al., 2009), *Melaleuca bracteata* (ADESANWO et al., 2009), *Eucalyptus*

citriodora (AL-SAYED; EL-NAGA, 2015) e *Psidium guajava* (RAJA; SUNDAR, 2012), todas pertencentes à família Myrtaceae. Em comum, estas espécies possuem altas concentrações de taninos, flavonoides e alcaloides, classes de compostos com conhecida atividade protetora e cicatrizante da mucosa gástrica (JAIN, 2015).

Psidium guineense Swartz é uma espécie vegetal pertencente à família Myrtaceae, conhecida vulgarmente como araçá, araçá do campo, araçá vedaleiro, araçá mirim, araçá pedra ou araçazinho, com ampla distribuição geográfica no Brasil, ocorrendo em estados do Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (GONZÁLEZ et al., 2005). Esta espécie vegetal é muito utilizada pela população na prevenção ou tratamento dos distúrbios gastrointestinais como cólicas intestinais, diarreia, gastroenterite e gastrite, sendo suas folhas, cascas e raízes preparadas na forma de decocto (CRUZ, 1995).

Apesar da sua relevância como planta medicinal e do uso frequente nas regiões onde é encontrada, ainda não existem relatos científicos sobre o efeito de *P. guineense* sobre o trato gastrointestinal. Nesse sentido, este trabalho investigou o efeito antiulcerogênico do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* a fim de contribuir para a validação desta espécie vegetal como planta medicinal.

Revisão Bibliográfica

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Úlcera péptica

A úlcera péptica é uma doença crônica comum, definida como um distúrbio na integridade da mucosa gástrica ou duodenal que causa um dano superficial e que se estende da camada muscular da mucosa à submucosa, ou mais profundamente, devido a um processo inflamatório (FARZAEI et al., 2015). A incidência anual de úlcera péptica no mundo é estimada entre 1500 a 3000 a cada 100.000 habitantes. Apesar dos avanços médicos, o controle da úlcera péptica e suas complicações ainda é um desafio, com altas taxas de morbidade e mortalidade (MALFERTHEINER et al., 2009).

A etiologia das úlceras pépticas é influenciada por um desequilíbrio entre os mecanismos lesivos e protetores da mucosa gástrica e intestinal. Entre os mecanismos protetores estão a secreção de muco, produção de bicarbonato, fluxo sanguíneo adequado, produção de óxido nítrico e prostaglandinas, sistema antioxidante enzimático e não enzimático, e como fatores lesivos podemos citar o excesso de ácido clorídrico e pepsina. Estas lesões podem ser agravadas pelo estilo de vida abusivo como tabagismo ou etilismo, anti-inflamatórios não esteroidais e infecção no local pela bactéria *Helicobacter pylori* (BESERRA et al., 2011).

Atualmente, o uso anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* são os principais fatores responsáveis pelos casos de úlcera péptica. Os AINEs estão entre os medicamentos mais prescritos no mundo, sendo que, na Europa, estima-se que este medicamento represente mais de 7,7% de todas as prescrições (FIORUCCI, 2009). O grande problema relacionado com essas drogas se deve aos efeitos adversos que são comuns, especialmente no trato gastrointestinal (TGI), tais como a formação de úlceras, hemorragia e obstrução do TGI. Os efeitos dos AINEs ocorrem por meio da inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX), que bloqueia a síntese de prostaglandinas (PGs) (WALLACE, 2008). O resultado desta inibição leva a uma diminuição da produção intra-gástrica de muco e do fluxo sanguíneo, reduzindo assim a barreira protetora e também a capacidade das células da mucosa para o reparo (STEWART; ACKROYD, 2011).

A descoberta, em 1984, do envolvimento da bactéria *Helicobacter pylori* na úlcera péptica marcou um grande avanço para a compreensão desta patologia (MARSHALL; WARREN, 1994). Essa bactéria gram-negativa foi reconhecida como sendo responsável por até 95% das úlceras duodenais e 70% das úlceras gástricas. *H. pylori* coloniza a mucosa

gástrica, predominantemente no antro e canal pilórico e produz uma enzima chamada urease, que converte a ureia em amoníaco e dióxido de carbono, compostos que tamponam o ácido gástrico na sua vizinhança facilitando a sua sobrevivência no ambiente ácido gástrico (MALFERTHEINER et al., 2009). Esse ambiente alcalino tem um efeito inibitório sobre as células D, produtoras de somatostatina, o que impede a inibição da produção de gastrina pelas células G, levando, conseqüentemente, a uma hipergastrinemia e uma secreção aumentada de ácido gástrico, culminando na lesão da mucosa (MAJUMDAR et al., 2010).

2.2 A secreção gástrica

A regulação da secreção ácida gástrica é um processo complexo, mediado por mecanismos neurais, hormonais, parácrinos e autócrinos a nível central e periférico, os quais convergem para a etapa final da secreção de ácido clorídrico (HCl), por meio da atividade da bomba de próton H^+/K^+ -ATPase nas células parietais gástricas. O estímulo primário para que ocorra todo o processo de secreção gástrica começa através da excitação do córtex cerebral produzida pela visão, odor e sabor do alimento (KOEPPEN; STANTON, 2009).

A liberação do ácido gástrico ocorre por estimulação direta dos receptores do tipo H_2 da histamina, muscarínicos do tipo M_3 da acetilcolina e CCK_B da gastrina; ou por estímulo indireto, quando a gastrina e acetilcolina estimulam as células enterocromafins (ECL) para liberar histamina, que juntamente com a gastrina e acetilcolina ativam seus respectivos receptores e promovem a liberação de HCl. Os receptores desses secretagogos foram identificados anatômica e farmacologicamente na membrana basolateral da célula parietal (POTRICH, 2009).

O HCl é um fator importante da secreção gástrica, porque é o responsável por acidificar o conteúdo gástrico, e com a conseqüente diminuição do pH, possibilita a conversão do pepsinogênio (inativo) em pepsina (ativo), para, assim começar o processo de digestão proteica. Quando a acidez aumenta acima do normal, a gastrina é bloqueada por meio de mecanismo de *feedback negativo* de forma a proteger a mucosa, além de manter o pH ideal para o funcionamento das enzimas digestivas (SACHS et al., 2010).

Existem duas vias principais de sinalização na célula parietal: a via dependente de adenosina monofosfato cíclica (AMPC) e a via dependente do íon cálcio (Ca^{2+}). Enquanto a histamina utiliza a primeira via, a gastrina e a acetilcolina (ACh) exercem seus efeitos por meio da última. A via dependente de AMPC resulta na fosforilação das proteínas efetoras da célula parietal, e a via dependente do Ca^{2+} leva a um aumento do Ca^{2+} citosólico. Ambas as

vias ativam a H^+/K^+ -ATPase, que consiste em uma grande subunidade α e uma subunidade β menor. Essa bomba produz o maior gradiente iônico conhecido nos vertebrados, com um pH intracelular de cerca de 7,3 e um pH intracanalicular de mais ou menos 0,8 (HOOGERWERF; PASRICHA, 2005).

Quando não estimulada, a atividade da bomba de prótons H^+/K^+ -ATPase é mantida predominantemente dentro de túbulo-vesículas citoplasmáticas. Sob estimulação, estas vesículas se fundem com a membrana plasmática apical, resultando em extensiva secreção. Ao cessar a secreção, H^+/K^+ -ATPase é recolhida da membrana apical, e restabelecida ao seu compartimento túbulo-vesicular. Não se sabe ao certo o mecanismo exato desta regulação, mas os dados sugerem que microfilamentos de actina, GTPases e também proteínas de ancoragem/fusão sejam os responsáveis por este mecanismo (SCHUBERT; PEURA, 2008).

A inibição da secreção gástrica é mediada principalmente por ações da somatostatina, fatores de crescimento epidérmico e prostaglandinas E_2 e I_2 (AIRES, 2008). A somatostatina inibe a secreção de histamina pelas células do tipo ECL e a secreção de gastrina pelas células G. O receptor de somatostatina tipo 2 (SSTR-2) é o principal subtipo que exerce efeitos de mediação da somatostatina na secreção gástrica. As prostaglandinas (PGs) inibem a secreção de ácido por ação direta nas células parietais por inibir a secreção induzida pela histamina (SH, 2015).

2.3 Mecanismos de proteção da mucosa gástrica

Elevadas concentrações de H^+ no lúmen gástrico, pepsina, infecções por *Helicobacter pylori*, ingestão de AINEs e consumo de etanol causam danos à mucosa, que se mantém íntegra devido a mecanismos naturais de defesa (WALACE, 2008). As mais importantes linhas de defesa da mucosa gástrica incluem a barreira muco-bicarbonato-fosfolipídeos, a geração contínua de prostaglandinas E_2 (PGE_2) e I_2 (PGI_2), a microcirculação na mucosa, a liberação de óxido nítrico e grupamentos sulfidrílicos (LAINE et al., 2008).

As prostaglandinas são formadas a partir do ácido araquidônico através da via da cicloxigenase (COX) e são fundamentais na manutenção da integridade da mucosa (LAINE et al., 2008). Dentre suas principais funções no trato gástrico estão incluídas a estimulação da secreção de muco, bicarbonato e fosfolipídeos, inibição da secreção ácida, aumento do fluxo sanguíneo e cicatrização da mucosa. As PGs exercem proteção por aumentarem tanto a secreção de muco e bicarbonato quanto a resistência de células epiteliais contra danos

causados por citotoxinas, além de manter o fluxo sanguíneo da mucosa (KONTUREK et al., 2005).

O efeito biológico das PGs, neste caso da PGE_2 , é mediado via receptores específicos de membrana, denominados EP (EP_1 , EP_2 , EP_3 e EP_4), que são acoplados a proteínas-G de membrana, ligadas a diferentes vias de transdução de sinal intracelular. Ligantes de PGE_2 a receptores EP_1 resultam na liberação intracelular de trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG), ligantes de EP_2 e EP_4 ativam o sistema adenilatociclase-AMPC, porém ligantes EP_3 inibem esse sistema (DEY et al., 2006).

Os grupamentos sulfidrílicos, presentes no muco gástrico e em diversas enzimas do sistema xantina oxidase, estimulam a formação de muco e ligam-se e eliminam espécies reativas de oxigênio (EROs) (KUPAI et al., 2010). O seu papel antiulcerogênico já foi demonstrado em diversos modelos de indução de úlcera (etanol, AINEs e estresse), nos quais ocorre depleção destes compostos (BAYIR et al., 2006). O pré-tratamento com bloqueadores de grupamentos sulfidrílicos como o N-ethylmaleimide (NEM) demonstrou potencializar significativamente a indução de úlceras gástricas (HIRAISHI et al., 1994), enquanto que aumentos significativos desses grupamentos promovem a gastroproteção (SENER-MURATOGLU et al., 2001). Estes agentes são também importantes na produção e manutenção do muco gástrico, uma vez que suas subunidades glicoproteicas são unidas entre si por pontes dissulfeto que, uma vez reduzidas, tornam o muco hidrossolúvel (AVILLA et al., 1996).

O óxido nítrico (NO) se apresenta como um importante mediador na defesa da mucosa gástrica (REFFELMANN; KLONER, 2003). É um neurotransmissor inibitório de ação curta no trato gastrointestinal e no sistema nervoso, que é sintetizado a partir do aminoácido L- arginina por meio da ação da óxido nítrico sintase (NOs) (WALLACE, 2008). Desempenha importante função na modulação da defesa da mucosa gástrica, como regulador na secreção de muco, vasodilatador, produzindo aumento do fluxo sanguíneo local, inibidor da migração de neutrófilos e auxiliar no processo de cicatrização da úlcera gástrica (WALLACE, 2008). Na cicatrização da úlcera gástrica, o NO possui ação importante, pois induz aumento da deposição de colágeno pelos fibroblastos, além de estimular a angiogênese (WALLACE, 2000).

O NO exerce amplo espectro de atividades biológicas *in vivo* dependentes, em parte, da guanosina-3',5'-monofosfatocíclica (cGMP) produzida após estimulação do guanilatociclase solúvel (MONCADA et al., 1991), que nas células musculares lisas, essa estimulação resulta em relaxamento desse tecido. O NO pode atuar também diretamente em

canais de potássio dependentes de cálcio, levando a uma hiperpolarização dependente do endotélio, resultando em vasodilatação (BOLOTINA et al., 1994).

Um dos papéis do NO é estimular o fluxo sanguíneo na mucosa. A manutenção do fluxo sanguíneo é de fundamental importância, já que este desempenha importantes funções, tais como suprir a mucosa com oxigênio, nutrientes e hormônios, participar na regulação da saída de ácido e produção de muco, secreção de bicarbonato e remoção dos produtos do tecido, incluindo a retro-difusão de íons hidrogênio. A redução deste está envolvida na formação das lesões na mucosa gástrica causadas por estresse, etanol e AINEs (KAWANO; TSUJI, 1996).

2.4 Tratamento da Úlcera Péptica

O tratamento da úlcera péptica consistiu, por muito tempo, em procedimento cirúrgico, com altas taxas de morbimortalidade. Também bastante utilizada era a terapia com neutralizadores de ácido (CHANG; LEUNG, 2002). Isso mudou quando em 1970 ocorreu o advento dos antagonistas dos receptores histaminérgicos (H_2), como a cimetidina, o que resultou em um grande avanço no tratamento das úlceras e uma redução de até 80% dos casos (YUAN et al., 2006). O grande sucesso dos antagonistas H_2 se deve à ação fundamental da histamina na estimulação da secreção gástrica, o que pode ser observado quando seus antagonistas são utilizados, ocorrendo um bloqueio de quase 80% na produção de ácido gástrico (BEZERRA et al., 2011).

Ainda no final da década de 1980, outro avanço significativo ocorreu com a descoberta dos bloqueadores da bomba de prótons. Os fármacos dessa classe entram na célula parietal a partir do sangue e acumulam-se nos canalículos secretores ácidos da célula parietal, onde são ativados por um processo catalisado por prótons, que resulta na formação de uma sulfenamida tiofílica ou ácido sulfênico (WILLIAMS; POUNDER, 1999). Essa forma ativada reage por meio de ligação covalente com o grupo sulfidril de cisteínas do domínio extracelular da H^+ , K^+ ATPase, as quais são essenciais para a inibição da produção ácida. Esse bloqueio é irreversível e inibe a secreção de ácido gástrico em até 90%. Os principais representantes desta classe de fármacos são omeprazol, lansoprazol e pantoprazol, os quais são considerados atualmente como os anti-secretores mais potentes, pois bloqueiam a etapa final da secreção ácida (STEWART; ACKROYD, 2011).

Apesar dos avanços advindos com esta terapêutica, as chances de reincidência estão entre 65-80%, um ano após a cura, e quase 100% depois de dois anos (FAN et al., 2005).

Além disso, esses fármacos têm mostrado a incidência de efeitos adversos, interações medicamentosas e recorrência após o tratamento. A terapia geralmente é prolongada, estando associada a um alto custo (DEVAULT; TALLEY, 2009). Por essas razões, é constante a busca de novas substâncias antiulcerogênicas efetivas, e que apresentem o mínimo possível de reações adversas.

2.5 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae (do grego *Myrtus* = perfume) é uma família botânica com cerca de 140 gêneros e aproximadamente 5.600 espécies de árvores e arbusto (WILSON et al., 2001) e que possui a América do Sul, África e Austrália como seus dois principais centros de desenvolvimento, embora ocorra em outras regiões do mundo. É considerada uma das mais importantes famílias em diversidade de espécies nos neotrópicos, compreendendo de 10 a 15% da vegetação ao longo da Mata Atlântica e do Cerrado brasileiros (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000).

A família Myrtaceae possui inúmeras espécies com registros de uso como plantas medicinais para o tratamento de diversas afecções, entre elas as do trato gastrointestinal. Classes de substâncias químicas com atividades farmacológicas importantes já foram isoladas de plantas dessa família, tais como flavonoides, monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos e taninos, o que explica as inúmeras atividades terapêuticas associadas às espécies dessa família, muitas delas com estudos já comprovados em testes biológicos, a exemplo: *Eucalyptus citriodora* (AL-SAYED; EL-NAGA, 2015) e *Psidium guajava* (RAJA; SUNDAR, 2012). *Psidium guajava*, a goiaba, e o *Psidium guineense*, o araçá, são reconhecidamente utilizadas como plantas medicinais, para o tratamento dos distúrbios do trato urinário, bem como os do trato gastrointestinal, tais como cólica, diarreia, gastroenterite e gastrite (GUTIERREZ et al., 2008).

2.6 *Psidium guineense* Swartz

A espécie *Psidium guineense* Swartz, popularmente conhecida como araçá, araçá do campo, araçá vedaleiro, araçá mirim, araçá pedra ou araçazinho, é um arbusto de 2 a 2,5 m de altura, pertencente à família Myrtaceae, nativo e de ampla dispersão na América do Sul. Seu tronco possui uma casca lisa, que se descama. Seus frutos lembram a goiaba, embora sejam

mais ácidos e de perfume mais acentuado. Além disso, os frutos são pequenos e globosos, às vezes ovóides, pedunculados, de cor amarela-clara quando maduros e apresentam polpa de cor creme com numerosas sementes (GONZÁLEZ et al., 2005). O araçazeiro apresenta potencial para exploração econômica devido à boa aceitação de seus frutos para consumo *in natura*, pelo elevado teor de vitamina C e minerais, além da alta capacidade de dispersão, frutificação e resistência a doenças e pragas (RASEIRA e RASEIRA, 1994). A propagação do araçazeiro dá-se predominantemente por sementes, uma vez que a propagação vegetativa não tem apresentado resultados satisfatórios (NACHTIGAL; FACHINELLO, 1994).

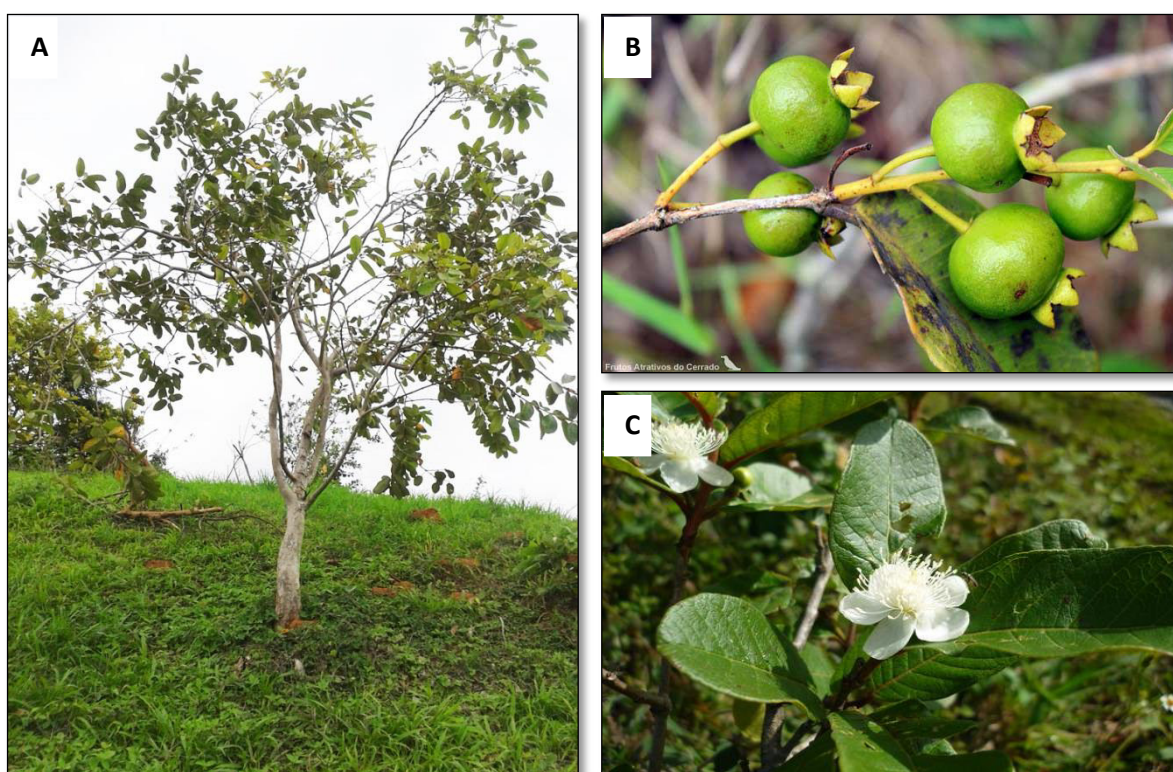


Figura 1. *Psidium guineense* Swartz (A), destaque para seus frutos (B) e flores (C).

Fonte: Google imagens.

Psidium guineense é também utilizada no tratamento de diversas afecções, entre elas, em doenças do trato geniturinário, e em problemas do trato gastrointestinal (CRUZ, 1995). As folhas, cascas e raízes são os órgãos mais utilizados, sendo preparadas na forma de decocção e utilizadas para o tratamento de cólicas intestinais, diarreia, gastroenterite e gastrite (ANESINI E PEREZ, 1993; CRUZ, 1995). Seu uso popular impulsionou estudos sobre o seu potencial farmacológico, já se tendo relatos de sua atividade antimicrobiana (ARAÚJO, 2010; FERNANDES et al., 2011; GONZALÉZ et al., 2005; RODRIGUES et al., 2014), bactericida

e antifúngica (LAPENA et al., 2003), antioxidante (GORDON et al., 2011), hipoglicemiante (BALISTEIRO et al., 2011), no tratamento da gota (THEODULOZ et al., 1988) e ainda estudo de toxicidade no ensaio com *Artemia salina* (SANCHEZ; NEIRA, 2005). Estes autores associam os resultados com a composição fitoquímica da planta, que em sua maioria, é composta por flavonoides e taninos (FERNANDES et al., 2011), e as folhas produzem também rico óleo essencial, composto principalmente por β -bisaboleno e α -pineno (TUCKER et al., 1995).

Diante do exposto, é relevante ressaltar que os produtos naturais se apresentam como uma valiosa fonte de compostos com potencial atividade biológica. Considerando que são escassas as publicações referentes à espécie *Psidium guineense*, e ainda que dados etnofarmacológicos regionais indiquem-na para enfermidades do estômago, com o estudo pré-clínico proposto, esperamos fornecer dados que possam viabilizar a espécie como fonte alternativa para obtenção de novos medicamentos, utilizáveis no controle de úlceras pépticas.

Objetivos

3. Objetivos

3.1 Geral

- Avaliar a atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Psidium guineense* Swart (EAPg) em camundongos.

3.2 Específicos

- Analisar a toxicidade aguda pré-clínica do EAPg;
- Investigar a atividade antiulcerogênica do EAPg em modelos de úlcera aguda;
- Verificar a atividade antissecretória gástrica do EAPg;
- Determinar o efeito do EAPg sobre a produção de muco gástrico;
- Verificar a influência do óxido nítrico e dos grupamentos sulfidrílicos no efeito antiulcerogênico do EAPg;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vivo* do EAPg sobre a produção de compostos sulfidrílicos na mucosa gástrica;
- Investigar a atividade anti-*Helicobacter pylori* do EAPg.

Artigo

Artigo submetido ao Journal of Ethnopharmacology

Atividade Antiulcerogênica do Extrato Aquoso das Folhas de *Psidium guineense* Swartz

Ana Kely Araújo de Sousa¹, Marilene Oliveira da Rocha Borges¹

¹ Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

Endereço para correspondência: Av. dos Portugueses, 1966 - Bacanga, São Luís - MA, 65085-580. Email: morborges@yahoo.com.br

RESUMO

Relevância etnofarmacológica: *Psidium guineense* Swartz (Myrtaceae) é conhecida vulgarmente como araçá e está amplamente distribuída pelo Brasil. Suas cascas e raízes são usadas popularmente no tratamento de distúrbios gastrointestinais tais como cólica, diarreia, gastroenterite e gastrite.

Objetivos do estudo: Investigar a atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) e os possíveis mecanismos de ação envolvidos nesta atividade.

Material e métodos: A atividade antiulcerogênica do EAPg (125, 250 e 500 mg/kg) foi avaliada utilizando modelos de úlcera gástrica induzida por etanol 75% (10 mL/kg) ou indometacina (30 mg/kg), ambos administrados uma hora após os tratamentos. Foram determinados a atividade antissecretória basal pelo método da ligadura pilórica, o envolvimento do óxido nítrico e dos compostos sulfidrílicos, e quantificados os níveis de muco gástrico e compostos sulfidrílicos. A atividade anti-*Helicobacter pylori* foi determinada por ensaio *in vitro* por microdiluição em placa.

Resultados: A administração oral do EAPg (125, 250 e 500 mg/kg) foi efetivo na proteção da mucosa gástrica, reduzindo em 45,0, 88,0 e 93,0% a lesão gástrica induzida por etanol, respectivamente. Além disso, EAPg reduziu em 53,0, 79,0 e 94,0% a úlcera gástrica induzida pela indometacina, respectivamente. EAPg (250 mg/kg) aumentou o pH e reduziu a acidez total, mas não alterou o volume da secreção gástrica, sugerindo uma ausência de efeito antissecretório. A atividade antiulcerogênica do EAPg não está relacionada ao óxido nítrico, mas é dependente da presença de compostos sulfidrílicos. A administração prévia do EAPg aumentou os níveis basais de muco em 89,4% e de compostos sulfidrílicos em 78,9% na mucosa gástrica, confirmando assim sua atividade citoprotetora. O EAPg não se mostrou eficaz contra a bactéria *Helicobacter pylori* apresentando uma concentração inibitória mínima (CIM) de 2 mg/mL.

Conclusão: Os resultados obtidos demonstram que o extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* apresenta atividade antiulcerogênica e potente atividade anti-*Helicobacter pylori*. Além disso, contribuem para um maior conhecimento da espécie e para validar o uso popular desta espécie no tratamento de distúrbios gastrointestinais.

Palavras-chave: *Psidium guineense*; úlcera péptica; antiulcerogênico.

1. INTRODUÇÃO

As úlceras pépticas são lesões na mucosa gástrica e duodenal que podem ser desencadeadas e agravadas pelo estresse, consumo excessivo de álcool, tabagismo, uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e pela presença da bactéria *Helicobacter pylori* no trato gastrointestinal. Atualmente, a grande maioria das pesquisas científicas sobre as úlceras pépticas, direciona-se principalmente para o estudo de *H. pylori* ou aponta esta infecção bacteriana e os AINEs como os maiores responsáveis pela sua incidência (Stewart e Ackroyd, 2011).

A importância clínica e epidemiológica das úlceras pépticas levou ao desenvolvimento de drogas capazes de aliviar os sintomas e até mesmo possibilitar a cura desta doença (Malfertheiner et al., 2009). As opções disponíveis para o tratamento das úlceras gástricas incluem o uso de inibidores da secreção ácida gástrica (histaminérgicos do tipo H₂ ou inibidores da bomba de prótons) ou a combinação de terapia antissecretória com um antibiótico, para erradicação da infecção por *H. pylori*, quando esta se faz presente (Fock et al., 2009). Entretanto, esses fármacos têm mostrado incidência de efeitos adversos, interações medicamentosas e recorrência após o tratamento (Devault e Talley, 2009). Por essas razões, é constante a busca de novas substâncias antiulcerogênicas efetivas, e que apresentem o mínimo possível de reações adversas.

As plantas são algumas das fontes mais atraentes para a descoberta de novos fármacos e têm revelado resultados promissores quando empregadas no tratamento de úlceras gástricas (Schmeda-Hirschmann e Yesilada, 2005). Várias espécies vegetais apresentam registro de uso popular para o tratamento de distúrbios gástricos e atividade antiulcerogênica comprovada cientificamente como é o caso de *Campomanesia xanthocarpa* (Markman et al., 2004), *Plinia edulis* (Ishikawa et al., 2008), *Syzygium aromaticum* (Agbaje, 2008), *Eugenia jambolana* (Chatuverdi et al., 2009), *Syzygium jambos* (Donatini et al., 2009), *Melaleuca bracteata* (Adesanwo et al., 2009), *Eucalyptus citriodora* (Al-Sayed e El-Naga, 2015) e *Psidium guajava* (Uduak et al., 2012), todas pertencentes à família Myrtaceae. Em comum, estas espécies possuem altas concentrações de flavonoides, taninos, monoterpenos, triterpenos e sesquiterpenos, classes de compostos com conhecida atividade protetora e cicatrizante da mucosa gástrica (Jain, 2015).

Psidium guineense Swartz, é um arbusto pertencente da família Myrtaceae e popularmente conhecida como araçá, araçá do campo, araçá vedaleiro, araçá mirim, araçá pedra ou araçazinho, com ampla distribuição geográfica no Brasil (González et al., 2005). *P.*

guineense é utilizada tradicionalmente pela população no tratamento dos distúrbios gastrointestinais, apresentando registros de seu uso para este fim são encontrados no continente Africano e nas Américas do Sul e do Norte (Aguilar et al., 1994; Anesini e Perez, 1993; Berlin e Berlin, 2015). As folhas, cascas e raízes são os órgãos mais utilizados, sendo preparadas na forma de decocção e utilizadas para o tratamento de cólicas intestinais, diarreia, gastroenterite e gastrite (Anesini e Perez, 1993; Cruz, 1995).

Poucos relatos sobre as propriedades farmacológicas de *Psidium guineense* são descritos na literatura, incluindo atividade antimicrobiana (Araújo, 2010; Fernandes et al., 2011; González et al., 2005; Rodrigues et al., 2014), antifúngica (Lapena et al., 2003), antioxidante (Gordon et al., 2011), hipoglicemiante (Balisteiro et al., 2013), no tratamento da gota (Theoduloz et al., 1988). Em todos estes estudos, os autores fazem uma correlação entre atividade observada e a composição fitoquímica da espécie que é composta por flavonoides e taninos. Apesar da sua relevância como planta medicinal, ainda não existe comprovação científica sobre o efeito de *Psidium guineense* sobre o trato gastrointestinal. Nesse sentido, este trabalho investigou o efeito antiulcerogênico do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* a fim de contribuir para a validação desta espécie vegetal como planta medicinal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e preparação do extrato

As folhas de *Psidium guineense* Swartz foram coletadas no município de São José de Ribamar, Maranhão (W:-44.131876; S:-2.555392) durante o mês de setembro de 2013. A planta foi identificada pelo Prof. Dr. Eduardo Bezerra de Almeida Júnior e a exsiccata se encontra depositada no Herbário do Maranhão da Universidade Federal do Maranhão, onde está catalogada sob número 01492.

Para o preparo do extrato as folhas foram secas a temperatura ambiente, trituradas em moinho de facas. Foram pesados 50 g do pó, ao qual foi adicionado 1000 mL de água destilada a 60 °C e submetido a agitação a cada 5 minutos, durante 30 minutos. A solução foi filtrada em filtro de papel e o solvente foi evaporado a 40 °C sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg), com rendimento de 17,5%. A análise fitoquímica do EAPg foi realizada por meio de testes qualitativos para a detecção de metabólitos secundários de acordo com Matos (2009) que revelou a presença majoritária de taninos e flavonoides, metabólitos secundários.

2.2 Animais

Foram utilizados camundongos da variedade Swiss, espécie *Mus musculus*, adultos (30 – 40 g), de ambos os sexos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão. Os animais foram mantidos sob ciclo claro-escuro de 12 horas, em um ambiente com temperatura controlada (21 ± 2 °C), com fornecimento de água filtrada e ração Nuvilab® (Nuvital) *ad libitum*. Os protocolos experimentais foram desenvolvidos de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão, (CEUA) sob o número 16/2015.

2.3 Toxicidade Aguda

O estudo de toxicidade aguda foi realizado com camundongos adultos, de ambos os sexos, de acordo com o protocolo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013). Os animais foram separados em dois grupos ($n = 12/\text{grupo}$; seis machos e seis fêmeas) e mantidos em jejum por 12 horas, com acesso livre a água. O grupo EAPg foi tratado por via oral com o extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg), em dose oral única de 5,0 g/kg e o grupo controle recebeu água destilada (10 mL/kg). Os animais foram observados aos 30, 60, 120, 180 e 240 min após os tratamentos e diariamente, por 14 dias. Sinais clínicos de toxicidade, peso dos animais, consumo de alimento e de água foram registrados diariamente. Ao final desse período os animais foram eutanasiados e a necropsia foi realizada para análise macroscópica do fígado, pulmão, coração, rins e baço (Malone, 1977).

2.4 Atividade Antiulcerogênica

1.4.1 Lesão gástrica induzida por etanol

Os animais após jejum de 18 horas, foram tratados por via oral com água (grupo controle, 10 mL/kg), carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg) ou EAPg (125, 250 e 500 mg/kg). Uma hora após o pré-tratamento, a lesão gástrica foi induzida pela administração oral de etanol a 75% por gavagem (10 mL/kg v.o.) de acordo com a metodologia descrita por Robert et al., 1979. Os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso 1 h após a indução das lesões. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da grande curvatura e

fotografados para determinação da área da lesão gástrica. A área de lesão gástrica foi medida por planimetria (mm²) em relação a área total do corpo gástrico usando o Software ImageJ[®] e expressa como porcentagem de área ulcerada.

2.4.2 Lesão gástrica induzida por indometacina

Os animais após jejum de 18 horas, recebem água (10 mL/kg v.o.), carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg v.o.) ou EAPg (125, 250 e 500 mg/kg v.o.). Uma hora após o pré-tratamento, a lesão gástrica foi induzida por administração subcutânea de indometacina (30 mg/kg) de acordo com a metodologia descrita por Djahanguiri, 1969. Os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso 6 h após a administração de indometacina. Os estômagos foram removidos abertos ao longo da grande curvatura e fotografados para a quantificação das áreas das lesões ulcerativas, conforme descrito no item 2.4.1.

2.5 Avaliação dos fatores de proteção da mucosa gástrica

2.5.1 Avaliação dos parâmetros da secreção gástrica

Os animais após jejum de 18 horas, foram divididos em três grupos: 1) grupo controle, 2) grupo cimetidina e 3) grupo EAPg (250 mg/kg). Em seguida, foram anestesiados com xilazina (10 mg/kg) e cetamina (50mg/kg) por via intraperitoneal (i.p.) e através de uma incisão no abdômen, o estômago foi localizado e o piloro amarrado com linha (Visscher et al., 1954). Imediatamente após a ligadura do piloro, administrou-se por via intraduodenal, água (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg) ou EAPg (250 mg/kg) aos seus respectivos grupos. Após os tratamentos, a parede abdominal foi suturada. Transcorridas quatro horas, os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso, o estômago foi removido, o conteúdo gástrico foi coletado, transferido para tubos de ensaio e submetido à centrifugação a 680 × g, durante 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para uma proveta graduada para aferição do volume. Em seguida, foi determinado o pH da secreção gástrica utilizando-se um pHmetro digital. A acidez total do suco gástrico foi determinada por titulação com NaOH a 0,1N, utilizando-se fenolftaleína como indicador ácido-base. A concentração da acidez total foi expressa como mequiv.[H⁺]/mL/4h

2.5.2 Avaliação dos efeitos do EAPg no conteúdo de muco gástrico

Os animais, em jejum de 18 horas, foram divididos em quatro grupos, os quais receberam seus respectivos tratamentos: 1) grupo Sham (água, 10 mL/kg), 2) grupo controle (água, 10 mL/kg), 3) grupo Carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg) e EAPg (250 mg/kg). Uma hora após o tratamento, administrou-se etanol a 75% (10 mL/kg) aos grupos, exceto ao grupo Sham. Decorrida uma hora, os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso para retirada dos estômagos. O tecido glandular dos estômagos foi removido, pesado e transferido para um tubo contendo Alcian Blue 0,1%, e mantido por duas horas. O corante complexado ao muco foi extraído com cloreto de magnésio (0,5 mol/L); agitando-se por 1 minuto a cada 30 minutos, durante duas horas. Em seguida, 5 mL da solução aquosa resultante foi agitada vigorosamente com 5 mL éter etílico. A emulsão obtida foi centrifugada e a absorbância da fase aquosa lida em comprimento de onda de 598 nm, em espectrofotômetro. Os resultados da leitura foram interpolados em uma curva padrão de Alcian Blue, e expressos em µg de Alcian Blue/mL/g de tecido (Corne et al., 1974).

2.5.3 Avaliação do envolvimento do óxido nítrico na gastroproteção promovida pelo EAPg

Os animais, em jejum de 18 horas, foram divididos em 6 grupos, dos quais três foram pré-tratados por via intraperitoneal com água (10 mL/kg), e três foram pré-tratados com L-NAME (N^ω-nitro-L-arginina metil éster, 70 mg/kg), um inibidor da enzima óxido nítrico sintase (Matsuda e Yoshikawa, 1999). Trinta minutos após o pré-tratamento, aos animais foram administrados por via oral água, carbenoxolona (100 mg/kg) ou EAPg (250 mg/kg). Após 1 h todos os grupos receberam etanol a 75% (10 mL/kg) para indução das lesões gástricas. Decorrida 1 h da administração do etanol, os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso, para a determinação das lesões gástricas.

2.5.3 Avaliação do envolvimento dos grupamentos sulfidrílicos na gastroproteção promovida pelo EAPg

Os animais, em jejum de 18 horas, foram divididos em 6 grupos, dos quais três foram pré-tratados por via intraperitoneal com água (10 mL/kg), e três foram pré-tratados por via

intraperitoneal com NEM (N-etilmaleimida, 10 mg/kg), um inibidor dos grupamentos sulfidrílicos (Matsuda e Yoshikawa, 1999). Trinta minutos após o pré-tratamento, aos animais foram administrados por via oral água, carbenoxolona (100 mg/kg) ou EAPg (250 mg/kg). Após 1 h todos os grupos receberam etanol a 75% (10 mL/kg) para indução das lesões gástricas. Decorrida 1 h da administração do etanol, os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso, para a determinação das lesões gástricas.

2.5.4 Quantificação dos grupamentos sulfidrílicos da mucosa gástrica

Os animais após jejum de 18 horas, foram divididos em quatro grupos, os quais receberam seus respectivos tratamentos: 1) grupo sham (água, 10 mL/kg), 2) grupo controle (água, 10 mL/kg), 3) grupo carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg) e EAPg (250 mg/kg). Uma hora após o tratamento, administrou-se etanol a 75% (10 mL/kg) aos grupos, exceto ao grupo sham. Uma hora depois os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO₂ gasoso para retirada dos estômagos. O tecido glandular do estômago foi pesado e homogeneizado em uma solução de EDTA (0,02 mol/L). Em seguida, retirou-se 400 µL do homogenato e adicionou-se 80 µL de ácido tricloroacético 50 %. A mistura foi então centrifugada a 400 × g, durante 15 minutos, a 4 °C. Após a centrifugação, retirou-se 400 µL do sobrenadante e adicionou-se 800 µL de Tris 0,4 M e 20 µL de DTNB (5,5-ditiobis-ácido 2-nitrobenzóico) a 0,01 M. A mistura foi, em seguida, agitada em vórtex durante 3 minutos e a absorbância lida a 412 nm, utilizando espectrofotômetro. Os resultados foram interpolados em uma curva padrão de glutatona e expressos em µg de grupos –SH/g de tecido (Sedlak e Lindsay, 1988).

2.6 Avaliação da Atividade anti-*Helicobacter pylori*

A bactéria *Helicobacter pylori* ATCC 43504 (resistente a metronidazol, VacA+ e CagA+) foi obtida do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil) e mantida em meio *Brain Heart Infusion* (BHI) com 20% de glicerol a -80° C. A concentração inibitória mínima (CIM) do EAPg foi determinada pela técnica de microdiluição em microplacas, de acordo com a metodologia descrita segundo a norma M100-S15 do 15° suplemento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2005). Os orifícios das microplacas foram preenchidos com 160 µL de caldo Mueller-Hinton (CMH) suplementado com 10% de soro fetal bovino (pH 7,2) mais 20 µL do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg), através de diluições seriadas, obtendo concentrações de 0.015

a 2.0 mg/mL. Ciprofloxacina (0,4 a 0,003 mg/mL) foi usada como droga padrão e água destilada estéril foi utilizada como controle. Em seguida, foi inoculado 1 µL da suspensão de *Helicobacter pylori* contendo 6×10^8 UFC/mL (turbidez equivalente a escala 2 de McFarland) em cada poço. A microplaca foi incubada a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO₂ por 3 dias. Após o período de incubação, 5 µL do conteúdo de cada poço foi repicado em placas contendo ágar-sangue (ágar Columbia + 5% de sangue de carneiro) e mantidos incubados por 3 dias. Em seguida, em cada poço da microplaca foi inoculado 30 µL de solução de resazurina a 0,02% (um indicador de oxidação-redução utilizado para avaliar a viabilidade bacteriana) e as placas foram novamente incubadas por 1 h em microaerofilia para determinação da CIM. A CIM foi definida como a concentração mais baixa da amostra capaz de inibir o crescimento microbiano, ou seja, onde não houve mudança da coloração de azul para rosa (Palomino et al., 2002).

2.7 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão das médias (e.p.m.). A análise dos dados foi realizada utilizando-se a análise de variância (One-way ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls, empregando-se o software GraphPad Prism 5.0[®]. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Toxicidade aguda

O extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* administrado por via oral em dose única (5,0 g/kg) não provocou alterações comportamentais ou mortes nos animais. Nenhuma diferença significativa no consumo de água e ração, ou na massa corporal dos animais foi observada entre os grupos controle e EAPg (5,0 g/kg). Na necrópsia, o exame macroscópico dos órgãos não detectou qualquer alteração ou lesão no fígado, rins, baço, coração e pulmão dos animais.

3.2 Atividade antiulcerogênica do EAPg

No modelo de úlcera gástrica induzida por etanol a 75%, o EAPg mostrou proteção gástrica significativa em todas as doses administradas. No modelo de úlcera gástrica induzida pelo anti-inflamatório não esteroide indometacina, o EAPg também reduziu a área ulcerada em todas as doses testadas. Os resultados de ambos os testes estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Efeito do extrato aquoso das folhas de *P. guineense* (EAPg) em modelos de lesão gástrica aguda induzidas por etanol a 75% e indometacina (30 mg/kg) em camundongos.

Agente Lesivo	Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Área Ulcerada (%)	Inibição (%)
Etanol	Água	--	10,33 ± 1,26	--
	carbenoxolona	100	2,88 ^{***} ± 0,39	72,00
	EAPg	125	5,71 [*] ± 0,99	45,00
		250	1,14 ^{***} ± 0,46	88,00
		500	0,72 ^{***} ± 0,38	93,00
Indometacina	Água	--	25,60 ± 3,06	--
	carbenoxolona	100	12,12 ^{***} ± 1,78	53,00
	EAPg	125	13,55 ^{**} ± 1,89	52,90
		250	5,50 ^{***} ± 1,86	79,00
		500	1,42 ^{***} ± 0,82	94,00

Os resultados são expressos como médias ± erro padrão das médias (n=6). Estatisticamente diferente do grupo controle (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$). ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls.

3.3 Efeito do EAPg sobre parâmetros da secreção gástrica

Os parâmetros avaliados da secreção gástrica de camundongos, submetidos ao tratamento com EAPg por via intraduodenal mostraram que o extrato aumentou o pH em 54,8% e reduziu a acidez total gástrica em 68,43%, porém não alterou o seu volume (580 µL), quando comparado ao grupo controle (700 µL). A cimetidina, reduziu a acidez total em 78,94%, aumentou o pH em 124,67% e diminuiu o volume em 52,4% (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre parâmetros da secreção gástrica de camundongos submetidos a ligadura do piloro.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Volume (μL)	pH (unidades)	Acidez total (mequiv[H ⁺]/mL/4h)
Controle	--	700 ± 1,80	3,08 ± 0,19	0,57 ± 0,82
cimetidina	100 mg/kg	333 ± 1,20*	6,92 ± 0,24*	0,12 ± 0,12*
EAPg	250 mg/kg	580 ± 0,25	4,77 ± 0,28*	0,18 ± 0,54*

Os resultados são expressos como médias ± erro padrão das médias (n=6). Estatisticamente diferente do grupo controle (* $p < 0,05$). ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls.

3.4 Efeitos do EAPg na produção de muco gástrico

O teste de quantificação do muco gástrico mostrou que a administração de etanol promoveu uma diminuição significativa nos níveis de muco no grupo controle ($4,37 \pm 0,54 \mu\text{g}$ de Alcian blue/g de tecido), quando comparado ao grupo sham, que não recebeu etanol ($14,46 \pm 1,49 \mu\text{g}$ de Alcian blue/g de tecido) conforme mostra a Figura 1. O tratamento com EAPg (250 mg/kg) aumentou a produção de muco em 89,47%, quando comparado ao grupo controle ($8,28 \pm 0,77 \mu\text{g}$ de Alcian blue/g de tecido). O grupo tratado com carbenoxolona também apresentou efeito significativo com um aumento de 140,0% do conteúdo de muco gástrico ($10,49 \pm 1,25 \mu\text{g}$ de Alcian blue/g de tecido).

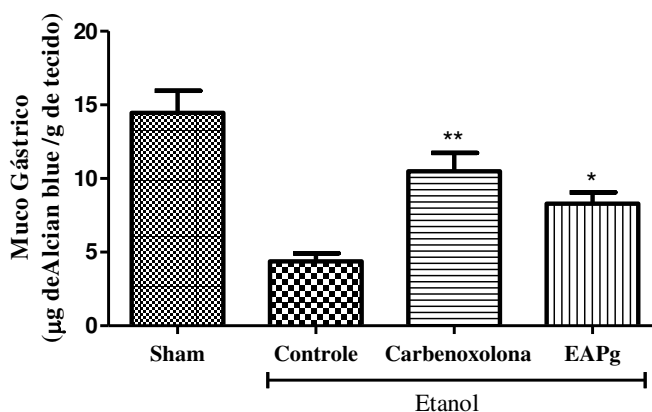


Figura 1. Efeito do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) sobre o muco aderido à mucosa gástrica de camundongos. Os grupos foram tratados com água (10 mL/kg), carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg) e EAPg (250 mg/kg). Os resultados são apresentados como média ± erro padrão das médias (n=6). ANOVA, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Estatisticamente diferente do grupo controle (* $p < 0,05$).

3.5 Papel do óxido nítrico e dos grupamentos sulfidrílicos na atividade antiulcerogênica do EAPg

A Tabela 3 mostra que, quando os camundongos foram pré-tratados com L-NAME, um inibidor da NO-sintase, o EAPg (250 mg/kg) continuou exercendo o seu efeito protetor gástrico. Porém, o mesmo não foi observado em animais pré-tratados com NEM, um inibidor dos grupamentos sulfidrílicos, quando o efeito antiulcerogênico do EAPg não foi observado (Tabela 4).

Tabela 3. Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol, em camundongos pré-tratados com L-NAME (70 mg/kg).

Pré-tratamento (i.p.)	Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Área Ulcerada (%)	Inibição (%)
Controle	Água	--	10,78 ± 1,80	--
	carbenoxolona	100	4,85* ± 1,50	55,00
	EAPg	250	3,45* ± 0,89	68,00
L-NAME (10mg/kg)	Água	--	15,04 [#] ± 3,40	--
	carbenoxolona	100	6,53** ± 1,10	56,00
	EAPg	250	7,26** ± 0,62	52,00

Os resultados são expressos como médias ± erro padrão das médias (n=6). [#]*p* < 0,05 comparado ao grupo controle + água, **p* < 0,05, ***p* < 0,01 e ****p* < 0,001 comparado com L-NAME + água. ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls.

Tabela 4. Efeito do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* (EAPg) sobre lesões gástricas induzidas por etanol, em camundongos pré-tratados com NEM.

Pré-tratamento (i.p.)	Tratamento (v.o.)	Dose (mg/kg)	Área Ulcerada (%)	Inibição (%)
Controle	Água	--	15,24 ± 0,98	--
	carbenoxolona	100	4,20*** ± 1,90	72,00
	EAPg	250	7,40*** ± 1,23	51,00
NEM (10 mg/kg)	Água	--	26,84 [#] ± 2,51	--
	carbenoxolona	100	21,00* ± 1,14	22,00
	EAPg	250	25,00 ± 1,80	7,00

Os resultados são expressos como médias ± erro padrão das médias (n=6). [#]*p* < 0,05 comparado ao grupo controle + água, **p* < 0,05, ***p* < 0,01 e ****p* < 0,001 comparado com NEM + água. ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls.

3.6 Quantificação de grupamentos sulfidrílicos (–SH) na mucosa gástrica

Os animais do grupo Sham, que não receberam etanol, apresentaram $33,17 \pm 3,78 \mu\text{g}$ de –SH/g de tecido. A administração do etanol produziu uma redução neste conteúdo, no qual os animais tratados apenas com água apresentaram uma média de $17,60 \pm 1,65 \mu\text{g}$ de –SH/g de tecido. Os grupos tratados com EAPg (250 mg/kg) e CBX (100 mg/kg) mantiveram o conteúdo de –SH semelhante ao grupo sham, com níveis de $31,49 \pm 4,51 \mu\text{g}$ de –SH/g de tecido para o EAPg e $37,63 \pm 6,04 \mu\text{g}$ de –SH/g de tecido para o CBX (Figura 2).

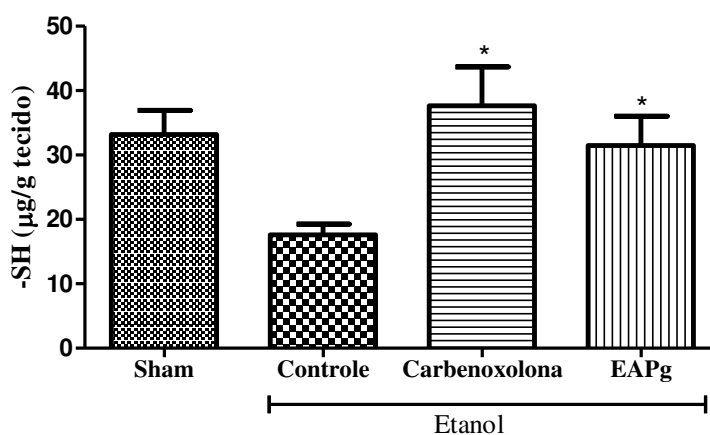


Figura 2. Efeito do tratamento oral com o extrato aquoso de *P. guineense* (EAPg) sobre o conteúdo gástrico de grupamentos sulfidrílicos, em camundongos após a administração de etanol a 75%. Os grupos foram tratados com água (10 mL/kg), carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg) e EAPg (250 mg/kg). Os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão das médias ($n=6$ animais). ANOVA, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Estatisticamente diferente do grupo (* $p < 0,05$).

3.7 Atividade anti-*Helicobacter pylori* do EAPg

A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato aquoso de *P. guineense* (EAPg) foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, com suas concentrações variando de 0,015 a 2,0 mg/mL. Verificou-se que nas condições testadas o EAPg não inibiu o crescimento da cepa de *H. pylori*, apresentando uma CIM de 2,0 mg/mL. O ciprofloxacino, usado como controle positivo, apresentou CIM de 0,03 mg/mL.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a atividade antiulcerogênica e atividade anti-*Helicobacter pylori* do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* em diferentes modelos

experimentais de úlcera gástrica, investigando seus prováveis mecanismos antiulcerogênicos. Este é o primeiro artigo que reporta a atividade antiulcerogênica do extrato aquoso desta espécie.

A análise fitoquímica do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) revelou a presença majoritária de taninos e flavonoides, metabólitos secundários que também foram detectados em outras análises, como a realizada por Fernandes et al (2012) que analisou o extrato metanólico das folhas de *P. guineense*. Uma revisão bibliográfica sobre plantas medicinais que apresentaram atividade antiulcerogênica observou que a maioria dos autores atribuíu a atividade farmacológica à presença de flavonoides e taninos, classes de compostos com conhecida atividade protetora e cicatrizante da mucosa gástrica (Jain, 2015).

Psidium guineense é uma espécie vegetal conhecida tradicionalmente por apresentar várias propriedades terapêuticas, sendo frequentemente utilizada pela população para o tratamento de distúrbios gastrointestinais (Lorenzi e Matos, 2008). Inicialmente antes de realizarmos os testes de atividade antiulcerogênica, verificamos os possíveis efeitos tóxicos do EAPg por meio do teste de toxicidade aguda. Nenhum sinal de toxicidade tais como piloereção, diarreia, sedação, contorções abdominais e alterações na atividade locomotora ou mortes foi registrado após a administração oral do EAPg na dose de 5,0 g/kg, o que sugere uma DL₅₀ (dose letal mediana) acima de 5,0 g/kg.

A atividade antiulcerogênica do EAPg foi avaliada em modelos de úlcera aguda induzida por etanol e pela indometacina. O etanol é um agente que induz úlcera gástrica devido ao aumento do conteúdo de peróxidos lipídicos e radicais livres derivados de oxigênio que causam danos às membranas, morte celular, esfoliação e erosão epitelial (Birdane et al., 2007), além de dissolver o muco gástrico concomitantemente diminuindo o potencial de ação transmucosa, aumentando assim o fluxo de Na⁺ e H⁺ no lúmen e estimulando a secreção de histamina, pepsina e íons H⁺ (Szabo e Brown, 1987). O EAPg nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg diminuiu significativamente de forma dependente de dose, a área ulcerada pelo etanol no estômago, atingindo seu efeito máximo na dose de 250 mg/kg.

Os efeitos tóxicos da indometacina no tecido gástrico são mais graves do que os de outros AINEs (Suleyman et al., 2002), ela inibe ambas as enzimas ciclo-oxigenase (COX-1 e COX-2) e conseqüentemente, inibem a síntese de prostaglandinas (PG), especialmente a PGE₂, o que aumenta a susceptibilidade de lesões na mucosa gástrica (Polat et al., 2011). O EAPg reduziu significativamente a úlcera gástrica induzida pela indometacina com todas as doses testadas, demonstrando assim uma ação citoprotetora eficaz e sugerindo o possível envolvimento de prostaglandinas e/ou a produção de muco em sua atividade.

A hipersecreção de ácido no meio estomacal também é um dos fatores envolvidos na patogênese da úlcera péptica. Devido a isso a terapêutica atual para o tratamento desta condição se baseia principalmente no bloqueio da secreção ácida (Beserra et al., 2011). Neste trabalho, investigamos a influência do EAPg sobre parâmetros da secreção gástrica (volume, pH e acidez total) utilizando o modelo da ligadura do piloro, no qual ocorre o acúmulo de secreção ácida durante um período de quatro horas após a cirurgia (Shay et al., 1945). O tratamento com EAPg na dose de 250 mg/kg aumentou significativamente o pH e diminuiu a acidez total da secreção gástrica, quando comparados ao grupo controle, de modo similar ao efeito exercido pela cimetidina, um fármaco anti-ácido, antagonista dos receptores histaminérgicos H_2 . Porém, o EAPg não apresentou alterações no volume da secreção gástrica.

Considerando que as propriedades ulcerogênicas do etanol e dos AINEs decorrem da diminuição dos mecanismos de defesa da mucosa, tais como a prostaglandinas, muco, fluxo de sangue adequada, óxido nítrico e os compostos sulfidrílicos (Konturek et al., 2005), pode-se sugerir que a atividade antiulcerogênica do EAPg, observada nestes modelos experimentais, pode ser atribuída a estimulação de fatores protetores das mucosas. Por esta razão, para avaliar outros mecanismos de ação associados à atividade antiulcerogênica do EAPg, investigamos a sua influência na produção de muco gástrico, bem como participação do óxido nítrico (NO) e compostos sulfidrílicos ($-SH$) nesta atividade.

O muco cria uma barreira física contra bactérias, ácido e toxinas, além de agir como lubrificante o que reduz os efeitos abrasivos sobre a mucosa gástrica (Wallace, 2007). É também um importante sequestrador de radicais livres, em função da sua composição glicoproteica (Mojzis et al., 2000). Em relação a quantificação de muco, a administração prévia do EAPg aumentou os níveis basais de muco gástrico, confirmando assim a atividade citoprotetora do extrato sobre a mucosa do estomago. Este efeito pode ser devido à ação de taninos e flavonoides, encontrados em concentração maior no extrato, uma vez que estes metabólitos secundários estimulam a síntese de PGE_2 (Alanko, 1999) e inibem a peroxidação lipídica, atuando como antioxidantes (Cuvelier, 1994).

O óxido nítrico (NO) se apresenta como um importante mediador na defesa da mucosa gástrica (Reffellmann e Kloner, 2003). É um neurotransmissor inibitório de ação curta no trato gastrointestinal e no sistema nervoso, que é sintetizado a partir do aminoácido L-arginina por meio da ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) (WALLACE, 2008). Desempenha importante função na modulação da defesa da mucosa gástrica, como regulador na secreção de muco, vasodilatador, produzindo aumento do fluxo sanguíneo local, inibidor

da migração de neutrófilos e auxiliar no processo de cicatrização da úlcera gástrica (WALLACE, 2008). O envolvimento do NO na atividade do EAPg foi avaliado pelo pré-tratamento dos animais com L-NAME, um inibidor da óxido nítrico sintase. Neste teste concluímos que o óxido nítrico não participa do mecanismo de ação antiulcerogênico do EAPg, porque mesmo na ausência de NO, o extrato manteve sua atividade antiulcerogênica.

Os compostos sulfidrílicos presentes no muco gástrico e em diversas enzimas do sistema xantinaoxidase, estimulam a formação de muco e ligam-se e eliminam espécies reativas de oxigênio (EROs) (KUPAI et al., 2010) e seu efeito gastroprotetor já foi demonstrado em diversos modelos de indução de úlcera (etanol, AINEs e estresse), nos quais ocorre depleção destes compostos (BAYIR et al., 2006). Quando investigada a participação destes compostos, os resultados mostraram que a atividade antiulcerogênica do EAPg na dose de 250 mg/kg foi reduzida em animais pré-tratados com NEM (um inibidor dos compostos sulfidrílicos), sugerindo que a atividade antiulcerogênica do EAPg é dependente da presença/produção de compostos sulfidrílicos. A quantificação destes compostos sulfidrílicos foi realizada com o intuito de confirmar esta dependência e revelou que o tratamento com o EAPg na dose de 250 mg/kg, aumentou significativamente os níveis basais dos compostos sulfidrílicos, confirmando assim seu envolvimento na atividade antiulcerogênica observada.

Considerando o envolvimento da bactéria *Helicobacter pylori* na etiologia das úlceras gástricas (Marshall e Warren, 1984) e o comprovado efeito de cura da úlcera quando a mesma é eliminada do trato gastrointestinal (Testerman e Morris, 2014), nós avaliamos a atividade anti-*Helicobacter pylori* do EAPg. Em estudo de Castillo-Juárez et al. (2009) foi confirmada atividade anti-*Helicobacter pylori* *in vitro* para diversos extratos de plantas utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de distúrbios gastrointestinais; e atribuída forte ação antibacteriana para extratos aquosos com valores de concentração inibitória mínima (CIM) inferiores a 250 µg/mL. Ainda, segundo estes mesmos autores, os extratos aquosos com valores de CIM >1000 µg/mL são considerados como de atividade antibacteriana nula. Em nosso estudo, o EAPg não apresentou atividade antibacteriana, uma vez que sua CIM foi de 2,0 mg/mL.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que o extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* apresenta atividade antiulcerogênica. Além disso, contribuem para um maior conhecimento da espécie e para validar o uso desta espécie no tratamento de distúrbios gastrointestinais. Outros testes de investigação do mecanismo de ação antiulcerogênico como dosagem de óxido nítrico, avaliação da secreção gástrica estimulada, avaliação do

envolvimento de enzimas antioxidantes, poderão ser realizados para melhor caracterizar a atividade do extrato.

Referências

Adesanwo, K. J., Shode, F. O., Aiyelaagbe, O. O., Rabiou, O. O., Oyede, R. T., Oluwole, F. S., 2009. Antisecretory and antiulcerogenic activities of the stem bark extract of *Melaleuca bracteata* and isolation of principles. *Journal of Medicinal Plants Research*, v.3(10), 822-824.

Agbaje, E. O, 2008. Gastrointestinal effects of *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry (Myrtaceae) in animal models. *Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine*, 137-141.

Al-sayed, E., El-naga, R. N, 2015. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. *Phytomedicine*, 5-15.

Alanko, J., Riutta, A., Holm, P., Mucha, I., Vapaatalo, H., Metsä-ketela T, 1999. Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidant/prooxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 14 (1),193-201.

Anvisa. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília, jan. 2013.

Araújo, E. R. S. Avaliação da biocompatibilidade e determinação da atividade antimicrobiana de *Psidium guineense* Swartz. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Univeridade Federal de Pernambuco, 2010.

Balisteiro, D. M., Alezandro, M. R., Genovese, M. I., 2012. Characterization and effect of clarified araçá (*Psidium guineense* Sw.) juice on postprandial glycemia in healthy subjects. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 66-74.

Bayir, Y., Odabasoglu, F., Cakir, A., Aslan, A., Suleyman, H., Halici, M., Kazaz, C, 2006. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 13 (8), 584-590.

Berlin, E. A., Berlin, B., 1996 Medical ethnobiology of the highland Maya of Chiapas, Mexico: the gastrointestinal diseases. Princeton, New Jersey: Princeton University Press xxix, 557p.

Beserra, A. M. S. S., Calegari, P. I., Souza, M. C., Santos, R. A. N., Lima, J. C. S., Silva, R. M., Balogun, S. O., Martins, D. T. O, 2011. Gastroprotective and Ulcer-Healing Mechanisms of Ellagic Acid in Experimental Rat. *Food Chemistry*, 6957-6965.

Birdane, F. M., Cemek, M., Birdane, Y. O., Gulçin, I., Buyukokuroglu, M. E, 2007. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 13 (1), 607-611.

Campos, L. Z. O. Etnobotânica do gênero *Psidium* L. (Myrtaceae) no Cerrado brasileiro. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., Romero, I., 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 122, 402–405.

Chaturvedi, A., Bhawani, G., Agarwal, P. K., Goel, S., Singh, A., Goel, R. K., 2009. Ulcer healing properties of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* seed in diabetic rats: study on gastric mucosal defensive factors. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 53 (1), 16-24.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 15th Informational supplement M100-S15. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 177p, 2005.

Corne, S. J., Morrissey, S. M., Woods, R. J., 1974. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *Journal of Physiology*. 116 -117.

Cruz, G. L. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil*. 5ª Edição, Bertrand Brasil, 1995.

Devault, K. R., Talley, N. J., 2009. Insights into the future of gastric acid suppression. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 524-532.

Djahanguiri, B, 1969. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 265.

Donatini, R. S., Ishikawa, T., Barros, S. B. M., Bacchi, E. M, 2009. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 89-94.

Fernandes, T. G., Mesquita, A. R. C., Randau, K. P., Franchitti, A. A., Ximenes, E. A., 2012. *In Vitro* Synergistic Effect of *Psidium guineense* (Swartz) in Combination with Antimicrobial Agents against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *The Scientific World Journal*, 1-7.

Fock, K. M. et al. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection, 2009. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 1587–1600, 2009.

Garro, M. F., Ibáñez, A. G., Veja, A. E., Sosa, A. C., Pelzer, L., Saad, J. R., Maria, A. O, 2015. Gastroprotective effects and antimicrobial activity of *Lithraea molleoides* and isolated compounds against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1-26.

González, A. M. N., González, M. B. R., Pinto, N. L. S., 2005. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*.

Gordon, A., Jungfer, E., Silva, B. A., Maia, J. G. S., Friedhelm, M, 2011. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(14):7688-99.

Ishikawa, T., Donatini, R. S., Diazb, I. E. C., Yoshida, M., Bacchi, E. M., Kato, E. T. M., 2008. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.118, n.3, 527-529.

Jain, P., 2015. Secondary metabolites for antiulcer activity. *Natural Product Research*, 1-17.

Lapenna, E., Ramírez, G. M., Díaz, L., Aguillón, K., Marín, H., 2003. Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional venezolana. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 34, 6-9.

Kupai, K., Szues, G., Cseh, S., Hajdu, I., Csonka, C., 2010. Matrix metalloproteinase activity assays: importance of zymography. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 205-209.

Konturek, S. J., Konturek, P. C., Brzozowski, T., Konturek, J. W., Pawlik, W. W., 2005. Form nerves and hormones to bacteria in the stomach: nobel prize for achievements in gastrology during last century. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, 507-530.

Malfertheiner, P., Chan, F. K., Mccoll, K. E., 2009. Peptic ulcer disease. *Lancet*, 1449-1461.

Malone, M. H., 1977. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: H. Wagner and P. Woulff (Eds.). *New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*, Springer Verlag, Berlin, 23-53.

Markman, B. E. O., Bacchi, E. M., Kato, E. T. M., 2004. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 55-57.

Marshall, B. J., Warren, J. R., 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1311-5.

Matos, F. J. A. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 3ª.Edição, UFC, Fortaleza, 2009.

Matsuda H, Li Y, Yoshikawa M (1999) Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls and prostaglandins in gastroprotection by mormodin, an

oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. Life Sciences 65: 27–32.

Polat, B., Suleyman, H., Alp, H. H., 2010. Adaptation of rat gastric tissue against indomethacin toxicity. Chemico-Biological Interactions 186, 82–89.

Reffellmann, T., Kloner, R. A., 2003. Therapeutic potential of phosphodiesterase 5 inhibition for cardiovascular disease. Circulation, 239- 244.

Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C., Hauchar, A. J., 1979. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. Gastroenterology 77, 433-443.

Rodrigues, G. C., Ferreira, R. B., Mendes, C. S. O., Reis, R. J., Valerio, H. M., Brandi, I. V., Oliveira, D. A., 2014. Antibacterial activity of tannins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). Journal of Medicinal Plants Research, 1095-1100.

Schmeda-hirschmann, G., Yesilada, E., 2005. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. Journal of Ethnopharmacology, 61-66.

Sedlak, J., Lindsay, R. H., 1988. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. Analytical Biochemistry, 192–205.

Shay H., Komarov, S. A, Fels S. S., Meranze, D., Gruenstein, M., Siplet, H., 1945. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology 5, 43–61.

Stewart, D. J., Ackroyd, R., 2011. Peptic ulcers and their complications. Oesophagus and stomach, 568-574.

Suleyman, H., Akcay, F., Altinkaynak, K., 2002. The effect of nimesulide on the indomethacin- and ethanol-induced gastric ulcer in rats, Pharmacological Research 45, 155–158

Szabo, S., Brown, A., 1987. Prevention of ethanol-induced vascular injury and gastric mucosal lesions by sucralfate and its components: possible role of endogenous sulphydryls. *Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine* 4, 493–497.

Testerman, T. L., Morris, J., 2014. Beyond the stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World Journal Gastroenterology*.

Theoduloz, C., Franco, L., Ferro, E., Rarschmann, G. S., 1988. Xanthine oxidase inhibitory activity of paraguayan myrtaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 179-183.

Uduak, E. U., Timbuak, J. A., Musa, S. A., Ikyembe, D. T., Abdurrashid, S., Hamman, W. O., 2012. Ulceroprotective Effect of Methanol Extract of *Psidium guajava* Leaves on Ethanol Induced Gastric Ulcer in Adult Wistar Rats. *Asian Journal of Medical Sciences* 4, 75-78.

Visscher, F. E., Seay, P. H., Tazelaar, A. P. JR., Veldkamp, W., Brook, M. J. V., 1954. Pharmacology of pamine bromide. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, 188-204.

Wallace, J. L., 2008. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? *Physiological Reviews*, 1547-1565.

Wu, T., He, M., Zang, X., Zhou, Y., 2013. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E.coli* by membrane interaction effect. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2751-2756.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo nos permite concluir que o extrato aquoso de *P. guineense* apresentou efeito antiulcerogênico, com preservação da mucosa gástrica. Os resultados obtidos demonstraram que a atividade antiulcerogênica do EAPg é modulada por um aumento do muco gástrico, além da dependência dos compostos sulfidrílicos, importantes antioxidantes *in vivo* e essenciais para manutenção da camada de muco. Dessa forma, *Psidium guineense*, mostrou ter eficaz atividade antiulcerogênica sendo um alvo promissor para pesquisa de um novo fármaco para o tratamento da úlcera gástrica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBAJE, E. O. Gastrointestinal effects of *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry (Myrtaceae) in animal models. **Nigerian Quarterly Journal of Hospital Medicine**, 137-141, 2008.
- ADESANWO, K. J., SHODE, F. O., AIYELAAGBE, O. O., RABIU, O. O., OYEDE, R. T., OLUWOLE, F. S. Antisecretory and antiulcerogenic activities of the stem bark extract of *Melaleuca bracteata* and isolation of principles. **Journal of Medicinal Plants Research**, 822-824, 2009.
- ALANKO, J., RIUTTA, A., HOLM, P., MUCHA, I., VAPAATALO, H., METSA-KETELA T. Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidanti/prooxidant properties. **Free Radical Biology and Medicine**, 193-201, 1999.
- AL-SAYED, E., EL-NAGA, R. N. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. **Phytomedicine**, 5-15, 2015.
- ANVISA. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Brasília, jan. 2013.
- ARAÚJO, E. R. S. Avaliação da biocompatibilidade e determinação da atividade antimicrobiana de *Psidium guineense* Swartz. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Univeridade Federal de Pernambuco, 2010.
- ARRIETA, J., BENITEZ, J., FLORES, E., CASTILLO, C., NAVARRETE, A. Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterygium adstringens*; roles of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin- sensitive neurons. **Planta Médica**, 905- 909, 2003.
- AVILA, J., LA LASTRA, C. A., MARTIN, M. J., MOTILVA, V., LUQUE, I., DELGADO, D., ESTEBAN, J., HERRERIAS, J. Role of endogenous sulphhydryls and neutrophilin filtration in the path ogenesis of gastric mucosal injury induced by piroxicam in rats. **Inflammation Research**, 83-88, 1996.

BALISTEIRO, D. M., ALEZANDRO, M. R., GENOVESE, M. I. Characterization and effect of clarified araçá (*Psidium guineense* Sw.) juice on postprandial glycemia in healthy subjects. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 66-74, 2012.

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

BESERRA, A. M. S. S., CALEGARI, P. I., SOUZA, M. C., SANTOS, R. A. N., LIMA, J. C. S., SILVA, R. M., BALOGUN, S. O., MARTINS, D. T. O. Gastroprotective and Ulcer-Healing Mechanisms of Ellagic Acid in Experimental Rat. **Food Chemistry**, 6957-6965, 2011.

BIRDANE, F. M., CEMEK, M., BIRDANE, Y. O., GULÇIN, I., BUYUKOKUROGLU, M. E. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **World Journal of Gastroenterology**, 607-611, 2007.

BOLOTINA, V. M., NAJIBI, S., PALACINO, J. J., PAGANO, P. J., COHEN, R. A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, 850-853, 1994.

BORRELLI, F., IZZO A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, 14: 581-591, 2000.

CAMPOS, L. Z. O. Etnobotânica do gênero *Psidium* L. (Myrtaceae) no Cerrado brasileiro. Dissertação (Mestrado em Botânica) - **Universidade de Brasília**, Brasília, 2011.

CHATURVEDI, A., BHAWANI, G., AGARWAL, P. K., GOEL, S., SINGH, A., GOEL, R. K. Ulcer healing properties of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* seed in diabetic rats: study on gastric mucosal defensive factors. **Indian Jornal of Physiology and Pharmacology**, 16-24, 2009.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 15th Informational supplement M100-S15**. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 177p, 2005.

CORNE, S. J., MORRISSEY, S. M., WOODS, R. J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **Journal of Physiology**. 116 -117, 1974.

CRUZ, G. L. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. 5ª Edição, Bertrand Brasil, 1995.

DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, 265, 1969.

DEVAULT, K. R., TALLEY, N. J. Insights into the future of gastric acid suppression. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, 524-532, 2009.

EMBRAPA. Roberto Fontes Vieira et al. (editores). **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília, Distrito Federal: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 42-57, 2006.

ESPINOSA, J. F. P., GARCÍA, O. A., VALENCIA, G. G., LINARES, E., BYE, R., ROMERO, I. Evidence of the anti-*Helicobacter pylori*, gastroprotective and anti-inflammatory activities of *Cuphea aequipetala* infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, 990-998, 2014.

FARZAEI, M. H., ABDOLLAHI, M., RAHIMI, R. Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. **World Journal Gastroenterology**, 6499-6517, 2015.

FERNANDES, T. G., MESQUITA, A. R. C., RANDAU, K. P., FRANCHITTI, A. A., XIMENES, E. A. In Vitro Synergistic Effect of *Psidium guineense* (Swartz) in Combination with Antimicrobial Agents against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **The Scientific World Journal**, 1-7, 2012.

FOCK, K. M. et al. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 1587–1600, 2009.

GARRO, M. F., IBÁÑEZ, A. G., VEJA, A. E., SOSA, A. C., PELZER, L., SAAD, J. R., MARIA, A. O. Gastroprotective effects and antimicrobial activity of *Lithraea molleoides* and isolated compounds against *Helicobacter pylori*. **Journal of Ethnopharmacology**, 1-26, 2015.

GONZÁLEZ, A. M. N., GONZÁLEZ, M. B. R., PINTO, N. L. S. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 2005.

GORDON, A., JUNGFER, E., SILVA, B. A., MAIA, J. G. S., FRIEDHELM, M. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. **Journal of agricultural and food chemistry**, 2011.

GUERRA, M. P., NODARI, P. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Simões et al., orgs. 5ª ed. Rev. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora de UFRGS/editor da UFSC, p 13-28, 2004.

GUPTA, M. B., BRANS, Y. W. Gastric retention in neonates. **Pediatrics**, 26-29, 1978.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, 1-93, 2006.

HIRAISHI, H., TERANO, A., OTA, S., MUTOH, H., SUGIMOTO, T., HARADA, T., RAZANDI, M., IVEY, K. J. Protection of cultured rat gastric cells against oxidant-induced damage by exogenous glutathione. **Gastroenterology**, 1199-1207, 1994.

HIRUMA-LIMA, C.A. et al. Gastroprotective effect of aparisth man, a diterpene isolated from *Aparisthmium cordatum*, on experimental gastric ulcer models in rats and mice. **Phytomedicine**, 94-100, 2001.

ISHIKAWA, T., DONATINI, R. S., DIAZB, I. E. C., YOSHIDA, M., BACCHI, E. M., KATO, E. T. M. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 527-529, 2008.

JAIN, P. Secondary metabolites for antiulcer activity. **Natural Product Research**, 1-17, 2015.

LAINE, L., TAKEUCHI, K., TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, 41-60, 2008.

LAU, J. Y., SUNG, J., HILL, C., HENDERSON, C., HOWDEN, C.W., METZ, D. C. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: Incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**, 102–113, 2011.

LI, Y., OHIZUMI, Y. Search for constituents with neurotrophic factor potentiating activity from the medicinal plants of Paraguay and Thailand. **Yakugaku Zasshi**, 417-424, 2004.

LUTTERODT, G. D. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extracts in the treatment of acute diarrhoeal disease. **Journal of Ethnopharmacology**, 235–247, 1989.

KANGWAN, N., PARK, J. M., KIM, E. H., HAHM, K. B. Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression. **World Journal Gastroenterology**, 40-47, 2014.

KAWANO, S., MURAKAMI, M., SAITA, H., TSUJI, S. Effect of lansoprazole in mono-, dual-, or triple therapy on *Helicobacter pylori* eradication. **Journal of Gastroenterology**, 41-43, 1996.

KENNEDY, G. L., FERENZ, R. L., BURGESS, B. A. Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD50. **Journal of Applied Toxicology**, 145-148, 1986.

KOEPPEN, B. M., STANTON, B. A. **Berne & Levy Fisiologia**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 26-30, p. 491-543.

KUPAI, K., SZUES, G., CSEH, S., HAJDU, I., CSONKA, C. Matrix metalloproteinase activity assays: importance of zymography. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, 205-209, 2010.

S.J. KONTUREK, S. J., KONTUREK, P. C., BRZOZOWSKI, T., KONTUREK, J. W., PAWLIK, W. W. From nerves and hormones to bacteria in the stomach: nobel prize for achievements in gastrology during last century. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, p. 507-530, 2005.

MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: H. Wagner and P. Woulff (Eds.), **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity**, Springer Verlag, Berlin, 23-53, 1977.

MADALOSSO, R. C., OLIVEIRA, G. C., MARTINS, M. T., VIEIRA, A. E. D., BARBOSA, J., CALIARI, M. V., CASTILHO, R. O., TAGLIATI, C. A. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. as a gastroprotective agente. **Journal of Ethnopharmacology**, 772-779, 2012.

MALFERTHEINER, P., CHAN, F. K., MCCOLL, K. E. Peptic ulcer disease. **Lancet**, 1449-1461, 2009.

MARKMAN, B. E. O., BACCHI, E. M., KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of Ethnopharmacology**, 55-57, 2004.

MARSHALL, B. J., WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, 1311-5, 1984.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3ª.Edição, UFC, Fortaleza, 2009.

MATSUDA H, LI Y, YOSHIKAWA M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls and prostaglandins in gastroprotection by mormodin, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. *Life Sciences* 65: 27–32, 1999.

MONCADA, S., PALMER, R. M., HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, 109-142, 1991.

MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **Japan Journal Pharmacology**, 495-505, 1991.

MORTON, J. F. Brazilian Guava. In: **Fruits of warm climates**. Miami, 365–367, 1987.

NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C. Efeito da época de coleta das estacas de araçazeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994. Salvador. Resumos..., Salvador: SBF, 1994.

PANDAY, K., GONA, A., HUMPHREY, M. B. Medication-induced osteoporosis: screening and treatment strategies. **Therapeutic Advances Musculoskeletal Disease**, 185–202, 2014.

PRADO, L. C. S., SILVA, D. B., SILVA, G. L. O., HIRAKI, K. R. N., CANABRAVA, H. A. N., SILVA, L. B. B. S. The Gastroprotective Effects of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) Leaf

Extract: The Possible Role of Condensed Tannins. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 722-730, 2014.

OECD/OCDE. 420. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. **Oecd Guideline For Testing Of Chemicals**. Adopted: 17th December, 2001.

RASEIRA, A.; RASEIRA, M. C. B. “Ya - cy”, Cultivar de araçazeiro lançada pela EMBRAPA/ CPACT. Hirti Sul, Pelotas, v.3, n.1, p.37-39, 1994.

REFFELMANN, T., KLONER, R. A. Therapeutic potential of phosphodiesterase 5 inhibition for cardiovascular disease. **Circulation**, 239- 244, 2003.

RICKARD, J. Surgery for Peptic Ulcer Disease in sub-Saharan Africa: Systematic Review of Published Data. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, 1-11, 2015.

ROBERT, A. et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats: Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterology**, 433-443, 1979.

RODRIGUES, G. C., FERREIRA, R. B., MENDES, C. S. O., REIS, R. J., VALERIO, H. M., BRANDI, I. V., OLIVEIRA, D. A. Antibacterial activity of tannins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, 1095-1100, 2014.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, 61-66, 2005.

SENER-MURATOGLU, G., PASKALOGLU, K., ARBAK, S., HURDAG, C., YANOGLU-DULGER, G. Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. **Disgetive Diseases and Sciences**, 318-330, 2001.

SHEEN, E., TRIADAFILOPOULOS, G. Adverse Effects of Long-Term Proton Pump Inhibitor Therapy. **Disgetive Diseases and Sciences**, 931-950, 2011.

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

SHUBERT, M. L. Functional anatomy and physiology of gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, 479-485, 2015.

SILVA, C. M., PETRY, C. M., BERTÉ, T. E., BECKER, R. G., ZANATTA, F., MONACHE, D. F., CECHINEL FILHO, V., ANDRADE, S. F. Phytochemical analyses and gastroprotective effects of *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) on experimental gastric ulcers. **Natural Products Communications**, 911-916, 2009.

SOSTRES, C., GARGALLO, C. J., LANAS, A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage. **Arthritis Research and Therapy**, 121–132, 2010.

STEWART, D. J., ACKROYD, R. Peptic ulcers and their complications. **Oesophagus and stomach**, 568-574, 2011.

STICKNEY, J. C., NORTHUP, D. W. Effect of gastric emptying upon propulsive motility of small intestine of rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 1959.

SUNG, J. J. Y., KUIPERS, E. J., EL-SERAG, H. B. Systematic review: The global incidence and prevalence of peptic ulcer disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, 938-946, 2009.

TADIC, V. M., DOBRIC, S., MARKOVIC G. M., DORDEVIC, S. M., ARSIC, I. A., MENKOVIC, N. R., STEVIC, T. Anti-inflammatory, gastroprotective, free radical scavenging, and antimicrobial activities of *Hawthorn berries* ethanol extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 7700-7709, 2008.

TAKAYAMA, C. TAKAYAMA, C., FARIA, F. M., ALMEIDA, A. C., VALIM, D. A. A., REHEN, C. S., DUNDER, R. J., SOCCA, E. A., MANZO, L. P., ROZZA, A. L., SALVADOR, M. J., PELLIZZON, C. H., HIRUMA-LIMA, C. A., LUIZ-FERREIRA, A., SOUZA-BRITO, A. R. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 147–155, 2011.

TAKEUCHI, K., TANAKA, A., HAYASHI, Y., KUBO, Y. Functional mechanism underlying COX-2 expression following administration of indomethacin in rat stomachs: importance of gastric hypermotility. **Digestive Diseases and Sciences**, 180-187, 2004.

THEODULOZ, C., FRANCO, L., FERRO, E., RARSCHMANN, G. S. Xanthine oxidase inhibitory activity of paraguayan myrtaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, 179-183, 1988.

TUCKER, A. O., MACIARELLO, M. J., LANDRUM, L. R. Volatile Leaf Oils of American Myrtaceae. III. *Psidium cattleianum* Sabine, *P. friedrichsthalianum* (Berg) Niedenzu, *P. guajava* L., *P. guineense* Sw., and *P. sartorianum* (Berg) Niedenzu. **Journal of Essential Oil Research**, 1995.

SATOH, H., AMAGASE, K., TAKEUCHI, K. Exacerbation of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal lesions by antisecretory drugs in rats: the role of intestinal motility. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 270-277, 2012.

SEDLAK, J., LINDSAY, R. H. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, 192-205, 1988.

USTUN, O., OZÇELIK, B., AKYON, Y., ABBASOGLU, U. Flavonoids with anti-*Helicobacter pylori* activity from *Cistus laurifolius* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, 457-461, 2006.

VASCONCELOS, P. C. P., ANDREO, M. A., VILEGAS, W., HIRUMA-LIMA, C. A., PELLIZZON, C. H. Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavanoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. **Journal of Ethnopharmacology**, 146-153, 2010.

VISSCHER, F. E., SEAY, P. H., TAZELAAR, A. P. JR., VELDKAMP, W., BROOK, M. J. V. Pharmacology of pamine bromide. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, 188-204, 1954.

WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? **Physiological Reviews**, 1547-1565, 2008.

WANG, L., ZHOU, Y., PENG, J., ZHANG, Z., JIANG, D. J., LI, Y. J. Role of endogenous nitric oxide synthase inhibitor in gastric mucosal injury. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, 97-104, 2008.

WU, T., HE, M., ZANG, X., ZHOU, Y. et al. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E.coli* by membrane interaction effect. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2751-2756, 2013.

YUAN, Y., PADOL, I. T., HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology**, 80-89, 2006.

ANEXO

