



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

ESTUDO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SUMO E
EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DO FRUTO DE *Plinia*
***peruviana* (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE)**

Recife

2022

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

**ESTUDO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SUMO E
EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DO FRUTO DE *Plinia
peruviana* (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE)**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção final do título de mestre (a) em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

Co-orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes

Recife

2022

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

A347e Alcântara, Isabel Sousa
Estudo da atividade gastroprotetora do sumo e extrato hidroetanólico das cascas do fruto de *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE)/ Isabel Sousa Alcântara. – 2022.
83 f. : il.

Orientadora: Almir Gonçalves Wanderley.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2022.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Toxicidade aguda. 2. Gastroproteção. 3. *Plinia peruviana*. 4. Ácido gálico. I. Wanderley, Almir Gonçalves (orientador). II. Título.

617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 - 237)

ISABEL SOUSA ALCÂNTARA

**ESTUDO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SUMO E
EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DO FRUTO DE *Plinia*
peruviana (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE)**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção final do título de mestra em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos

APROVADA EM: 04/02/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley (Orientador/Membro interno)

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes (Co-orientador/Membro externo)

Profa. Dra. Héliida Maria de Lima Maranhão (Membro externo)

Profa. Dra. Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins (Membro externo)

*Dedico esse trabalho a minha mãe
(Francisca) e ao meu pai (Ézio).*

AGRADECIMENTOS

Aqui eu deixo meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a concretização desse trabalho:

Primeiramente agradeço à Deus, pela força diária, minha fé nele me fez vencer todos os obstáculos enfrentados até aqui. Toda honra e toda glória a ti senhor!

A minha mãe (Francisca) e o meu pai (Ézio), me faltam palavras para descrever o que vocês representam na minha vida tudo o que eu sou e o que sei vêm de vocês, obrigada por me ensinarem os valores da vida, pela educação, amor e carinho que sempre me destes! A minha irmã Iris por todos os momentos de alegria compartilhados. Amo vocês!

Aos meus avós: João e Alboina pelo cuidado, amor e incentivo. As minhas tias e tios: Liromar, Rita, Carminha, Ismênia, Expedita, Neide, Vanda, Zé, Luana, Clézio por todo o apoio e incentivo. Aos meus primos: André, Heitor, Nicolas, Matheus, Manoel e Manoela. Amo todos vocês!

Ao meu Orientador Dr. Almir Gonçalves Wanderley, pela oportunidade, e por todos os ensinamentos que a mim foi transmitido. Gratidão!

Ao meu Co-orientador Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes, pelo apoio, compreensão, amizade e ensinamentos! Gratidão!

A Anita Oliveira minha para sempre “mãe-científica”, uma pessoa que tenho um enorme carinho, respeito e admiração! Obrigada por tudo, minha querida!

A Samara Brito, um grande exemplo de pesquisadora que tive o prazer de conhecer durante o mestrado! Obrigada por tudo!

A Renata Torres, Lucas Yure e Débora Muniz meu querido “jaboticaba team” por tornar esse trabalho possível de ser realizado! Grandes amigos e profissionais, que levarei para toda a vida! Amo vocês!

A Rayane Oliveira, Lucas Batista, Roger Henrique, Gabrielly Lima, Andreza Guedes, Luiz Jardelino e Datiane Morais, por todos os momentos, companheirismo e aprendizados compartilhados! Grandes amigos que levarei para toda a vida, contem sempre comigo!

A toda a família “LFQM” que me acolheu durante o mestrado aos queridos: Eduardo, Tarcisio, Aparecida, João Eudes, Cecília, Júnior, Isis, Gabriel, Lindaiane, Bruno e Neto. Estarei sempre à disposição para ajudá-los. Gratidão amigos!

As minhas amigas de Recife: Karine e Grazi pelo companheirismo construído durante o mestrado!

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas!

Aos meus amigos de graduação pelos momentos agradáveis: Jessica Tayane, Mariana Cruz e Leonardo Eric.

As minhas amigas Sanadia Alexandre, Isadora Gomes, Samily Primo, Rayane Sales, Liviane Leandro e Débora Menezes pelo carinho e amizade!

A Rilvan e Nerilin do PPGCF pela ajuda!

Ao senhor Ronaldo e Tiago Ribeiro pela ajuda durante a coleta! Gratidão!

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

Ao Laboratório de Botânica e Herbário Caririense Dárdano de Andrade e Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA) pela identificação da espécie.

Ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Molecular, coordenado pelo Prof. Dr. Henrique.
Ao Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, coordenado pelo Prof. Dr. José Galberto.
Ao Laboratório das Células Excitáveis (LFCE), coordenado pela professora Dra. Roseli Barbosa!

A todos os pesquisadores e profissionais que lutaram incansavelmente pelo desenvolvimento da vacina contra a covid-19!

A Universidade Federal de Pernambuco e Universidade Regional do Cariri pelas colaborações!
Gratidão!!!

“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, então, com todo o coração dedicar-se a ele”.

(HANSON, 2011, p.12)

RESUMO

Plinia peruviana é conhecida na etnomedicina como “jaboticaba” e é utilizada no tratamento de diarreia e problemas respiratórios. Este estudo avaliou a atividade gastroprotetora do sumo (SPP) e extrato hidroalcolico de *Plinia peruviana* (EHPP). O SPP após obtido foi solidificado e liofilizado. O EHPP foi preparado a partir das cascas por meio da técnica de percolação e liofilização. A análise química foi realizada por CLAE. A toxicidade aguda do SPP e EHPP foi estimada, e posteriormente o efeito gastroprotetor por meio de modelos agudos de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto ou acidificado e indometacina em camundongos. Em seguida, foram analisados a influência dos receptores histaminérgicos (H₂), alfa-2 adrenérgicos, NO, nitrito e nitrato, canais de potássio ATP-dependentes, prostaglandinas (PG), muco aderido a mucosa, grupos sulfidrílicos (SH) e mieloperoxidase (MPO) no efeito do SPP e EHPP. Foram verificados também os efeitos do SPP e EHPP sobre a motilidade intestinal. Os resultados mostram que na análise química do EHPP foi identificado o ácido gálico. Com relação ao ensaio de toxicidade aguda, não foram observados sinais de toxicidade ou morte nos animais tratados com SPP e EHPP. No efeito gastroprotetor, o SPP e EHPP (100, 250 e 500 mg/kg, v.o.) reduziram o índice de lesões induzidas pelo etanol absoluto em 78,4; 62,1; 52,9% e 62,3; 70,4; 41,5%, e por etanol acidificado em 79,1; 74,1; 37,7% e 77,6; 78,5; 37,7%, respectivamente, quando comparados aos respectivos grupos controles. Na lesão gástrica induzida por indometacina as reduções foram de 53,2; 35,6; 22,8% e 44,3; 47,3; 39,4%, respectivamente. Quanto aos possíveis mecanismos envolvidos na resposta gastroprotetora do SPP e EHPP verificou-se que ambos aumentam a produção dos níveis de muco e, se mostram dependentes dos grupos SH, NO, e receptores alfa-2 adrenérgicos além de interferir na redução da enzima MPO sobre a proteção da mucosa gástrica. O SPP e EHPP não modificaram a motilidade intestinal. Em conclusão, o SPP e EHPP apresentaram atividade gastroprotetora frente aos modelos de lesões induzidas por etanol absoluto, acidificado e indometacina. O SPP e EHPP dependem dos grupos SH, NO, alfa-2 adrenérgicos e da MPO. Ambos estimulam a produção de muco no estômago. Essas atividades podem ser relacionadas aos seus constituintes, como o ácido gálico identificado na composição química do EHPP.

Palavras-chave: toxicidade aguda; gastroproteção; *Plinia peruviana*; ácido gálico.

ABSTRACT

Plinia peruviana is known in ethnomedicine as “jaboticaba” and is used in the treatment of diarrhea and respiratory problems. This study evaluated the gastroprotective activity of juice (SPP) and hydroalcoholic extract of *Plinia peruviana* (EHPP). The SPP after obtained was solidified and lyophilized. The EHPP was prepared from the peels using the percolation and lyophilization technique. Chemical analysis was performed by HPLC. The acute toxicity of SPP and EHPP was estimated, and subsequently the gastroprotective effect by means of acute models of gastric lesions induced by absolute or acidified ethanol and indomethacin in mice. Then, the influence of histaminergic (H₂), alpha-2 adrenergic, NO, nitrite and nitrate receptors, ATP-dependent potassium channels, prostaglandins (PG), mucus adhered to the mucosa, sulfhydryl groups (SH) and myeloperoxidase (MPO) on the effect of SPP and EHPP. The effect of SPP and EHPP on intestinal motility was also seen. The results show that in the chemical analysis of the EHPP, gallic acid was identified. Regarding the acute toxicity assay, no signs of toxicity or death were observed in animals treated with SPP and EHPP. In the gastroprotective effect, SPP and EHPP (100, 250 and 500 mg/kg, v.o.) reduced the rate of lesions induced by absolute ethanol by 78.4; 62.1; 52.9% and 62.3; 70.4; 41.5%, and by acidified ethanol at 79.1; 74.1; 37.7% and 77.6; 78.5; 37.7%, respectively, when compared to the respective control groups. In the indomethacin-induced gastric injury model the reductions were 53.2; 35.6; 22.8% and 44.3; 47.3; 39.4%, respectively. As for the possible mechanisms involved in the gastroprotective response of the SPP and EHPP, it was found that both increase the production of mucus levels and are dependent on the SH, NO, and alpha-2 adrenergic receptor groups, in addition to interfering in the reduction of the MPO enzyme on the protection of the gastric mucosa. SPP and EHPP did not modify intestinal motility. In conclusion, SPP and EHPP showed gastroprotective activity against models of lesions induced by absolute, acidified ethanol and indomethacin. SPP and EHPP depend on SH, NO, alpha-2 adrenergic groups and MPO. Both stimulate the production of mucus in the stomach. These activities can be related to its constituents, such as gallic acid identified in the chemical composition of EHPP.

Keywords: acute toxicity; gastroprotection; *Plinia peruviana*; gallic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécie de <i>Plinia peruviana</i>	22
Figura 2 - Estrutura do estômago humano.....	24
Figura 3 - Mecanismos de ação dos fármacos utilizados na terapêutica das úlceras gástricas...	28
Figura 4 - Perfil cromatográfico do EHPP no comprimento de onda de 254 nm.....	39
Figura 5 - Perfil cromatográfico do EHPP no comprimento de onda de 270 nm.....	40
Figura 6 - Coeficiente de correlação linear do ácido gálico.....	40
Figura 7 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	43
Figura 8 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.....	43
Figura 9 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	45
Figura 10 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.....	45
Figura 11 - Efeitos do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem de mieloperoxidase (MPO).....	46
Figura 12 - Efeitos do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem de mieloperoxidase (MPO).....	47
Figura 13 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	48
Figura 14 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.....	48
Figura 15 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) sobre as lesões agudas induzida por etanol em camundongos no teste de barreira física.....	50

Figura 16 -	Efeito do EHPP (100 mg/kg) sobre as lesões agudas induzida por etanol em camundongos no teste de barreira física.....	50
Figura 17 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.....	51
Figura 18 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.....	52
Figura 19 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.....	53
Figura 20 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.....	54
Figura 21 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol na determinação do muco aderido a mucosa gástrica.....	55
Figura 22 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol na determinação do muco aderido a mucosa gástrica.....	55
Figura 23 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com histamina.....	56
Figura 24 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com histamina.....	56
Figura 25 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com ioimbina.....	58
Figura 26 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com ioimbina.....	58
Figura 27 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.....	59
Figura 28 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.....	60
Figura 29 -	Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem do nitrito e nitrato.....	61
Figura 30 -	Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem do nitrito e nitrato.....	61

Figura 31 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com NEM (N- etilmaleimida).....	62
Figura 32 - Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com NEM (N- etilmaleimida).....	62
Figura 33 - Efeito do sumo de <i>Plinia peruviana</i> (SPP) no deslocamento intestinal em camundongos.....	64
Figura 34 - Efeito do extrato de <i>Plinia peruviana</i> (EHPP) no deslocamento intestinal em camundongos.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantidade de ácido gálico em micrograma (μg) por miligrama (mg) de extrato.....41

Tabela 2 - Atividades biológicas descritas do ácido gálico.....42

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C	graus Celsius
Abs	absoluto
Ach	acetilcolina
AINE's	antiinflamatórios não esteroides
AMPc	adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina trifosfato
Ca ²⁺	íon cálcio
CAT	Catalase
CE	estado do Ceará
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CCK	Colecistoquinina
cm	centímetro
COXs	cicloxigenases
COX-1	cicloxigenase do tipo 1
COX-2	cicloxigenase do tipo 2
EHPP	extrato hidroetanólico de <i>Plinia peruviana</i>
E.P.M	erro padrão da média
et al	e colaboradores
g	grama
GPx	glutathione peroxidase
h	hora
H ⁺ /K ⁺ ATP	bomba de prótons

H ₂	receptor histaminérgico do tipo 2
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
HCl	ácido clorídrico
ICMbio	instituto Chico Mendes da
Biodiversidade kg	quilograma
M ₃	receptor muscarínico do tipo 3
MS	ministério da Saúde
mg	miligrama
MPO	Mieloperoxidase
min	minuto
n	número de amostras
NO	óxido nítrico
p	nível de significância
PG's	prostaglandinas
PGE ₂	prostaglandinas do tipo E ₂
SOD	superóxido dismutase
SPP	sumo de <i>Plinia peruviana</i>
v.o.	via oral
i.p.	via intraperitoneal
µg	micrograma
µL	mililitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1	FAMÍLIA MYRTACEAE E GÊNERO <i>Plinia</i>.....	21
2.1.1	<i>Plinia peruviana</i> (Poir.) Govaerts.....	21
2.2	TRATO GASTROINTESTINAL.....	23
2.2.1	Anatomia e fisiologia do estômago.....	23
2.2.2	Regulação da Secreção gástrica	25
2.2.3	Fatores protetores da mucosa	26
2.3	ÚLCERA PÉPTICA E O SEU TRATAMENTO	28
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1	MATERIAL VEGETAL E PREPARAÇÃO DO EXTRATO	31
4.2	ANÁLISE FITOQUÍMICA – EHPP	31
4.3	INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EHPP <i>IN VIVO</i>	32
4.3.1	Animais e aspectos éticos da pesquisa.....	32
4.3.2	Toxicidade pré-clínica aguda	32
4.3.3	Lesão gástrica induzida por etanol absoluto.....	33
4.3.4	Lesão gástrica induzida por etanol acidificado com ácido clorídrico (HCL)....	33
4.3.4.1	Determinação da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)	33

4.3.5	Lesão gástrica induzida por indometacina	34
4.3.6	Teste de barreira física	34
4.4	AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS LESÕES GÁSTRICA.....	34
4.4.1	Método informatizado	34
4.4.2	Método de pontuação	35
4.5	AVALIAÇÃO DOS FATORES DE PROTEÇÃO DA MUCOSA.....	35
4.5.1	Participação dos canais de potássio ATP-dependentes	35
4.5.2	Teste de determinação do envolvimento das prostaglandinas.....	35
4.5.3	Determinação de muco aderido a mucosa gástrica	36
4.5.4	Envolvimento dos receptores histamínicos	36
4.5.5	Envolvimento dos receptores alfa-2 adrenérgicos	36
4.5.6	Envolvimento da ação do óxido nítrico	37
4.5.6.1	Dosagem nitrito e nitrato	37
4.5.7	Participação do grupamento sulfidrílico	37
4.6	AVALIAÇÃO DA MOTILIDADE INTESTINAL.....	38
4.6.1	Trânsito intestinal	38
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1	RENDIMENTO	39
5.2	ANÁLISE QUÍMICA DO EHPP	39
5.3	TOXICIDADE AGUDA PRÉ-CLÍNICA	42
5.4	INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SPP E EHPP ...	42
5.4.1	Lesão gástrica induzida por etanol absoluto.....	42
5.4.2	Lesão gástrica induzida por etanol acidificado com ácido clorídrico (HCL)....	44
5.4.2.1	Determinação da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO).....	46
5.4.3	Lesão gástrica induzida por indometacina	47
5.4.4	Teste de barreira física	49

5.5	AVALIAÇÃO DOS FATORES DE PROTEÇÃO DA MUCOSA (CANAIS DE POTÁSSIO ATP-DEPENDENTES, PROSTAGLANDINAS E2, MUCO ADERIDO A MUCOSA GÁSTRICA, RECEPTORES HISTAMÍNICOS, ALFA-2 ADRENÉRGICOS, ÓXIDO NÍTRICO, NITRITO E NITRATO, GRUPAMENTOS SULFIDRILAS E ANTIMUSCARÍNICOS).....	51
6	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS.....	66
	APÊNDICE A – PERSPECTIVAS FUTURAS	77
	APÊNDICE B – PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2020-2022	78
	ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADE COM FINALIDADE CIENTÍFICA – INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE	81
	ANEXO B – IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E NÚMERO DE HERBÁRIO DA ESPÉCIE DE <i>Plinia peruviana</i> (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE).....	82
	ANEXO C – DECLARAÇÃO DO CEUA	83

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como intervenção terapêutica constitui uma das formas mais antigas para o tratamento das doenças que acometem a humanidade, e esse fato tem motivado o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como a botânica, fitoquímica e farmacologia (MACIEL et al. 2002; TANG; CHAN, 2012).

A família Myrtaceae está entre as mais estudadas, destacando-se devido as potencialidades biológicas de suas espécies. O gênero *Plinia*, pertence a essa família e apresenta algumas atividades elucidadas na literatura como cicatrizante (PITZ et al. 2016), antioxidante (MAZZARINO et al. 2018) e anti-inflamatória (AZEVEDO et al. 2016). Uma das espécies representativa desse gênero é *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts popularmente conhecida como jaboticaba, cujo seus frutos têm sido tradicionalmente usados por seus valores medicinais, que incluem o tratamento de problemas respiratórios e gastrointestinais (DANNER et al. 2007).

Dentre as doenças mais graves que afetam o trato gastrointestinal, as úlceras pépticas apresentam altas taxas de mortalidade e morbidade, com prevalência em pelo menos 10% da população mundial (RAAFAT; EL-DARRA; SALEH, 2020). A fisiopatologia da ulceração consiste em um desequilíbrio entre fatores protetores (muco, bicarbonato e prostaglandinas) e agressivos a mucosa (infecção pela bactéria *Helicobacter pylori*, hábitos alimentares inadequados, tabagismo, consumo excessivo de álcool, uso prolongado de anti-inflamatórios e estresse oxidativo) (ROZZA et al. 2013).

Atualmente, o tratamento utilizado para úlceras consiste basicamente no uso de medicamentos antiácidos, antagonistas dos receptores de histamina e inibidores da bomba de prótons (NESELLO et al. 2017). Embora o consumo desses medicamentos tenha sua eficácia comprovada, existem evidências de que o seu uso prolongado pode induzir efeitos indesejados (WALLACE, 2005). Tais fatores, tem motivado o foco em experimentos e investigações pré-clínicas a fim de desenvolver estratégias alternativas, que possam auxiliar na terapêutica dessa enfermidade.

A elucidação do efeito farmacológico e a exploração de novas substâncias potencialmente ativas oriundas de produtos naturais são de fundamental importância para o desenvolvimento de novas formulações terapêuticas. Mesmo diante do crescimento na produção de medicamentos pela indústria farmacêutica nos últimos tempos, ainda é visto a necessidade da busca por agentes que apresentem maior disponibilidade e menores índices de toxicidade (SOUZA-MOREIRA et al. 2019).

Diante disso, esse estudo avaliou o efeito gastroprotetor do sumo de *Plinia peruviana*

(SPP) e o extrato hidroetanólico de suas cascas (EHPP) em modelos experimentais animais. O efeito gastroprotetor foi elucidado por meio de lesões induzidas por diferentes agentes (etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina), posteriormente, foram investigados os possíveis mecanismos de ação envolvidos na resposta gastroprotetora (canais dependentes de potássio ATP- dependentes, prostaglandinas, muco, receptores histamínicos, alfa-2 adrenérgicos, óxido nítrico, grupamentos sulfidrílicos e atividade da enzima mieloperoxidase).

Dessa forma, considerando o uso na medicina popular, composição química e a comprovação de diversas atividades biológicas em relação à família Myrtaceae e o gênero *Plinia*, bem como, a importância da busca por novos agentes terapêuticos alternativos que possam auxiliar no tratamento das úlceras gástricas, despertou-se o interesse em investigar e validar cientificamente o possível efeito gastroprotetor da espécie *Plinia peruviana*. Esse estudo tem a concepção de contribuir para a sociedade, por meio da comprovação experimental de uma espécie amplamente utilizada na medicina tradicional.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FAMÍLIA MYRTACEAE E GÊNERO *Plinia*

A família Myrtaceae compreende cerca de 150 gêneros com 5.500 espécies descritas, distribuídas principalmente entre as regiões tropicais e subtropicais do mundo (SUGUINO et al. 2012). No Brasil, ela constitui uma das mais importantes famílias de Angiospermas, constando de uma única tribo, Myrtae e três subtribos Myrciinae, Eugeniinae e Myrtinae, com 23 gêneros e cerca de 1000 espécies espalhadas entre os biomas: Mata Atlântica, Restinga e Cerrado (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). A família Myrtaceae é reconhecida por suas diversas aplicações na agricultura, indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (LATTUADA; DESOUZA; GONZATTO, 2010).

Do ponto de vista econômico, diversas mirtáceas são caracterizadas pelo seus altos índices de comercialização, tais como: *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Psidium cattleianum* S. (araça), *Syzygium cumini* L. (jambolão), *Marlierea edulis* N. (cambucá), *Myrciaria dúbia* (camu-camu) e *Plinia peruviana* (jaboticaba) (KUSKOSKI et al. 2006). O consumo dos frutos ocorre tanto *in natura*, quanto na forma de doces, geleias e licores (SUGUINO et al. 2012).

No contexto terapêutico, estudos etnobotânicos empregam o uso medicinal das espécies de Myrtaceae, principalmente para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, estados hemorrágicos, doenças infecciosas e respiratórias (AUXILIADORA; KAPLAN, 2006). Esses efeitos têm sido atribuídos principalmente a presença de taninos e flavonoides, que predominam na composição da maior parte de suas espécies (SOUZA- MOREIRA et al. 2019). Em relação às atividades biológicas comprovadas para essa família destacam-se: gastroprotetora (ISHIKAWA et al. 2008), anti-inflamatória/anti-nociceptiva (AZEVEDO et al. 2016), antibacteriana (MACHADO et al. 2018), anti-trypanosoma (GALVÃO et al. 2021) e antioxidante (DE LIMA PAULA et al. 2021).

Dentre os gêneros da família Myrtaceae, o *Plinia* está distribuído entre regiões da América Central ao Caribe (DANNER et al. 2007). No território brasileiro é predominante no Norte, Nordeste, Mato Grosso do Sul e todos os estados do Sudeste ao Sul (SOBRAL et al. 2015). Esse gênero reúne cerca de 40 espécies descritas, sendo que no Brasil, 20 já foram catalogadas (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). Anteriormente reconhecido como *Myrciaria*, no entanto, Sobral (1985) alterou sua nomenclatura para *Plinia*. Contudo, existem diversos estudos ainda utilizam *Myrciaria* como sinônimo.

2.2.1. *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts

A espécie *Plinia peruviana* (Figura 1 A/B) pertence ao gênero *Plinia* e a família Myrtaceae. Na medicina popular é conhecida como jabuticaba, jabotica, uva brasileira, sabará, jabuticabeira-preta e jabuticabeira-rajada (DONADIO, 2000). Essa espécie é utilizada em forma de chá, que é obtido da casca do fruto, para o tratamento da diarreia, disenteria e tosse (COSTA et al. 2013).

Figura 1 - Espécie de *Plinia peruviana* coletada no município de Crato – CE.

(A) frutos e caule (B) caule, folhas e frutos.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

No que se refere a sua ocorrência, a espécie de *P. peruviana* pode ser encontrada nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No entanto, nos últimos anos tem sido cultivada e introduzida em quase todas as cidades brasileiras, principalmente nas que englobam a mata pluvial atlântica e as submatas de altitude (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014). É uma planta de origem subtropical, mas que também se adapta facilmente ao clima tropical (RADAELLI et al. 2020).

Em relação aos aspectos botânicos, a espécie pode alcançar de 10-15m de altura, e se apresenta na forma de hábitos arbustivos ou arbóreos. Suas folhas são simples, opostas e lanceoladas (COSTA et al. 2013). As flores são brancas, pediceladas e quase sésseis, e ficam localizadas ao longo do tronco (RADAELLI et al. 2018). A floração ocorre entre outubro e janeiro. Os frutos são bagas globosas, com aproximadamente 3 cm de diâmetro, que aparecem

fixados ao caule, com 1 a 4 sementes e alta frequência de poliembrionia (LORENZI, 2006).

Estudos preliminares de análises fitoquímicas da jaboticaba revelaram que os compostos fenólicos são seus principais constituintes. Dentre os mais majoritários, estão o ácido gálico, ácido elágico, elagitaninos, isoquercetina e quercetina (HACKE et al. 2016; WU et al. 2012). Além disso, outros estudos demonstraram que a presença de taninos nesse fruto se apresentam em quantidades maiores, quando comparado a outras espécies da mesma família, como a pitanga e a goiaba (ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012; ROCHA et al. 2011).

A composição química de *P. peruviana*, bem descrita na literatura, despertou o interesse em diversas pesquisas que se concentraram em avaliar suas potencialidades: cicatrizante *in vitro* (PITZ et al. 2016), antioxidante (MAZZARINO et al. 2018), antifúngico (WALLER et al. 2020) e antiproliferativo/antimutagênico (GRAZIELA MORAES et al. 2021). Apesar de sua importância e ampla disponibilidade no Brasil até onde se ampliou as buscas na literatura não há relatos da descrição de seu efeito gastroprotetor. Desta forma, considerando os compostos fenólicos e flavonoides como os principais constituintes químicos da *P. peruviana* e que possuem atividade gastroprotetora, levantou-se a hipótese de estudo que o sumo e o extrato das cascas dessa espécie poderiam apresentar potencial efeito gastroprotetor em modelos clássicos de lesões gástricas *in vivo*.

2.2 TRATO GASTROINTESTINAL

2.2.1 Anatomia e fisiologia do estômago

O sistema digestório é formado basicamente por um tubo contínuo que compreende a cavidade bucal, a maior parte da faringe, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso, reto e ânus. Ele apresenta alguns órgãos acessórios como os dentes, a língua, as glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e o pâncreas (TORTORA;DERRICKSON, 2016). Em conjunto com esses órgãos, o trato gastrointestinal (TGI) possui diversas funções, que vão desde a ingestão, digestão, absorção e excreção de substâncias (DRAKE, 2005).

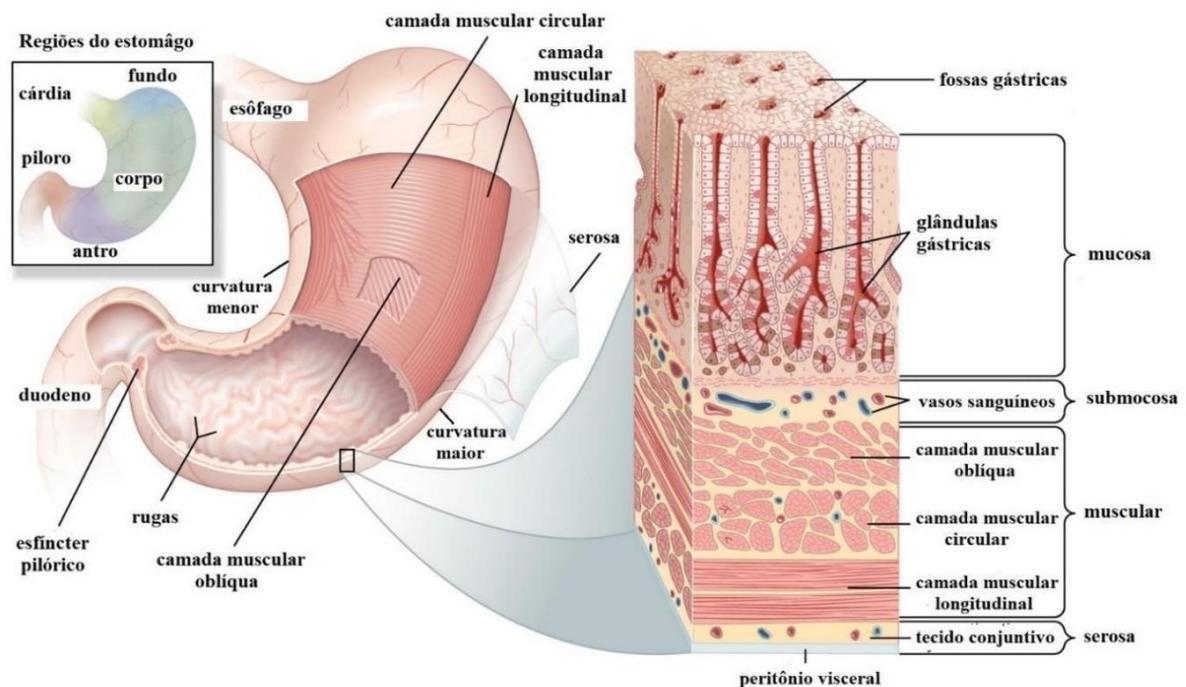
Dentre os órgãos, o estômago, está situado no abdômen, abaixo do diafragma, anterior ao pâncreas, superior ao duodeno e a esquerda do fígado. Ele encontra-se dividido em cinco regiões anatômicas (cárdia, fundo, corpo, antro e esfíncter pilórico) e possui duas curvaturas: a maior e a menor (HALL, 2015). Com relação ao revestimento interna parede estomacal, ele se apresenta em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular externa e serosa (Figura 2) (SILVERTHORN et al. 2010).

A mucosa é formada por uma camada de epitélio superficial, que recobrem as fossas

gástricas. Essa camada abriga numerosas glândulas gástricas, definidas como oxínticas e pilóricas (HAMILTON, 1982). As glândulas oxínticas são compostas pelas células parietais (secretoras de ácido clorídrico), células enterocromafins (secretoras de histamina), células principais (secretoras de pepsinogênio), células D (secretoras somatostatina, considerada a principal via inibitória da secreção gástrica) e células mucosas (secretoras de muco). Por outro lado, as células pilóricas são compostas por células G (secretoras de gastrina) e células endócrinas (secretoras de bicarbonato) (RANG; DALE, 2007).

A camada submucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo que contém vasos sanguíneos e nervos. A muscular externa é formada por três subcamadas de musculatura lisa. De interno para externo, elas são chamadas de oblíqua interna, circular média e longitudinal externa. A camada serosa é a chamada tecidual que reveste a maior parte do órgão, exceto em uma pequena porção da parte posterior do estômago (MOORE; DALLEY; AGUR, 2013).

Figura 2 - Estrutura do estômago humano.



Fonte: Enciclopédia Britânica, com modificações (online) (2013).

2.2.1 Regulação da Secreção gástrica

A secreção de ácido clorídrico (HCl) está entre as principais funções desempenhadas pelo estômago. Sendo envolvida na digestão de proteínas e lipídeos e na absorção de ferro, cálcio, vitamina B₁₂ e de certos medicamentos, além disso, também atua de maneira defensora contra patógenos invasores (SCHUBERT, 2010).

A estimulação fisiológica da secreção ácida está classicamente dividida em três fases inter-relacionadas: cefálica, gástrica e intestinal. A fase cefálica é ativada pelo pensamento, paladar, olfato, visão dos alimentos, e deglutição (DANGELO; FATTINI, 2007). A fase gástrica é devido aos efeitos químicos dos alimentos e à distensão do estômago. A fase intestinal se inicia quando o alimento já se encontra na porção superior do intestino delgado, que continuará a realizar secreção do ácido gástrico em pequenas proporções (O'CONNOR; O'MORÁIN, 2014).

O suco gástrico normal é uma mistura da secreção parietal (ácido e fator intrínseco) e das secreções não parietais como: bicarbonato, Na⁺, K⁺, muco e pepsinogênio. A secreção gástrica tem início a partir de estímulos enviados para as células, a fim de ativar a bomba de prótons (BIGHETTI; ANTÔNIO; DE CARVALHO, 2002). As células parietais, irão auxiliar na secreção do HCl, as células enterocromafim irão secretar histamina e as células G, o hormônio gastrina (RANG; DALE, 2007).

A estimulação das células parietais ocorre por meio de duas vias. A primeira é a via dependente de AMP cíclico (AMPC), enquanto a segunda é dependente da concentração de cálcio. As duas vias atuam de maneira independente, no entanto a primeira é considerada mais sensível. A regulação da secreção gástrica é bastante complexa e sofre influências neural (mediada pela acetilcolina), parácrina (histamina), hormonal (gastrina), mecânica (distensão) e química (etanol) (SILVERTHORN et al. 2010).

A acetilcolina (ACh) é liberada pelos estímulos vagais. Esse processo irá estimular diretamente a célula parietal, através dos receptores colinérgicos muscarínicos (M3), que irão agir por intermédio da via dependente da concentração de Ca²⁺, provocando o aumento do Ca²⁺ citosólico, ocasionando a liberação do íon H⁺, e posteriormente a ativação da bomba de prótons (TORTORA; DERRICKSON, 2016). O hormônio gastrina, é tido como o principal estimulante da secreção ácida durante a ingestão dos alimentos. Esse atua ligando-se de forma direta com os receptores de colecistoquinina (CCK) das células parietais, favorecendo o aumento do cálcio e conseqüentemente a ativação da bomba gástrica (LIMA, 2014).

Seguida da liberação da gastrina, ocorre a liberação da histamina que irá atuar como mediador da secreção gástrica, ligando-se aos receptores histamínicos (H₂), os quais encontram-

se acoplados a proteína G. Esse neurotransmissor aumenta a secreção gástrica, por meio da ativação da adenilato ciclase, que eleva a concentração de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), promovendo a ativação da fosfoquinase A (PINTO, 2012).

O HCl é capaz de inibir sua própria secreção, por meio de um mecanismo que envolve a liberação de somatostatina (SST), sendo essa produzida pelas células D da porção do antro e age inibindo a gastrina (GOODMAN, GILMAN, 2006). As prostaglandinas (PGE2 e PGI2) também inibem a célula parietal por meio do bloqueio do AMPC, favorecendo a diminuição da atividade da bomba de prótons, ou seja, a secreção do ácido (RAMSAY; CARR, 2011).

Dessa forma, para que o estômago se encontre em condições fisiológicas, é necessário que exista um equilíbrio entre diferentes fatores. Sendo esses caracterizados como endógenos (HCl, bile, pepsina e enzimas pancreáticas), exógenos (álcool, anti- inflamatórios, fumo) ou biológicos (bactérias como a *Helicobacter pylori*), juntamente com os mecanismos de proteção da mucosa (prostaglandinas, muco, bicarbonato, enzimas antioxidantes, fluxo sanguíneo, barreira epitelial) (TORTORA;DERRICKSON, 2016).

2.2.3 Fatores protetores da mucosa

A mucosa estomacal se apresenta como uma barreira dinâmica, que permite a passagem de algumas moléculas e íons para o corpo e restringe a entrada de determinado conteúdo. Trata-se de uma série consecutiva de mecanismos de defesa, cada um deles finalmente regulado (OLBE; CARLSSON; LINDBERG, 2003). Dentre estes, os mecanismos estão a barreira muco-bicarbonato-fosfolipídios, células epiteliais, microcirculação, prostaglandinas, óxido nítrico e o sistema de defesa enzimático (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A barreira muco-bicarbonato é considerada como a primeira linha de defesa contraagentes agressores. O muco se apresenta de maneira aderente, elástica e viscosa, tendo um aspecto de gel, que é composto por 95% de água e 5% de glicoproteínas, como a mucina, que recobrem a superfície da mucosa (DONG; KAUNITZ et al. 2006). A produção de muco é estimulada por hormônios gastrointestinais, incluindo a gastrina, secretina, agentes colinérgicos, prostaglandinas especialmente a PGE₂ (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005).

A segunda linha da mucosa a defesa é constituída por uma camada contínua de células epiteliais superficiais que secretam muco e bicarbonato que geram prostaglandinas e proteínas. A presença de fosfolipídios em suas superfícies, atribuem características hidrofóbicas a estas células, que encontram-se organizadas pelas junções estreitas e as uniões GAP, oferecendo

integralidade e impedindo a difusão retrógrada do ácido e da pepsina (SILVERTHORN et al. 2010).

O fluxo sanguíneo da mucosa é outro importante fator importante, que é bastante associado à cicatrização de lesões gastrintestinais. É regulado e modificado por sistemas e fatores metabólicos locais como prostaglandinas, leucotrienos e outros mediadores químicos (LANAS, 2008). O fluxo é essencial para a entrada de oxigênio e nutrientes. Quando um agente lesivo entra em contato com a mucosa gástrica ou quando ocorre uma re-difusão do ácido, há um aumento no fluxo sanguíneo que permite remover ou diluir o retorno do ácido ou de agentes nocivos. Esta resposta parece ser essencial para a defesa da mucosa, pois sua restrição mecânica do fluxo sanguíneo leva à necrose do tecido (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A produção de prostaglandinas (PGs), principalmente a PGE1 e PGE2, se apresentam como outro protetor da mucosa, sua síntese parte do ácido araquidônico, por meio das enzimas cicloxigenases (COXs). Suas funcionalidades incluem a estimulação na produção de muco e bicarbonato, regulação do fluxo sanguíneo, redução da secreção gástrica, estimulação a renovação epitelial, inibição da ativação de mastócitos, diminuição da aderência leucocitária e aderência de plaquetas ao endotélio vascular (MONTROSE et al. 2015).

No estômago o NO tem fundamental importância na prevenção e reconstituição de injúrias, atuando basicamente na manutenção da homeostase e regulando do fluxo sanguíneo (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). Além disso, é um inibidor potente da adesão de leucócitos no endotélio vascular, atuando como complemento aos efeitos protetores das PGs no estômago (BRAGA et al. 2016).

O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas: Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx), seus mecanismos consistem em impedir a formação de radicais livres. Por outro lado, o sistema de defesa não-enzimático abrange especialmente, os compostos antioxidantes de origem dietético, entre os quais se destacam: vitaminas, minerais e compostos fenólicos (BARBOSA et al. 2010).

2.3 ÚLCERA PÉPTICA E O SEU TRATAMENTO

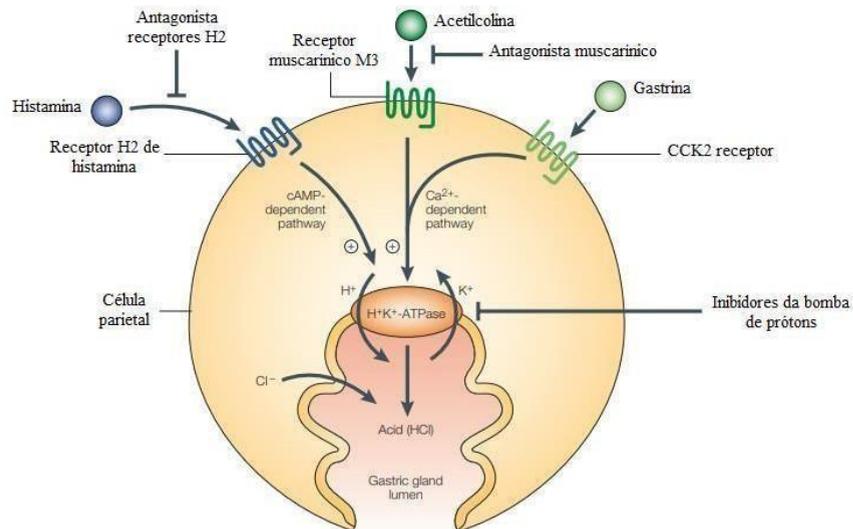
A úlcera é uma lesão necrótica profunda que penetra através da mucosa e provoca a destruição dos componentes do tecido epitelial e conectivo, incluindo miofibroblastos, células do músculo liso, vasos e nervos, e é resultante da necrose tecidual desencadeada pela isquemia,

radicais livres, diminuição do oxigênio e nutrientes (S. TARNAWSKI; AHLUWALIA, 2012). A úlcera péptica abrange tanto as gástricas quanto as duodenais e apresenta-se como uma doença de alta morbidade e mortalidade (RAAFAT; EL-DARRA; SALEH, 2020).

As causas mais comuns de agressão à mucosa compreendem fatores como danos provocados pelo etanol, fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), hereditariedade, estresse, fumo, maus hábitos alimentares e a inflamação promovida pela bactéria *Helicobacter pylori*, que constitui 80% dos casos (BONET; EGEEA; HEROLA et al. 2015). O estresse oxidativo também é um dos fatores pelo qual as úlceras gástricas são formadas. Isso ocorre quando radicais livres lesam a membrana celular por coagular as proteínas, ácidos nucleicos e lipídios e tornam o tecido edemaciado, hemorrágico e necrosado. Além disso, removem o muco da parede da mucosa e inibem a liberação de prostaglandinas E2 e I2. A inibição de sua síntese pode ser explicada pela ativação das vias lipoxigenases, que irão aumentar os níveis de leucotrieno C4 e B4, diminuindo assim os produtos formados pelas ciclooxigenases (SUZUKI et al. 2012).

O tratamento farmacológico para as úlceras consiste no uso de medicamentos antiácidos, anticolinérgicos, inibidores da bomba de prótons e antagonistas de receptores histamínicos H2 (Figura 3). O objetivo terapêutico consiste em aliviar os sintomas, cicatrizar a lesão e prevenir as recidivas (NESELLO et al. 2017).

Figura 3 - Mecanismos de ação dos fármacos utilizados na terapêutica das úlceras gástricas.



Fonte: OLBE; CARLSSON; LINDBERG (2003) com modificações.

Mesmo diante da efetividade da terapia, existe uma série de efeitos adversos que se manifestam no decorso do tempo, como osteoporose, riscos aumentados de infecções entéricas

e desenvolvimento de pólipos gástricos que podem evoluir para câncer gástrico (RUÍZ-NARVÁEZ et al. 2018). Diante dessa situação, a busca por terapias alternativas, como o uso de plantas medicinais associados ou não, ao tratamento convencional da úlcera com fármacos sintéticos tem aumentado o interesse de diversos grupos de pesquisas, na perspectiva de aumentar a eficácia do tratamento, a segurança de uso, reduzir o custo do tratamento e estimular a indústria farmacêutica nacional.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade gastroprotetora do sumo e extrato hidroetanólico das cascas do fruto de *Plinia peruviana* (MYRTACEAE).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o sumo (SPP) e extrato (EHPP) das cascas de *P. peruviana*;
- Quantificar os constituintes químicos do EHPP por Cromatografia Líquida de AltaEficiência (CLAE).
- Determinar a toxicidade aguda não clínica do SPP e EHPP;
- Avaliar a atividade gastroprotetora do SPP e EHPP em modelos de lesão gástricainduzidas por etanol absoluto, acidificado e indometacina;
- Elucidar o possível mecanismo envolvido na gastroproteção promovida pelo SPP e EHPP verificando o envolvimento dos canais dependentes de potássio ATP-dependentes, prostaglandinas, receptores histamínicos, alfa-2 adrenérgicos, óxido nítrico e grupamentos sulfidrílicos.
- Constatar a participação do óxido nítrico por meio da quantificação de nitrito;
- Avaliar a participação do SPP e EHPP sobre a secreção de muco;
- Determinar a atividade enzimática da mieloperoxidase;
- Avaliar a motilidade intestinal promovida pelo SPP e EHPP.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Os frutos de *Plinia peruviana* foram coletados na chapada do Araripe localizada na cidade de Crato, Ceará, Brasil, em janeiro de 2020 (S 7°13,00,6" – W 39°22.15.1"). A realização desta coleta foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Biodiversidade (ICMbio), Órgão responsável pela FLONA – Araripe (78582-1). Um exemplar desta espécie foi identificado pela Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva, e depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA Crato-CE, Brasil) com voucher de identificação (n° 14.430).

4.1.1 Obtenção do sumo de *Plinia peruviana*

O sumo puro de *Plinia peruviana* (SPP) foi obtido manualmente, e levado ao freezer - 80 °C ficando armazenado durante 24 horas. Decorrido esse período, o material solidificado foi desidratado com a ajuda de um liofilizador, permanecendo durante 72h. Logo após, o SPP foi armazenado em frasco âmbar.

4.1.2 Obtenção do extrato de *Plinia peruviana*

As cascas frescas dos frutos (5.370 g) foram utilizadas no preparo do extrato hidroetanólico de *Plinia peruviana* (EHPP), o material foi triturado com ajuda de um liquidificador industrial, e logo em seguida imerso em 2L de solução água/etanol PA (1:1v/v), ficando armazenadas durante 72 horas. Após esse período o extrato foi filtrado, armazenado e levado ao freezer -80 °C, após sua solidificação o material foi liofilizado. O EHPP foi acondicionado em um dessecador até o momento dos ensaios.

O SPP e EHPP foram acondicionados em um dessecador até o momento dos ensaios. Para efeitos dos experimentos, ambos foram diluídos em água destilada antes de serem administrados.

4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA - EHPP

Para as análises foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu LC-20 (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com um sistema quaternário de bombas modelo LC - 20A DVP, degaseificador modelo DGU - 20A, detector PDA modelo SPD - 20AVP, forno modelo CTO - 20ASVP, injetor automático modelo SIL - 20ADVP e controlador modelo SCL - 20AVP e acoplado a um

detector de arranjo de diodos (DAD). Os dados obtidos foram tratados por meio do software Shimadzu LC solution 1.0 (Japão). As amostras foram submetidas individualmente à análise em triplicata na concentração de 5 mg/mL em solução metanólica. O método utilizado foi adaptado de Ferreira et al. (2016), com as seguintes condições cromatográficas: como fase estacionária coluna octadecilsilano (250x 4,6 mm, 5 µm, Thermo Scientific C18) com pré-coluna, e fase móvel composta de 2 solventes: solvente A - metanol e solvente B – água ultrapura, ambos acidificados com ácido trifluoroacético 0,05 % com fluxo de 0,6 mL/min. A temperatura foi mantida constante a 24 °C, com volume de injeção de 10 µL e sendo monitoradas de 190 a 800 nm.

4.3 INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EHPP *IN VIVO*

4.3.1 Animais e aspectos éticos da pesquisa

Foram utilizados nos experimentos camundongos *Swiss* albino (*Mus musculus*) de ambos os sexos, pesando entre 25 e 30 g oriundos do biotério da URCA. Os animais foram mantidos em rotatividade de ciclos de claro/escuro de 12 em 12 h temperatura (22 ± 2 °C), umidade (50-60%) e, com acesso a água filtrada e ração industrializada (Presence, Purina, Brasil). Os animais foram mantidos em jejum pelas 12 horas que antecedem o experimento.

Todos os protocolos experimentais foram conduzidos de acordo com as normas de Bioética reconhecidas pela Lei nº 11.794/08, a qual regulamenta o uso de animais para fins científicos. Esse estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri (URCA), sob o número de licença 00103/2021.1.

4.3.2 Toxicidade pré-clínica aguda

A estimativa da toxicidade aguda do SPP e EHPP foi determinada a partir do método preconizado pelas diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico, 425 (OECD, 2008). Camundongos (n=4/grupo) foram tratados por via oral (v.o.), com a dose de 5.000 mg/kg ou NaCl 0,9%. Os animais foram observados aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após o tratamento e, diariamente, por 14 dias avaliando sinais de toxicidade, mudanças comportamentais, segundo critérios estabelecidos por Malone (1977) sendo registrado, a intensidade dos sinais, os quais foram pontuados de zero a quatro, correspondendo,

respectivamente: ausente, raro, pouco, moderado e intenso.

4.3.3 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto

Camundongos (n=6) foram tratados de acordo com os grupos: controle (NaCl 0,9%/v.o.), omeprazol, um inibidor da bomba de próton (30 mg/kg/v.o.), SPP e EHPP (100, 250 e 500 mg/kg/v.o.). Após 1 hora foram realizadas as induções das lesões gástricas com o etanol a 96% (0,2 mL/animal, via oral). Decorridos 30 minutos, os animais foram eutanasiados, tendo seus estômagos removidos, abertos pela curvatura maior, lavados e preparados para avaliação e quantificação das lesões gástricas por meio informatizado, conforme descrito adiante no item 4.4.1 (MORIMOTO et al. 1991).

4.3.4 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado com ácido clorídrico (HCL)

Camundongos (n=6) foram tratados de acordo com os grupos: controle (NaCl 0,9%/v.o.), omeprazol (30 mg/kg/v.o.), SPP e EHPP (100, 250 e 500 mg/kg/v.o.). Após 1 hora foram realizadas as induções das lesões gástricas com o etanol acidificado (0,2 mL/animal da solução 0,3M de HCl, em etanol 60%, v.o.). Decorrida 1 hora, os animais foram eutanasiados, tendo seus estômagos removidos, abertos pela curvatura maior, lavados e preparados para avaliação e quantificação das lesões gástricas por meio informatizado, conforme descrito adiante no item 4.4.1 (MIZUI;DOTEUCHI,1983).

4.3.4.1 Determinação da atividade enzimática da mieloperoxidase

A partir dos tecidos obtidos no ensaio de lesão induzida por etanol acidificado foi determinado os níveis da enzima mieloperoxidase. O princípio do método baseia-se na liberação de MPO para o tecido lesado. Os níveis da atividade de mieloperoxidase (MPO) foram determinados conforme técnica descrita por Bradley e Christensen, (1982) utilizando peróxido de hidrogênio 0,0005% como substrato para MPO. Uma unidade de MPO foi definida como a quantidade capaz de converter 1 μ mol de peróxido de hidrogênio a água em 1 min a 22° C. A variação da densidade óptica da mistura das amostras com a solução de o-dianisidina em função do tempo de reação foi medida por espectrofotômetro à 600 nm. Os resultados foram expressos como UMPO/ μ L de lavado.

4.3.5 Lesão gástrica induzida por indometacina

Camundongos (n=6) foram tratados de acordo com os grupos: controle (NaCl 0,9%/v.o.), omeprazol (30 mg/kg/v.o.), SPP e EHPP (100, 250 e 500 mg/kg/v.o.). Após 1 hora foi realizada a indução das lesões por administração subcutânea de indometacina (10mg/kg), transcorridas 3 horas da administração do agente lesivo foram repetidos os tratamentos. Depois de 6 horas da administração da indometacina, os animais foram eutanasiados, tendo seus estômagos removidos, abertos pela curvatura maior, lavados e preparados para avaliação e quantificação das lesões gástricas por método de pontuação, conforme descrito adiante no item 4.4.2. (RAHGOZAR et al., 2001).

4.3.6 Teste de barreira física

A partir da menor dose efetiva encontrada nos experimentos anteriores, os camundongos foram divididos em 3 grupos (n=6) e tratados de acordo com os grupos: controle (NaCl 0,9%/v.o.) SPP ou EHPP 100 mg/kg (v.o. ou i.p.). Depois de 30 minutos da administração do SPP e EHPP (i.p.), ou 1 hora da administração de NaCl 0,9%, SPP e EHPP (v.o.), foi administrado etanol (0,2 mL/animal, v.o.). Decorridos 30 minutos após a indução com o etanol os animais foram eutanasiados, tendo seus estômagos removidos, abertos pela curvatura maior, lavados e preparados para avaliação e quantificação das lesões gástricas por meio informatizado, conforme descrito adiante no item 4.4.1.

4.4 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS LESÕES GÁSTRICAS

4.4.1 Método informatizado

Depois de lavados, os estômagos retirados foram comprimidos entre duas lâminas, escaneados e digitalizados, com posterior análise por planimetria computadorizada com auxílio do *software ImageJ* (Bethesda, MD, USA). Sendo a área lesionada expressa em porcentagem em relação à área total da mucosa gástrica.

4.4.2 Método de pontuação

A pontuação foi determinada realizando-se uma quantificação das lesões gástricas que geraram valores sendo: 0 (lesões ausentes); 1 (leves edemas); 2 (edema e hemorragia); 1-2 (lesões pontuais); 1-3 (lesões extensas); 5 (várias lesões pontuais) e 6 (lesões extensas visíveis em toda a mucosa) (ZINKIEVICH et al. 2010).

4.5 AVALIAÇÃO DOS FATORES DE PROTEÇÃO DA MUCOSA

4.5.1 Participação dos canais de potássio ATP-dependentes

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em cinco grupos, de modo que os três primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), diazóxido (3 mg/kg/i.p.), ativador de canais de potássio ATP- dependentes, SPP e EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com glibenclamida (5 mg/kg/i.p.) bloqueador de canais de potássio ATP-dependentes, 30 minutos antes dos tratamentos com diazóxido, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos (v.o.) ou 30 min (i.p.) os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1. (RAHGOZAR et al. 2001).

4.5.2 Teste de determinação do envolvimento das prostaglandinas

Sete grupos de camundongos (n=6/grupo) foram divididos de modo que os quatro primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), misoprostol, análogo sintético de prostaglandina E1 (0,016 mg/kg/v.o.), SPP e EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros três grupos associados à administração prévia do anti-inflamatório indometacina (10 mg/kg/v.o.), 2 horas antes dos tratamentos com misoprostol, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos, os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1. (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

4.5.3 Determinação de muco aderido a mucosa gástrica

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em três grupos e tratados com: controle (NaCl 0,9%/v.o.), SPP, EHPP (100 mg/kg/v.o.) ou misoprostol (0,016 mg/kg/v.o) análogo de prostaglandina E₁. Decorrida 1 hora dos tratamentos, os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL/animal, v.o). Decorridos 30 minutos após a administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos retirados, lavados a mucosa gástrica foi retirada, pesada e incubada em 10 mL de solução de *Alcian blue* 0,1%, onde permaneceu corando por 2 horas. O excesso de *Alcian blue* foi removido com sacarose 0,25 mol/L. O corante complexado com o muco da parede glandular foi extraído com 5 mL de cloreto de magnésio (0,5 mol/L). Foram misturados 3 mL da solução sobrenadante azul obtida com 3 mL de éter etílico e agitou-se vigorosamente até a formação de uma emulsão. Centrifugou-se a 1.134 g durante 10 min para separar a fase aquosa, descartando-se o resíduo. A concentração de *Alcian blue* nas amostras, foi determinada por leitura espectrofotométrica a 598 nm. A concentração de *Alcian blue* ligado ao muco foi determinada por interpolação na curva padrão do corante e expressa em µg de *Alcian blue*/mL/g de tecido (RAFATULLAH et al. 1990).

4.5.4 Envolvimento dos receptores histamínicos (H₂)

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em cinco grupos, de modo que os três primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), ranitidina (40 mg/kg/i.p.) antagonista de receptores histamínicos H₂, SPP, EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com histamina (antagonista H₂; 2 mg/kg/i.p.), 30 minutos antes dos tratamentos com ranitidina, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos (v.o.) ou 30 min (i.p.), os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1.

4.5.5 Envolvimento dos receptores alfa-2 adrenérgicos

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em cinco grupos, de modo que os três primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), clonidina (0,05 mg/kg/i.p.) agonista α₂ adrenérgico, SPP e EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à

administração prévia do antagonista α_2 adrenérgico ioimbina (2 mg/kg/i.p.), 30 minutos antes dos tratamentos com ioimbina, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos (v.o.) ou 30 min (i.p.), os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1.

4.5.6 Envolvimento da ação do óxido nítrico

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em cinco grupos, de modo que os três primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), L-arginina (600 mg/kg/i.p.) precursor do óxido nítrico, SPP e EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com L-NAME (20 mg/kg/i.p.) agente inibidor da enzima sintase do óxido nítrico, 30 minutos antes dos tratamentos com L-arginina, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos (v.o.) ou 30 min (i.p.) os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o.). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1. (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

4.5.6.1 Dosagem nitrito e nitrato

O reagente foi preparado utilizando partes iguais de ácido fosfórico 5%, N-1-naftilenodiamina (NEED) 0,1%, sulfanilamida 1% em ácido fosfórico 5% e água destilada. Para realização do ensaio foi adicionado 100 μ L do sobrenadante do homogenato dos estômagos a 10%, feito com tampão de fosfato de potássio, em 100 μ L do reagente de Griess. Para o branco, foi adicionado 100 μ L do reagente em 100 μ L de tampão e para a obtenção da curva do padrão, foram feitas diluições em série (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 μ M) de nitrito. A leitura feita na faixa de absorvância de 540 nm (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981).

4.5.7 Participação do grupamento sulfidrílico

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em cinco grupos, de modo que os três primeiros receberam o tratamento com controle (NaCl 0,9%/v.o.), carbenoxolona (100 mg/kg/v.o.) indutor de muco, SPP e EHPP (100 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com N-etilmaleimida (5 mg/kg/i.p.) inibidor de grupamentos sulfidrílicos,

30 minutos antes dos tratamentos com carbenoxolona, SPP ou EHPP. Após 1 h dos tratamentos (v.o.) ou 30 min (i.p.) os animais receberam etanol 96% (0,2 mL/animal/v.o). Decorridos 30 minutos da administração do etanol, os animais foram eutanasiados, os estômagos foram retirados e a área de lesão gástrica determinada como descrito anteriormente em 4.4.1.

4.6 AVALIAÇÃO DA MOTILIDADE INTESTINAL

4.6.1 Trânsito intestinal

Os animais (camundongos, n=6) foram divididos em três grupos e tratados com: controle (NaCl 0,9%), atropina (0,01 mg/kg) antagonista muscarínico, SPP e EHPP (100 mg/kg, v.o). Decorrido 1h foi administrado um marcador colorido semissólido (vermelho de fenol 0,05% em carboxicelulose 1,5%). A eutanásia dos animais foi realizada 30 minutos após a administração do marcador, realizando-se a retirada do intestino delgado e medindo o comprimento total do mesmo e a distância percorrida pelo marcador, determinando assim, a porcentagem de motilidade (STICKNET; CLIFFORD; NORTHUP, 1959).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M). As diferenças entre as médias foram analisadas pela análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de *Dunnet's*. A análise estatística foi realizada usando o *GraphPad Prism* 8.0.2O nível de significância para rejeição da hipótese nula foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO

O extrato hidroetanólico de *Plinia peruviana* (EHPP) foi adquirido 1396 g das cascas, que posteriormente foram submetidas à extração com água e etanol (1:1, v/v), essa mistura foi filtrada para eliminação dos resíduos sólidos, concentrada prosseguindo para o processo de liofilização. O sumo da espécie foi preparado a partir de um volume de 1.380 mL. Ao final, obteve-se um rendimento de 4,89% (SPP) e 5,92% (EHPP).

5.2 ANÁLISE QUÍMICA DO EHPP

A prospecção fitoquímica do extrato hidroetanólico de *Plinia peruviana* permitiu qualificar um constituinte da classe dos polifenóis. A partir de uma solução das substâncias químicas de referência (SQR), o ácido gálico (tempo de retenção 10,59 min) e seu respectivo UV foi identificado. Os cromatogramas foram obtidos no comprimento de onda de detecção de 254 nm (Figura 4) e 270 nm (Figura 5) para o ácido gálico, visto que, apresentam maior absorção, além da obtenção dos melhores perfis cromatográficos (FERREIRA et al. 2016).

Figura 4 - Perfil cromatográfico do EHPP no comprimento de onda de 254 nm.

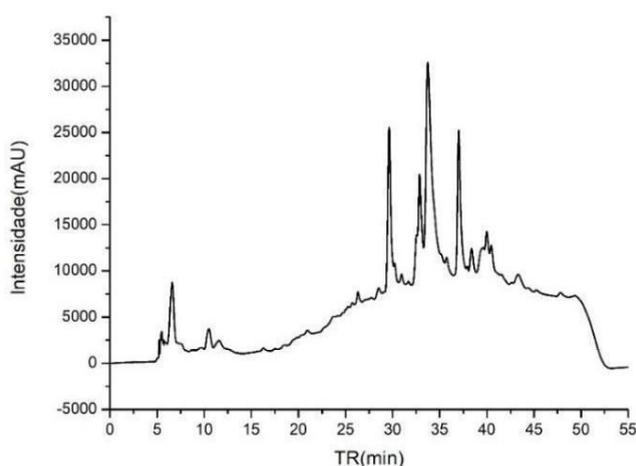
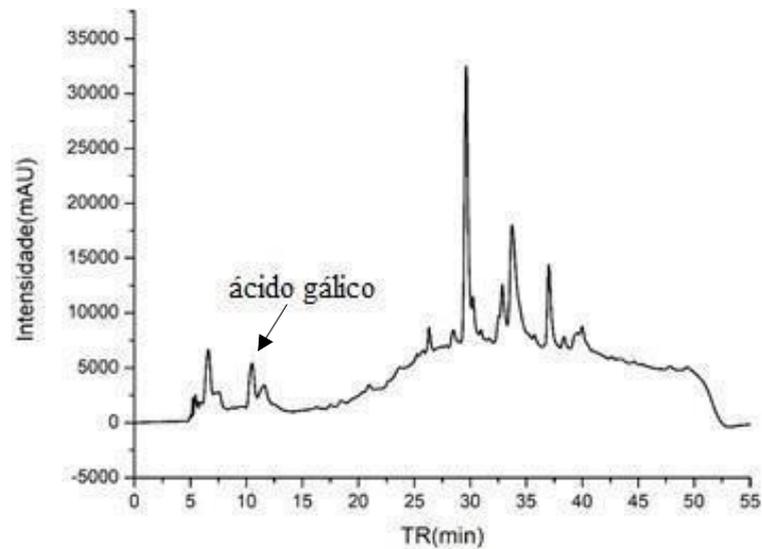


Figura 5 - Perfil cromatográfico do EHPP no comprimento de onda de 270 nm.



Os picos de cromatografia foram obtidos a partir do coeficiente de correlação linear de $R^2 = 0,99$ para o ácido gálico como demonstrado na figura 6. A quantificação foi obtida a partir da equação da reta das SQRs, tendo como resultado a quantidade de SQRs em micrograma (μg) por miligrama (mg) de extrato (Tabela 1).

Figura 6 - Coeficiente de correlação linear do ácido gálico.

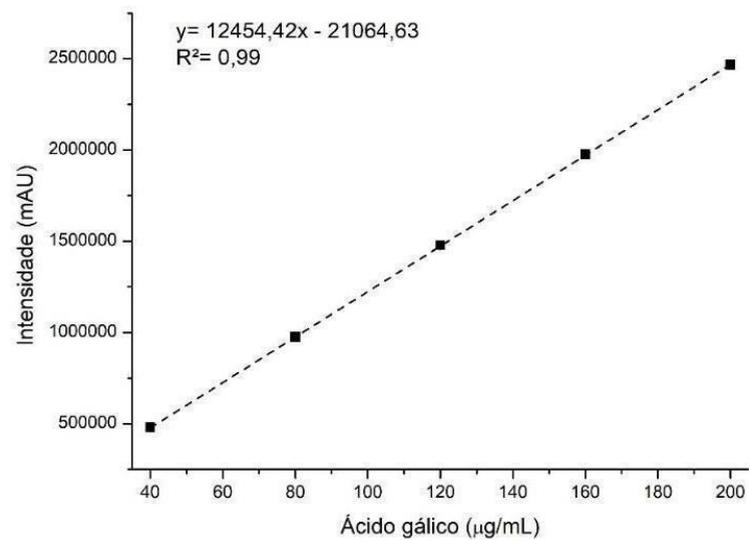


Tabela 1 - Quantidade de ácido gálico em micrograma (μg) por miligrama (mg) de extrato.

Composto	$\mu\text{g}/\text{mg}$ de extrato
ácido gálico	1,34

Plinia peruviana possui sua caracterização química bem esclarecida na literatura, sendo os compostos fenólicos e flavonoides renomados como os principais constituintes da espécie. Francescon et al. (2018) validaram uma diversidade de antocianinas (cianidina, malvidina, cianidina 3-O- glucosídeo) e antocianidinas (delfinidina 3-O- glucosídeo, e malvidina 3-O- glucosídeo) no extrato das cascas de *P. peruviana*. Esses compostos são frequentemente associados ao efeito gastroprotetor de plantas, devido seu potencial antioxidante, que são capazes de sequestrar os radicais livres impedindo a peroxidação lipídica (PITZ et al. 2016). Além destes, a classe dos polifenóis (por exemplo, ácido gálico e ácido elágico) também estão incluídos na composição de *P. peruviana* (GRAZIELA MORAES et al. 2021). Dessa forma é importante ressaltar que o ácido gálico está entre os mais importantes polifenóis, e algumas de suas atividades estão destacadas na tabela 2.

A atividade gastroprotetora do ácido gálico foi recentemente demonstrada por Zhou et al. (2020), onde foi comprovado que o mecanismo envolvido no seu efeito pode ter o envolvimento na via antioxidante Nrf2/HO-1 e um papel antiapoptótico por intermédio da regulação de Bax, Bcl-2 e caspase-3.

Tabela 2 - Atividades biológicas descritas do ácido gálico.

Atividade	Referência
anticâncer	(VERMA; SINGH; MISHRA, 2013)
antioxidante	(KIM, 2007)
antimicrobiana	(LIMA et al. 2016)
antitripanosoma	(KOIDE et al. 1998)
anti-inflamatória gastroprotetora	(KROES et al. 1992) (ZHOU et al. 2020)
antifúngica	(LI et al. 2017)
antinociceptiva e antiedematogênica	(TREVISAN et al. 2014)

5.2 TOXICIDADE AGUDA PRÉ-CLÍNICA

O tratamento agudo por via oral com o sumo (SPP) e extrato hidroetanólico (EHPP) das cascas do fruto de *Plinia peruviana* com uma única dose oral de 5000 mg/kg não produziu nenhum sinal clínico de toxicidade ou morte nos animais no período de 14 dias, demonstrando baixa toxicidade oral. Portanto, optou-se em utilizar $\leq 10\%$ da dose única (5000 mg/kg/v.o.) do SPP e EHPP (100, 250 e 500 mg/kg).

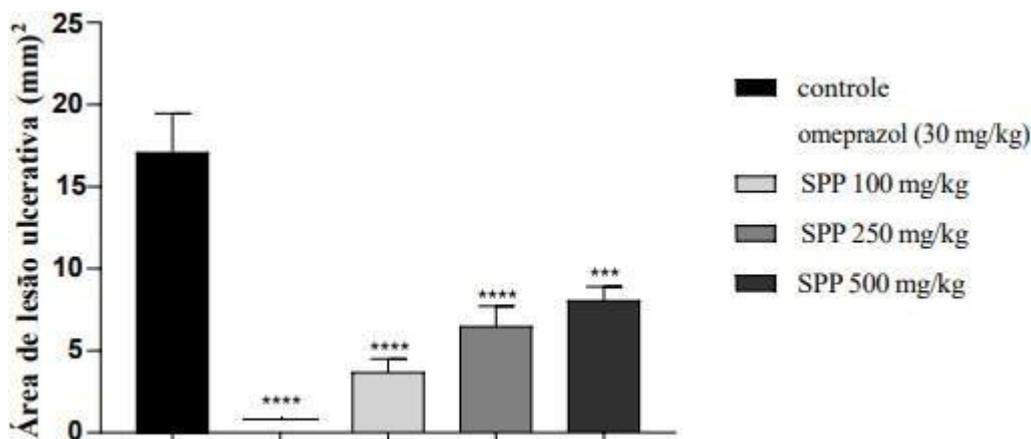
5.3 INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO SPP E EHPP

5.3.1 Lesão gástrica induzida por etanol absoluto

A indução das lesões gástricas promovidas pelo etanol ocasiona diminuição da defesa fisiológica da mucosa gástrica, provocando redução no fluxo sanguíneo local, o que afeta diretamente a atividade das células oxínticas secretoras de muco e pilóricas endócrinas, secretoras de bicarbonato (MINCIS et al. 1995). Além disso, esse agente lesivo ativa outros mecanismos favoráveis a ulceração, como liberação de histamina, influxo de cálcio, produção de leucotrienos e geração de espécies reativas de oxigênio, especialmente a produção do superóxido e radicais de hidroxila, que induzem danos oxidativos por meio de peroxidação lipídica (AL ASMARI et al. 2016).

A administração do etanol 96% (agente indutor das lesões) no grupo controle demonstrou ação efetiva na indução das lesões gástricas. Os tratamentos com o SPP (100, 250 e 500 mg/kg) produziram redução significativa de 78,44; 62,12 e 52,88% respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 7). Com relação aos tratamentos com EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) observou-se redução significativa de 62,31; 70,44 e 41,53% respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 8). O grupo que recebeu omeprazol (30 mg/kg), medicamento utilizado como referência, promoveu inibição significativa de 93,53%.

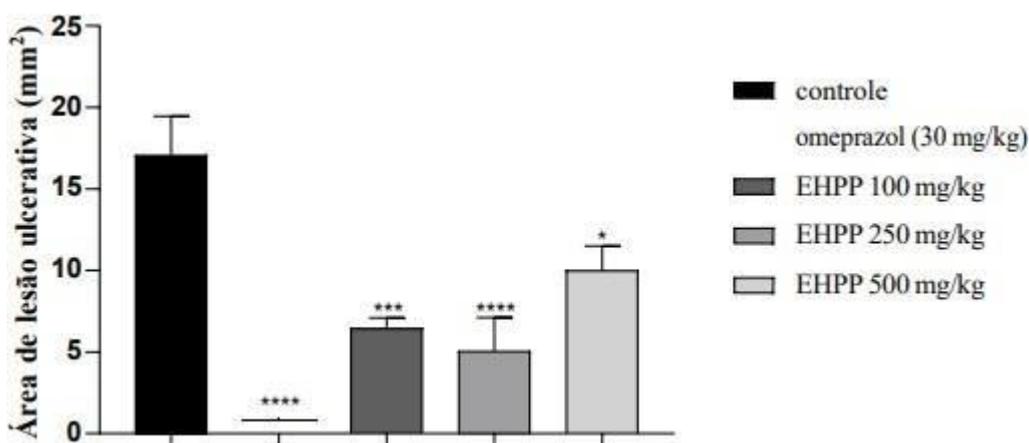
Figura 7 - Efeito do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Grupos: controle (NaCl 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), SPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 8 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Grupos: controle (NaCl 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), EHPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

O modelo de lesões gástricas induzido pelo etanol constitui um dos modelos clássicos para avaliar a atividade gastroprotetora de produtos naturais ou sintéticos em animais. As lesões induzidas experimentalmente em camundongos possuem o mesmo mecanismo para o desenvolvimento das lesões em seres humanos, ou seja, provocando um desequilíbrio entre os

agentes agressores e protetores da mucosa (MORIMOTO et al.1991).

A utilização de cascas e sumo de frutos para tratamento de distúrbios gastrointestinais é prática comum de populações de diferentes localidades. Além disso, várias classes de substâncias oriundas do metabolismo secundário já foram associadas ao efeito gastroprotetor promovido por suas espécies como: polifenóis, flavonoides, taninos, xantonas, alcaloides e saponinas (EWALD et al. 2015; FELÍCIO CALOU; LIMA, 2014).

Nesse modelo o SPP e EHPP apresentaram efeito gastroprotetor significativo em todas as doses avaliadas. As plantas do gênero *Plinia* são ricas em polifenóis e flavonoides e a presença desses compostos possivelmente podem justificar a atividade gastroprotetora de *Plinia peruviana* demonstrada neste estudo.

Resultados semelhantes a este, foi encontrado em um estudo anterior com *Plinia edulis* Ishikawa et al. (2008), que relataram o efeito gastroprotetor do seu extrato em doses semelhantes a esse estudo (100, 200 e 400 mg/kg), frente ao modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto. *Plinia edulis* popularmente conhecida como cambucá é utilizada na Amazônia para as mesmas finalidades medicinais que *P. peruviana*.

Com relação a análise química do EHPP, demonstrou-se a presença do ácidogálico, um composto trifenólico de baixo peso molecular de ocorrência natural, que pode possivelmente estar atuando de forma parcial no efeito gastroprotetor promovido pelo etanol. Em um estudo anterior realizado por Badhani; Sharma; Kakkar (2015) foi demonstrado uma alta eficiência do ácido gálico na eliminação de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica, podendo ser este um dos possíveis mecanismos utilizados pelo EHPP.

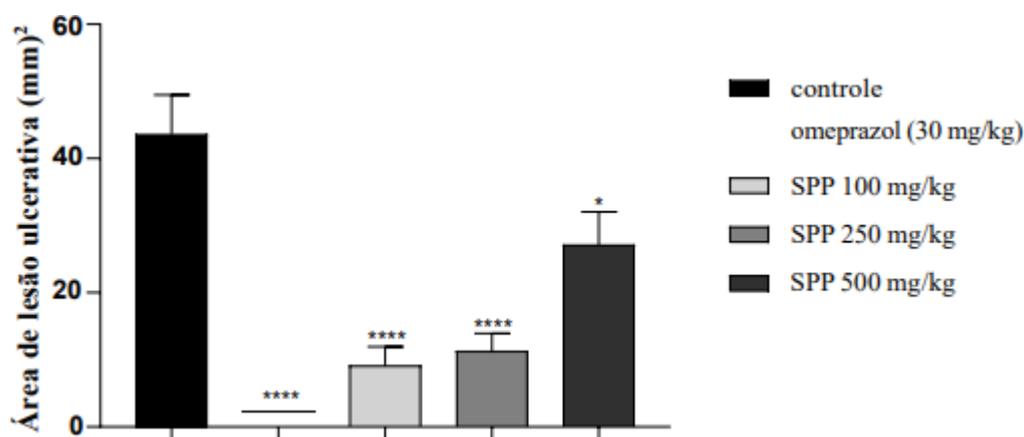
5.3.2 Lesão gástrica induzida por etanol acidificado com ácido clorídrico (HCL)

A indução por etanol acidificado utiliza o mesmo mecanismo de lesão apresentada pela indução por etanol absoluto, entretanto, com o aditivo da ação do ácido clorídrico, um dos agentes agressores endógenos da mucosa gástrica. A indução de lesões gástricas pelo etanol acidificado (solução de 0,3M de HCl em etanol 60%) é amplamente reconhecida e usada em vários estudos, por sua ação lesiva que causa hiperemia localizada e hemorragia (MIZUI; DOTEUCHI, 1983).

A administração do etanol acidificado no grupo controle (NaCl 0,9%) apresentou a maior porcentagem de área lesionada. Os tratamentos com SPP (100, 250 e 500 mg/kg) produziram redução significativa de 79,10; 74,12 e 37,72%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 9). Com relação aos grupos tratados com EHPP (100, 250

e 500 mg/kg), apresentaram redução significativa de 77,61; 78,45 e 37,68%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 10). O grupo tratado com omeprazol (30 mg/kg), promoveu inibição significativa de 93,97% (Figura 9 e 10).

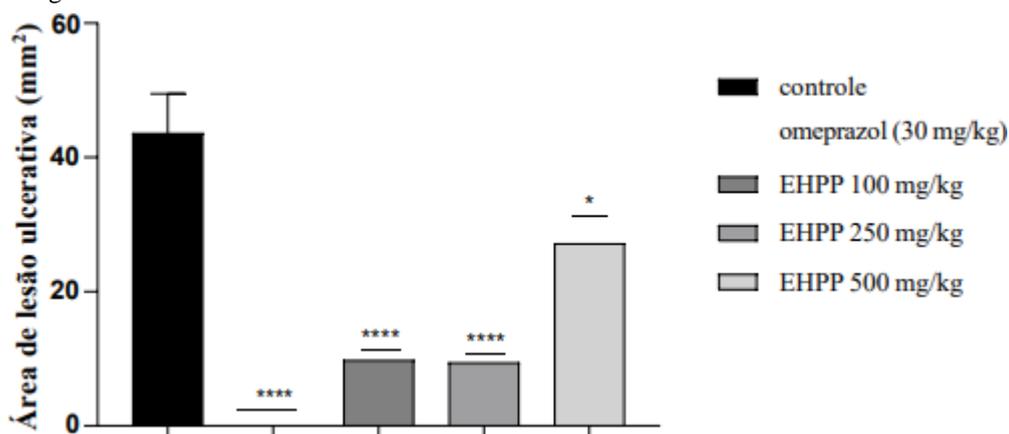
Figura 9 - Efeito do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Grupos: controle (salina 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), SPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (* $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 10 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP sobre as lesões gástricas induzidas por etanol acidificado em camundongos. Grupos: controle (NaCl 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), EHPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (* $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Os resultados do SPP e EHPP no modelo de lesão gástrica induzida pela administração oral de etanol acidificado demonstrou efeito significativo em todas as doses testadas, sugerindo que ambos possuem atividade protetora eficiente. Tal atividade, pode estar relacionada com o

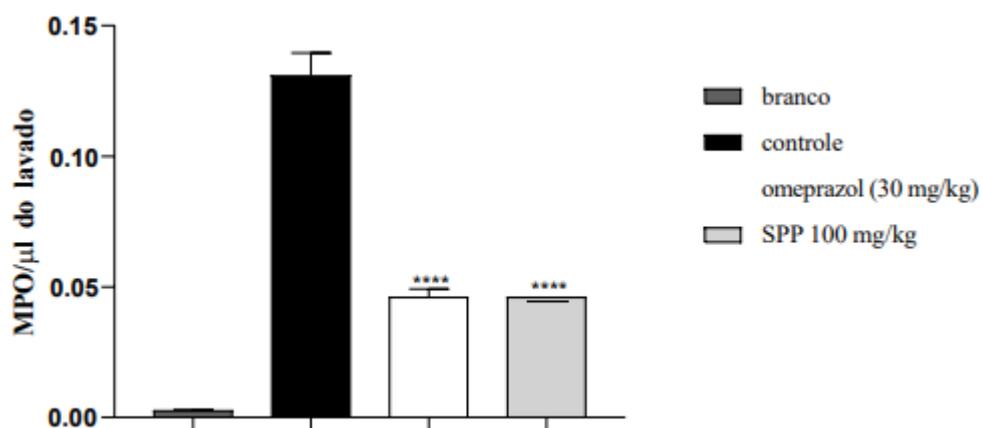
aumento de elementos que atuam na proteção da mucosa gástrica, como por exemplo, muco e bicarbonato, uma vez que inibiram a formação de lesões nos modelos até aqui apresentados.

A lesão provocada por este modelo também está relacionada à redução de compostos sulfidrílicos e o aumento de peróxidos e compostos como glutatona reduzida (GSH), cisteína e cisteamina, responsáveis por promoverem a citoproteção contra este tipo de indução (EWALD et al. 2015). O ácido gálico, possui atividade antioxidante, e atua aumentando os níveis desses mediadores durante um desequilíbrio oxidativo (KIM, 2007). Portanto, é possível sugerir que esse pode ser um dos constituintes, que em parte, pode estar atuando na gastroproteção promovida por *P. peruviana*.

5.3.2.1 Determinação da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO)

A enzima mieloperoxidase (MPO) foi avaliada a partir dos tecidos lesionados (lesões induzidas por etanol acidificado). É uma enzima presente dentro dos lisossomos dos neutrófilos. Quando ocorre estímulo inflamatório, os neutrófilos sofrem um processo de degranulação, liberando-a no citoplasma. A MPO é responsável por formar o ácido hipoclorídrico, esse ácido, apresenta ação tóxica sobre bactérias, como *Helicobacter pylori*, sendo também lesivo para as células do tecido (MALLE et al. 2007). Neste modelo, os tratamentos com SPP, EHPP (100 mg/kg) e omeprazol (30 mg/kg) promoveram diminuição significativa na atividade da enzima MPO de 64,87; 49,84 e 64,83%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 11 e 12).

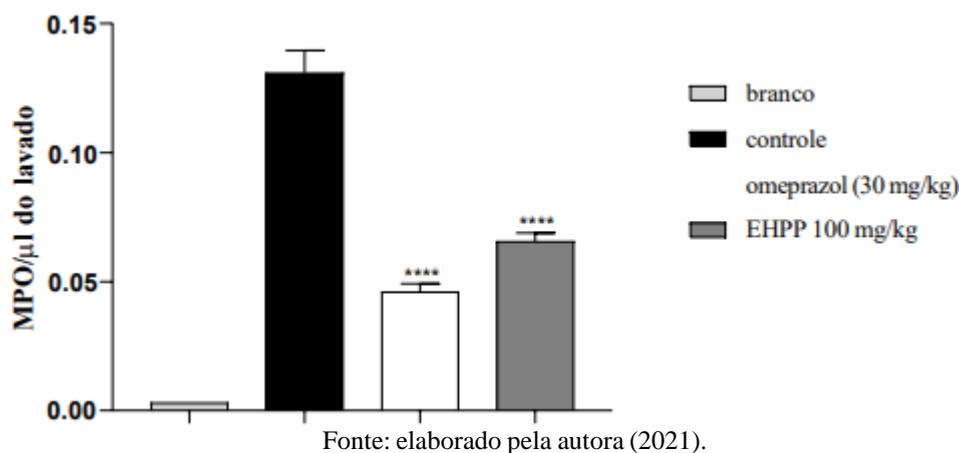
Figura 11 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem de mieloperoxidase (MPO).



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol acidificado na dosagem da enzima mieloperoxidase. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 12 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem de mieloperoxidase (MPO).



Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol acidificado na dosagem da enzima mieloperoxidase. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) paragrupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* (**** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Nesse estudo, é possível observar que a atividade da MPO, foi diminuída quando os animais foram submetidos ao tratamento com o SPP e EHPP, sugerindo que possa ter ocorrido inibição na migração de neutrófilos para o tecido, o que consequentemente ocasionou em menores danos a mucosa, promovendo o efeito gastroprotetor observado em ambos. Esse resultado pode ser comparado ao resultado obtidos com o ácido gálico sobre a atividade da MPO, que revelou sua interferência direta na inibição da liberação ena atividade da mieloperoxidase (KROES et al. 1992).

Outras espécies de jaboricaba como *Myrciaria cauliflora* e *Plinia cauliflora*, demonstraram efeitos anti-inflamatórios *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. Sendo estas atividades atribuídas aos seus metabolitos secundários, principalmente taninos e ácidos fenólicos, como o ácido gálico (BRITO et al. 2021; ZHAO et al. 2019).

5.3.3 Lesão gástrica induzida por indometacina

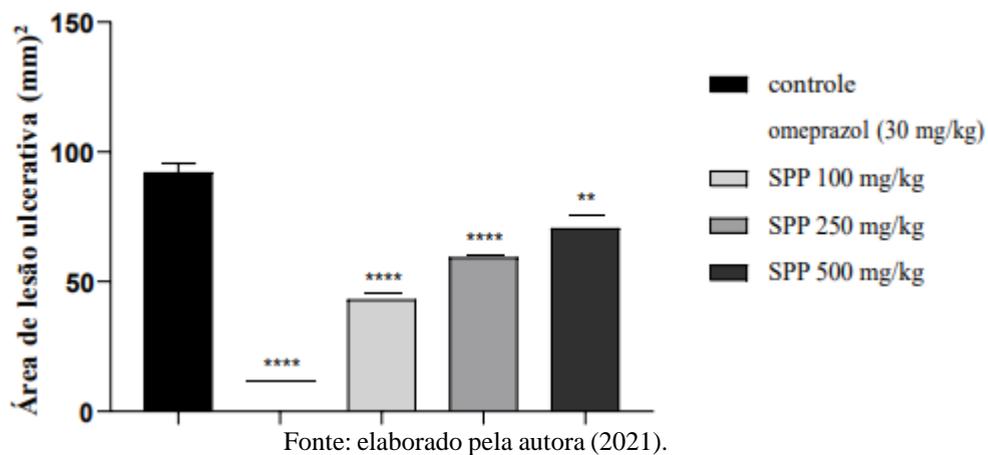
As lesões induzidas com a utilização de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como a indometacina, ocorre pela inibição das enzimas cicloxigenases que são responsáveis pela síntese de prostaglandinas, que possuem ações cruciais na proteção damucosa, uma vez que, inibem a secreção gástrica, aumentam a quantidade de muco, e por serem caracterizadas como substâncias vasodilatadoras que garantem o aporte nutritivo necessário para o bom

funcionamento celular (WALLACE, 2005). Os AINEs quando ingeridos a longo prazo, podem provocar danos no endotélio vascular, reduzindo o fluxo sanguíneo e ativando neutrófilos (FRISANCHO VELARDE, 1997).

No modelo de lesões gástricas induzido por indometacina o grupo controle (NaCl,0,9%, v.o.) demonstrou uma ação efetiva na indução das lesões gástricas. O tratamento do SPP (100, 250 e 500 mg/kg) produziu redução significativa de 53,19; 35,55 e 22,84% respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 13). Os tratamentos com EHPP (100, 250 e 500 mg/kg)

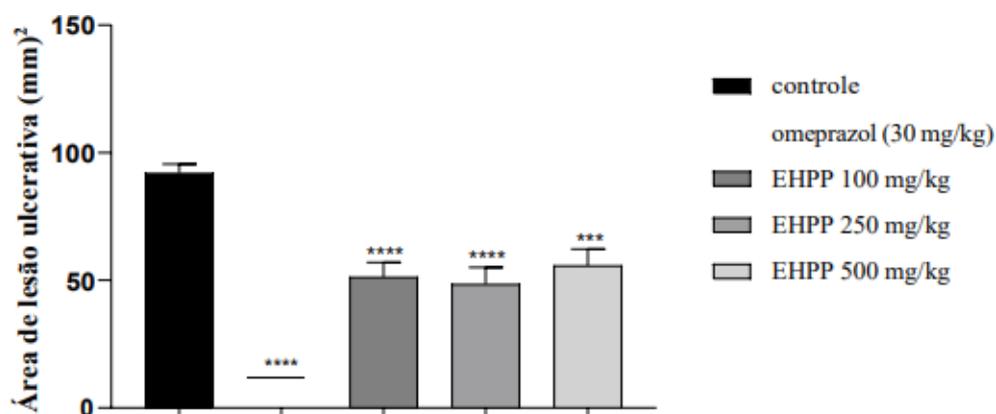
produziram redução significativa de 44,27; 47,27 e 39,39% respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 14). O grupo que recebeu omeprazol (30 mg/kg), promoveu inibição significativa de 85,37%.

Figura 13 - Efeito do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.



Efeito do SPP sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Grupos: controle (salina 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), SPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 14 - Efeito do EHPP (100, 250 e 500 mg/kg) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em camundongos. Grupos: controle (NaCl 0,9%, v.o.), omeprazol (30 mg/kg, v.o.), EHPP (100, 250, 500 mg/kg, v.o.). Os valores apresentam amédia aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* ($^{***}p < 0,001$; $^{****}p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Lesões induzidas experimentalmente por indometacina são consideradas ferramentas de extrema importância para o estudo da patogênese de lesões na mucosa gástrica e como teste para o desenvolvimento de novas substâncias com potencial gastroprotetor. Nesse estudo, tanto o SPP como o EHPP, apresentaram efeitos significantes em todas as doses avaliadas.

Vários extratos vegetais e sumos de frutos são estudados devido aos seus potenciais efeitos gastroprotetores em modelos de lesões induzidas por indometacina: *Eugenia mattosii* (DOS SANTOS et al. 2018), *Cordia Myxa* (ABDALLAH; KHATTABA; HEEBAB, 2011) e *Vitex agnus-castus* (OGALY et al. 2021). Em todas essas espécies, os compostos fenólicos, apresentam-se como compostos majoritários, sendo seu efeito atribuído a estes.

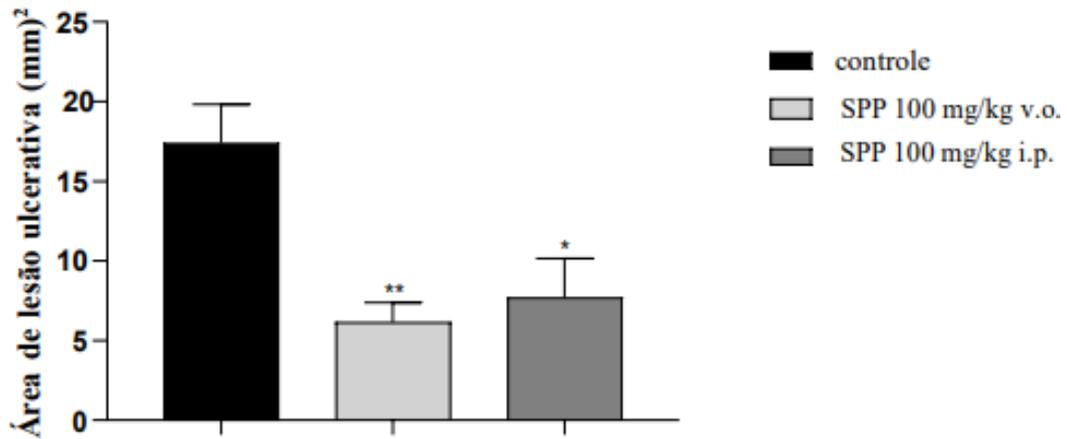
5.4.4 Teste de barreira física

O teste de barreira física permitiu descartar a hipótese que o SPP ou EHPP estivessem agindo apenas como uma proteção física, exercendo, portanto, uma ação mecânica de formação de uma película de SPP ou EHPP sobre a mucosa, a qual impediria que o etanol removesse a camada de muco. A menor dose efetiva (100 mg/kg) encontrada a partir dos experimentos anteriores, foi a eleita para ser avaliada no teste de barreira.

Neste modelo, os tratamentos com SPP via oral e intraperitoneal (100 mg/kg), reduziu de forma significativa as lesões dos estômagos dos animais, após a indução com o etanol em 64,71 e 55,81% respectivamente quando comparado ao grupo controle (Figura 15). Em adição,

os tratamentos com EHPP, reduziram significativamente a lesões em 74,35 e 60,68%, quando comparado ao grupo controle (Figura 16). Esses dados descartam a hipótese de que o SPP e EHPP possam atuar por meio de uma barreira física na parede do estômago, pois demonstraram efeito gastroprotetor significativo pelas vias sistêmica e oral.

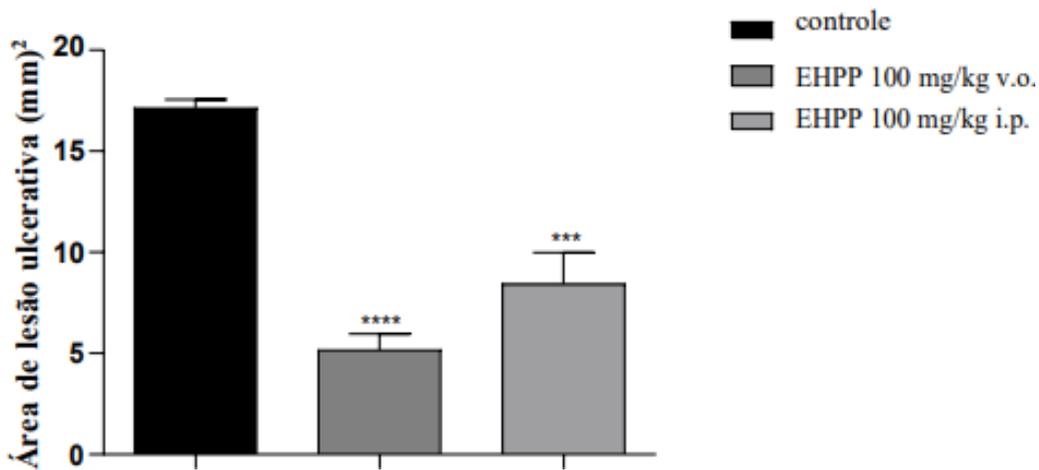
Figura 15 - Efeito do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) sobre as lesões agudas induzida por etanol em camundongos no teste de barreira física.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito gastroprotetor do SPP (100 mg/kg, v.o. e i.p.) em lesões aguda induzida por etanol absoluto no teste de barreira física. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$, quando comparado ao grupo controle).

Figura 16 - Efeito do EHPP (100 mg/kg) sobre as lesões agudas induzida por etanol em camundongos no teste de barreira física.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito gastroprotetor do EHPP (50 mg/kg, v.o. e i.p.) em lesões aguda induzida por etanol absoluto no teste de barreira física. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle).

Considerando os resultados promissores e inéditos apresentados pelo SPP e EHPP na gastroproteção, bem como, a demonstração de que ambos não possuem efeito de barreira, sequencialmente, foi caracterizado se esta ação estaria relacionada a mecanismos descritos a seguir.

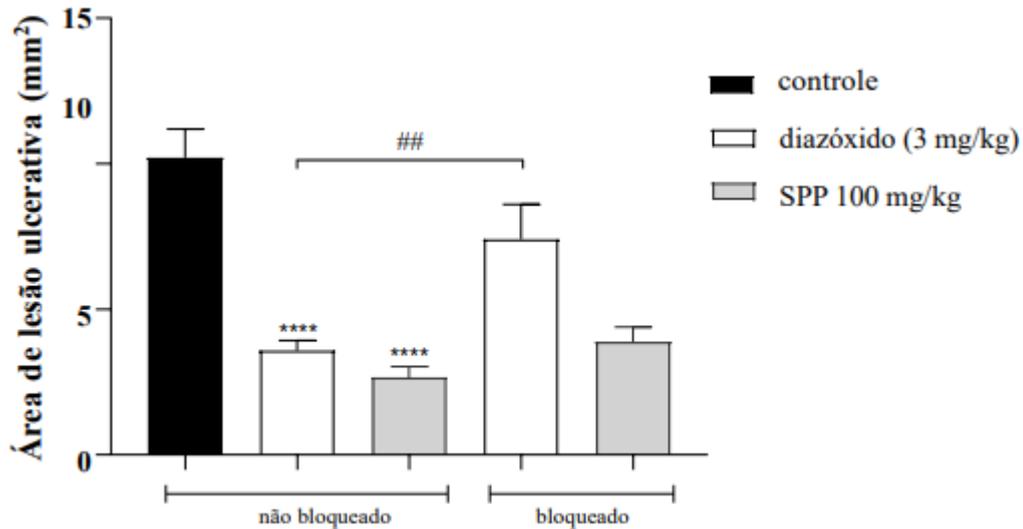
5.4 AVALIAÇÃO DOS FATORES DE PROTEÇÃO DA MUCOSA (CANALIS DE POTÁSSIO ATP-DEPENDENTES, PROSTAGLANDINAS E₂, MUCO ADERIDO A MUCOSA GÁSTRICA, RECEPTORES HISTAMÍNICOS, ALFA- 2 ADRENÉRGICOS, ÓXIDO NÍTRICO, NITRITO E NITRATO, GRUPAMENTOS SULFIDRILAS E ANTIMUSCARÍNICOS).

Os canais de potássio desempenham atividades fisiológicas importantes no estômago, essas atividades incluem regulação da ativação de fibras aferentes no relaxamento dos vasos que suprem a mucosa, atuação na modulação da secreção de mucogástrico e proteção contra agentes lesivos (CHEN et al. 2019).

A glibenclamida é um bloqueador destes canais, sua ação é decorrente da redução da permeabilidade das células ao íon K^+ , despolarizando-a e provocando influxo de Ca^{2+} , induzindo dessa forma uma vasoconstrição no estômago e reduzindo o fluxo sanguíneo, favorecendo, a formação de lesões na mucosa (DE SALES et al. 2018).

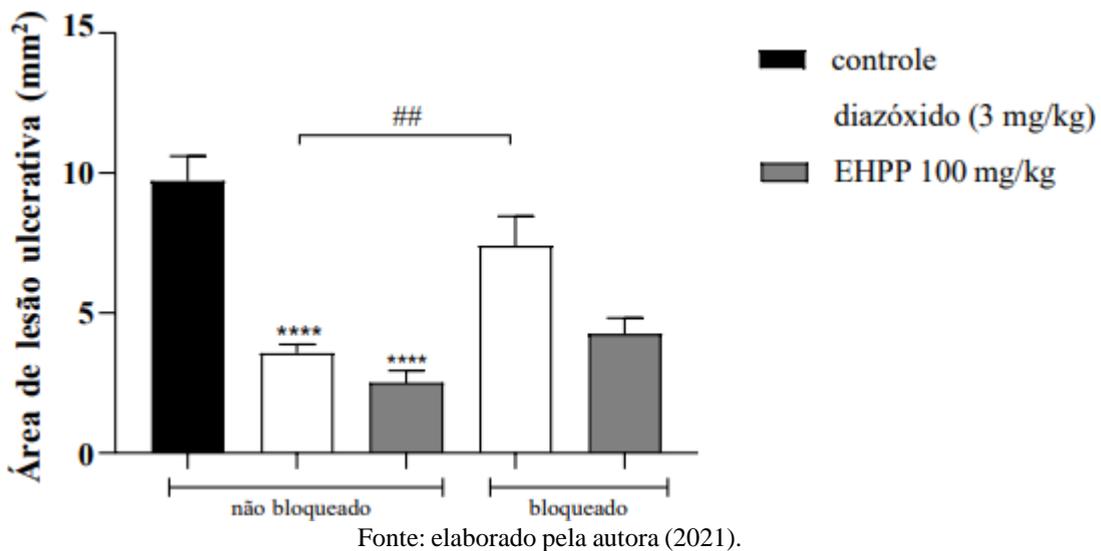
Em relação a participação de canais de potássio, os tratamentos com SPP, EHPP (100 mg/kg, v.o.) ou diazóxido (3 mg/kg, i.p.), reduziram de forma significativa as lesões gástricas, após a indução com o etanol à 96% em 73,97; 74,35 e 65,01%, respectivamente quando comparado ao grupo controle. A participação destes canais foi evidenciada realizando-se um pré-tratamento com glibenclamida (5 mg/kg, i.p.), bloqueador de canal de K^+ , antes da administração do SPP, EHPP ou diazóxido. Observou-se que a resposta inibitória do diazóxido foi significativamente revertida na presença de glibenclamida, enquanto as respostas do SPP e do EHPP não foram alteradas estatisticamente na presença desse bloqueador. Dessa forma, os resultados sugerem que o efeito gastroprotetor tanto do SPP como EHPP parecem não envolver essa via (Figura 17 e 18).

Figura 17 - Efeito do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.



Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos canais de potássio ATP-dependentes. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle). (## $p < 0,01$, quando comparado na ausência e presença de glibenclamida).

Figura 18 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com glibenclamida.



Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos canais de potássio ATP-dependentes. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle). (## $p < 0,01$ quando comparado na ausência e presença de glibenclamida).

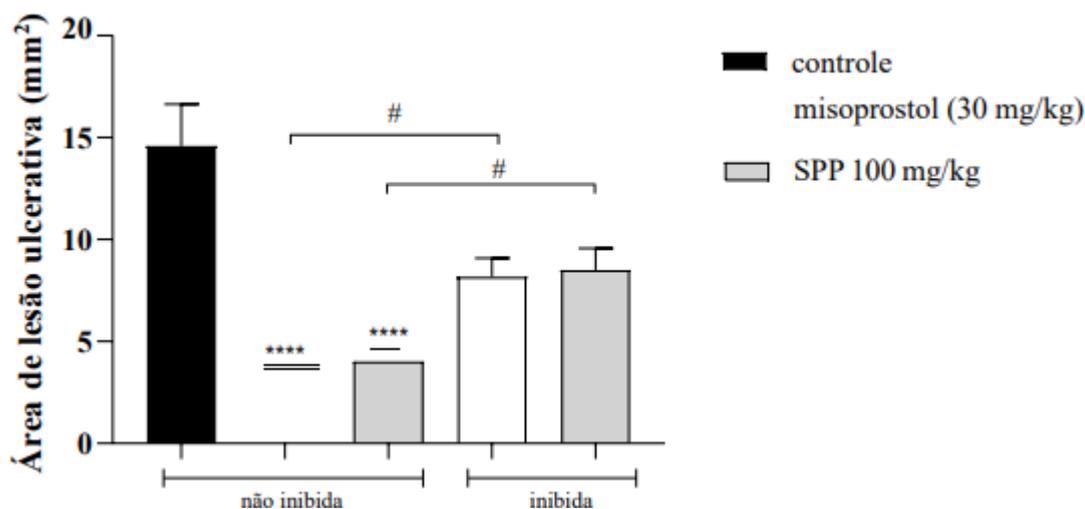
As prostaglandinas, especialmente a PGE2 constituem importantes protetores da mucosa gástrica, pois além de mediar o fluxo sanguíneo e secreção de muco, também atuam na regulação do pH gástrico (WALLACE, 2008). A produção e liberação de muco é diretamente

influenciada pelas prostaglandinas e indiretamente pelo NO por meio do aumento da microcirculação gástrica e de compostos sulfidrilas (FAURE; LAFOND, 1995).

O misoprostol é um análogo sintético de prostaglandina, que promove ação gastroprotetora em virtude do aumento da secreção de muco e bicarbonato, mediado pelos receptores EP3, nas células gástricas superficiais responsáveis pela sua produção (GOLDBERG; GREENBERG; DARNEY, 2001).

Nesse ensaio, os grupos tratados como SPP, EHPP (100 mg/kg, v.o.) e misoprostol (0,016 mg/kg, v.o.), um análogo sintético da PGE1, reduziram significativamente as lesões gástricas em 72,63; 74,04 e 75,66% quando comparado ao grupo controle. Para o entendimento desta via de ação foi realizado pré- tratamento com indometacina (10 mg/kg, v.o.), inibidor não seletivo das COX, antes da administração do SPP, EHPP e misoprostol. Os resultados demonstram que quando os animais do grupo SPP, EHPP e misoprostol, receberam pré- tratamento com indometacina, houve reversão parcial no efeito gastroprotetor do SPP, EHPP e do misoprostol, revelando, dessa forma uma provável ação do SPP na via da PGE2 (Figura 19 e 20).

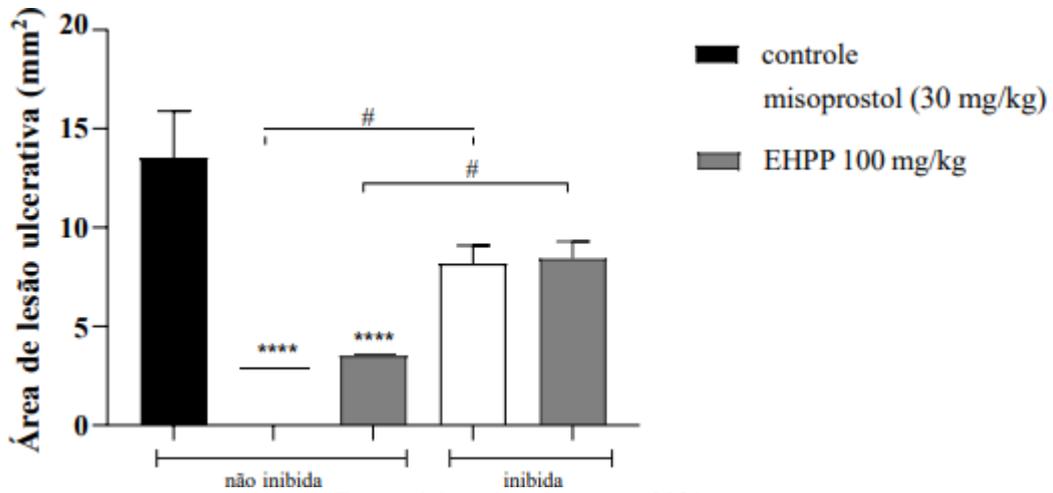
Figura 19 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com indometacina.



Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização da prostaglandina E₂. Os valores apresentam a média aritmética ± E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). (# $p < 0,05$ quando comparado na situação de ausência e presença da indometacina).

Figura 20 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em

camundongos pré-tratados com indometacina.

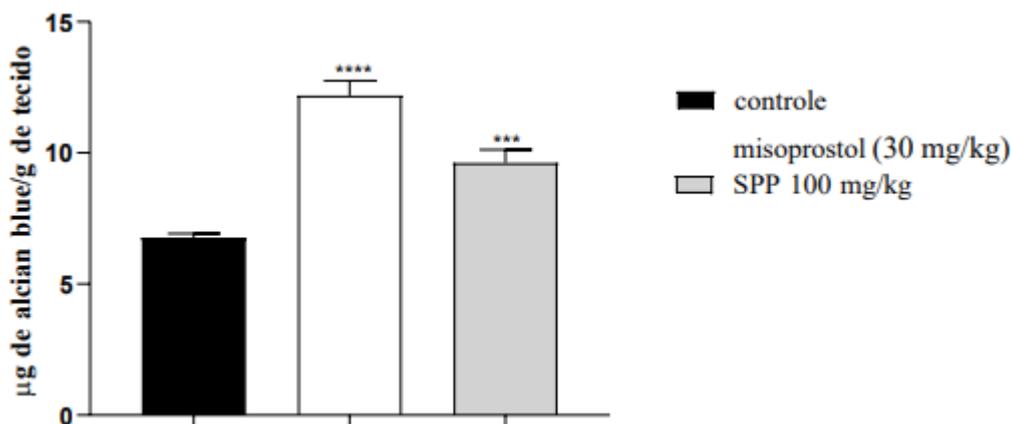


Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização da prostaglandina E2. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* ($^{****}p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle). ($^{\#}p < 0,05$ quando comparado na situação de ausência e presença da indometacina).

A partir dos dados obtidos no ensaio de muco, foi possível deduzir que os animais que receberam SPP, EHPP (100 mg/kg) e misoprostol (0,016 mg/kg, v.o.) apresentaram aumento significativo na produção de muco em 142,56; 127,7 e 180,44%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (NaCl 0,9%, v.o.) conforme pode ser visto (Figura 21 e 22). Diante do aumento na produção de muco observado, é plausível uma possível participação nos receptores EP3 no mecanismo de ação do SPP e EHPP.

O estudo realizado por De Sales et al. (2018) corrobora com estes achados, uma vez que, foi observado uma reversão do efeito gastroprotetor nos animais pré-tratados com indometacina, além disso, esse fármaco também reduziu a proteção do tecido gástrico mediada pelo extrato etanólico de *Cissampelos sympodialis*. Essa espécie é rica em substâncias como flavonoides e compostos fenólicos, as quais foram correlacionadas aos efeitos observados.

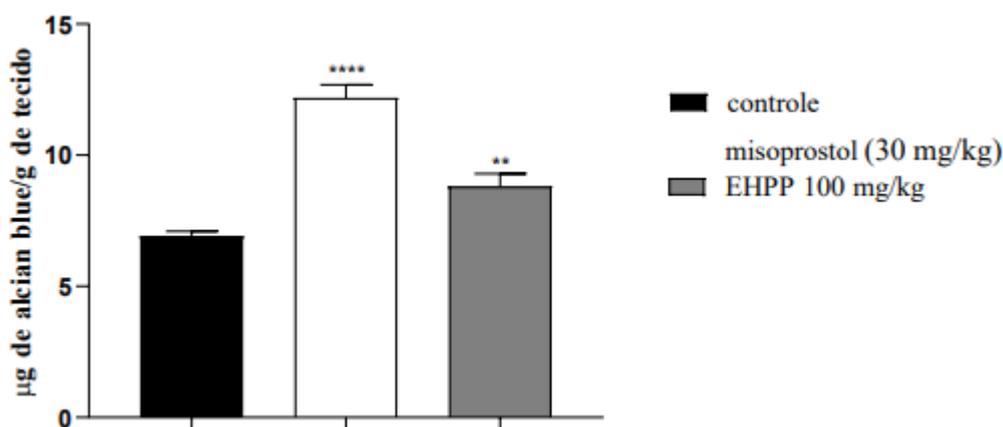
Figura 21 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol na determinação do muco aderido a mucosa gástrica.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto para a determinação de muco aderido a mucosa. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 22 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol na determinação do muco aderido a mucosa gástrica.



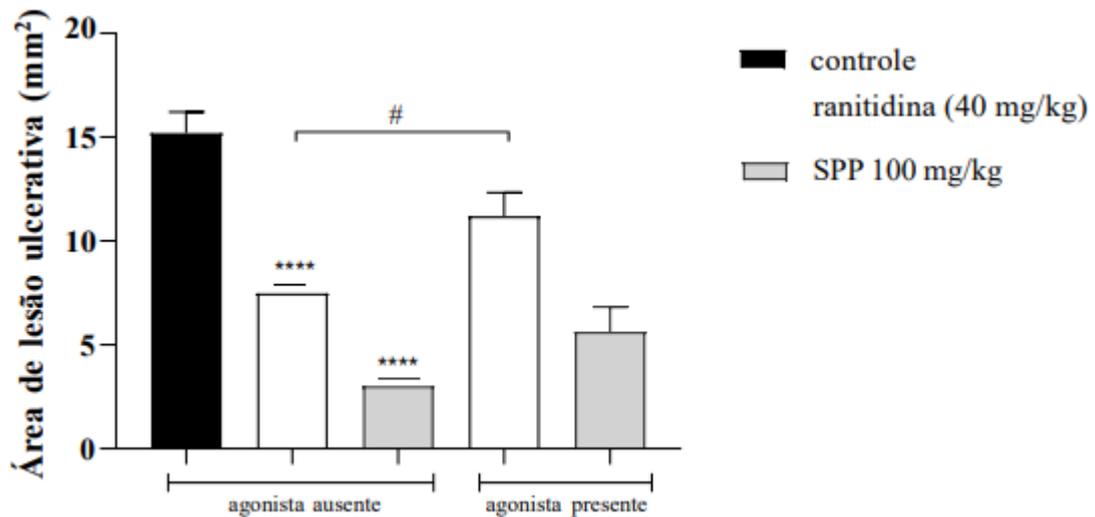
Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto para a determinação de muco aderido a mucosa. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$; ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle).

A histamina é produzida no estômago pelas células enterocromafins (ECL) e é liberada após alguns estímulos promovidos pela gastrina e acetilcolina. Quatro subtipos de receptores de histamina foram identificados, denominados H1, H2, H3 e H4 (SCHUBERT; PEURA, 2008). Quando liberada no estômago, se difunde em direção ao seu alvo, as células parietais, ocasionando a secreção gástrica pela ativação dos receptores histaminérgicos (H2) presentes nessas células. A histamina também pode estimular a secreção de forma indireta, ao

se ligar nos receptores H3 que estão acoplados nas célulasD produtoras de somatostatina (SCHUBERT, 2015). No estudo do possível envolvimentos dos receptores de histamina (H2) os grupostratados com SPP, EHPP (100 mg/kg) e ranitidina (40 mg/kg) um antagonista de receptor histaminérgico H₂, reduziram de maneira significativa as lesões gástricas, apresentando percentuais de 80,15; 63,37; e 50,77%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle. Com relação, aos grupos que receberam a histamina (2 mg/kg), um dos estimulantes da secreção gástrica, observou-se que o pré-tratamento não foi capaz de reduzir de forma de forma significativa o efeito protetor do SPP e EHPP, quando comparado ao grupo não antagonizado. Por outro lado, o pré-tratamento foi capaz de reverter a ação da ranitidina. Nesse estudo, não ficou indicado o envolvimento dos receptores H₂, pois, a histamina não conseguiu reverter a gastroproteção induzida pelo SPP. Isso sugere que o efeito gastroprotetor do SPP não possui relação com esta via (Figura 23 e 24).

Figura 23 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com histamina.

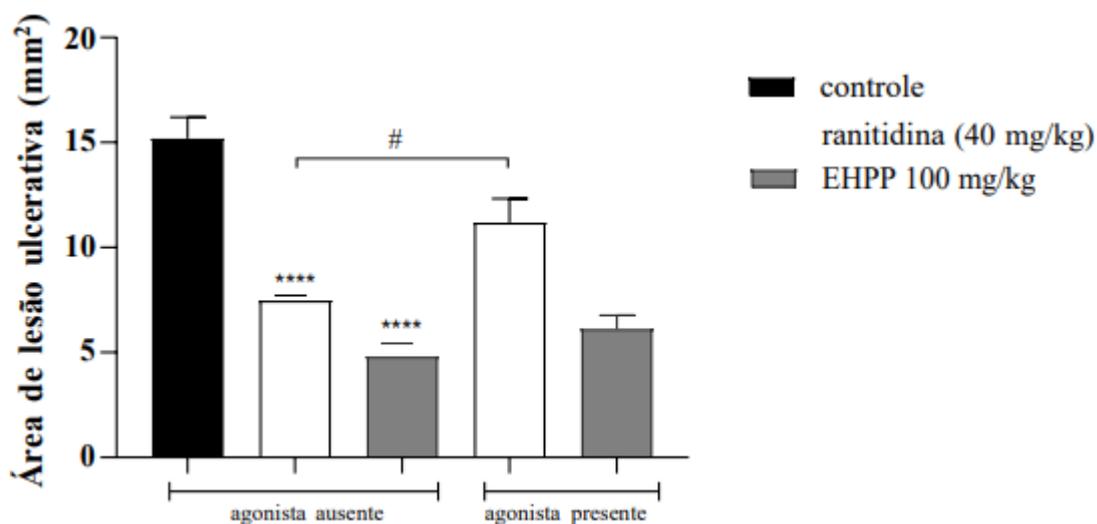


Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos receptores H₂. Os valores apresentam a média aritmética ± E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**p<0,01; ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle). (#p<0,05 quando comparado na ausência e presença de histamina).

Figura 24 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em

camundongos pré-tratados com histamina.



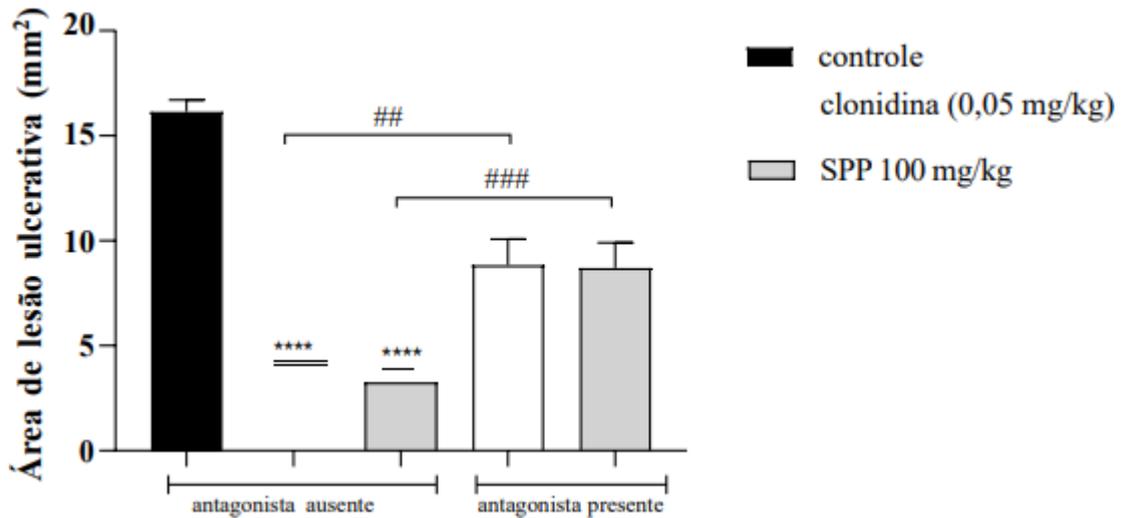
Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos receptores H_2 . Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* ($****p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). ($\#p < 0,05$ quando comparado na ausência e presença de histamina).

Os receptores α_2 adrenérgicos centrais e periféricos atuam na inibição da motilidade intestinal, e na regulação do fluxo sanguíneo e da secreção de ácido gástrico (GYIRES, TOTH e ZÁDORI, 2015). Esses receptores possuem papel importante no desenvolvimento de úlceras gástricas, como já anteriormente documentado em camundongos (ZÁDORI et al. 2011). Nesse modelo, os tratamentos com SPP, EHPP (100 mg/kg) e pelo agonista alfa-2 adrenérgico clonidina (0,05 mg/kg) por via oral, reduziram de forma significativa as lesões dos estômagos dos animais, após a indução com o etanol em 80,05; 78,26 e 74,44%, respectivamente quando comparado ao grupo controle. Os grupos dos animais que tiveram o receptor antagonizado pelo pré- tratamento com ioimbina (antagonista adrenérgico α_2 seletivo), observou-se um processo de reversão parcial do efeito gastroprotetor da clonidina, SPP e EHPP (Figura 25 e 26).

A clonidina, utilizada nesse mecanismo, se trata de um inibidor da secreção ácida que é estimulada pelo nervo vago ou pela pentagastrina. Por outro lado, a ioimbina, estimula a secreção de ácido (BLANDIZZI et al. 1995), e nesse estudo foi capaz de reverter a ação gastroprotetora da clonidina, SPP e EHPP. Este resultado revela que, provavelmente, o SPP e EHPP, estejam agindo nestes receptores, contribuindo na inibição da secreção gástrica e dessa forma conferindo efeito protetor sobre a mucosa gástrica.

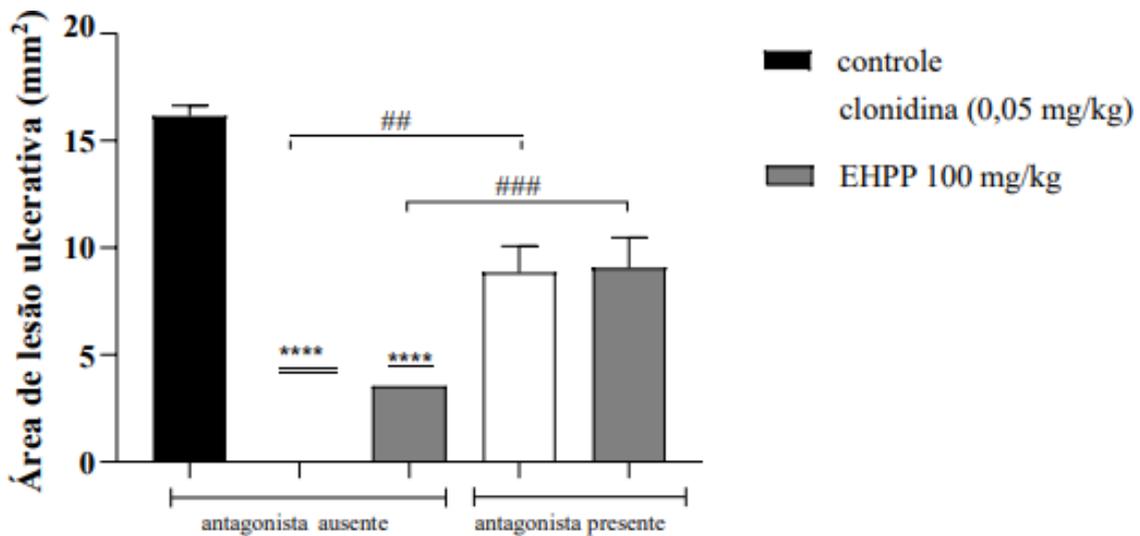
Figura 25 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com ioimbina.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos receptores alfa-2 adrenérgicos. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* ($****p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). ($##p < 0,01$; $###p < 0,001$ quando comparado na situação de ausência e presença de ioimbina).

Figura 26 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com ioimbina.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização dos receptores alfa-2 adrenérgicos. Os valores apresentam a média aritmética \pm E.P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* ($****p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). ($###p < 0,001$; $##p < 0,01$, quando comparado na situação de ausência e presença de ioimbina).

O óxido nítrico é produzido pela enzima sintase do óxido nítrico, e na mucosa gástrica encontrasse envolvido na manutenção da integridade por meio da regulação da secreção de

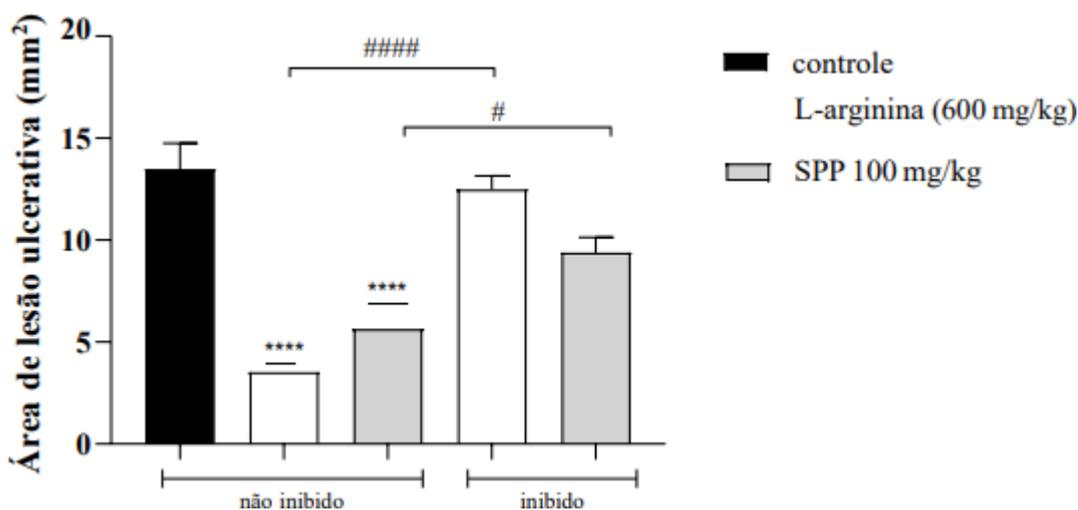
muco, bicarbonato e ácido gástrico e manutenção do fluxo sanguíneo (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). O NO atua também como um agente anti- inflamatório, uma vez que, inibe à agregação de neutrófilos e a aderência de leucócitos ao endotélio vascular (SANTIN et al. 2013).

Nesse mecanismo, o grupo tratado oralmente com SPP, EHPP (100 mg/kg) e L- arginina (600 mg/kg), mostraram após a administração do etanol absoluto, um percentual de inibição de 58,19; 55,46 e 73,89% quando comparado ao grupo controle.

A participação do óxido nítrico foi comprovada por intermédio de pré- tratamento com L-NAME (20 mg/kg, i.p), que reverteu o efeito protetor da L- arginina, SPP e EHPP. De acordo com estes dados, é provável, que ambos tenham o envolvimento desta via, uma vez que o L-NAME, um inibidor da síntese do NO, reverte de forma significativa à proteção da mucosa produzida pelo SPP e EHPP (Figura 27 e 28).

Em estudo realizado por Santin et al. (2013) foi observado um controle no influxo de neutrófilos e fluxo sanguíneo micro circulatório mediado pelo NO em lesões gástricas. Vale ressaltar, que esse mesmo efeito também foi observado no presente estudo (determinação da atividade da mieloperoxidase), onde foi demonstrado que a migração de neutrófilos para a mucosa gástrica foi diminuída nos grupos tratados com SPP e EHPP. Possivelmente, pode ter ocorrido a participação do óxido nítrico durante o processo de inibição desta enzima.

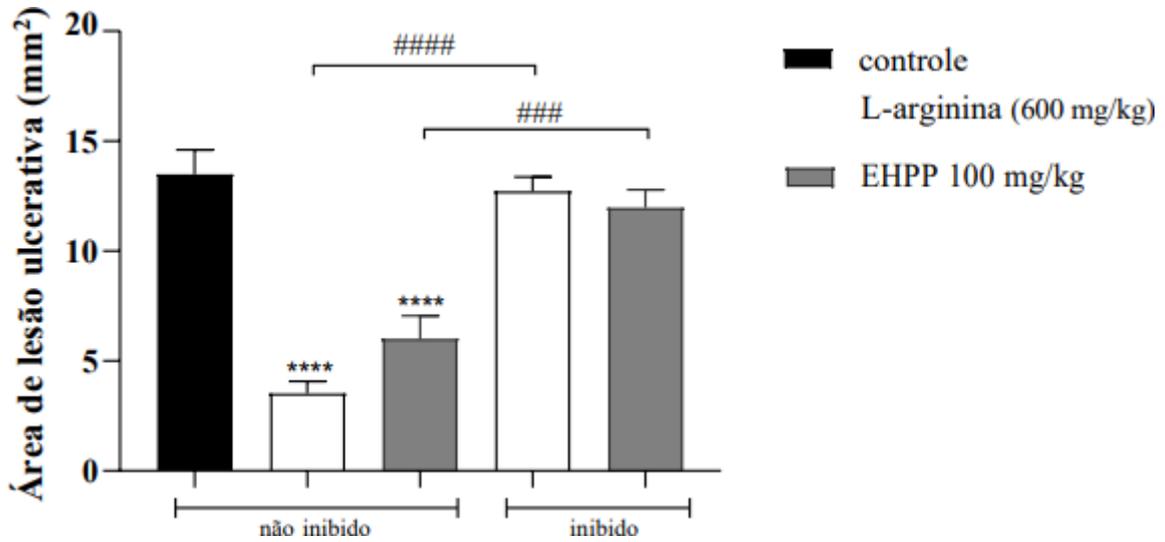
Figura 27 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização do óxido nítrico. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (**** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). (# $p < 0,05$; ##### $p < 0,0001$ quando comparado na ausência e presença de L-NAME).

Figura 28 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com L-NAME.



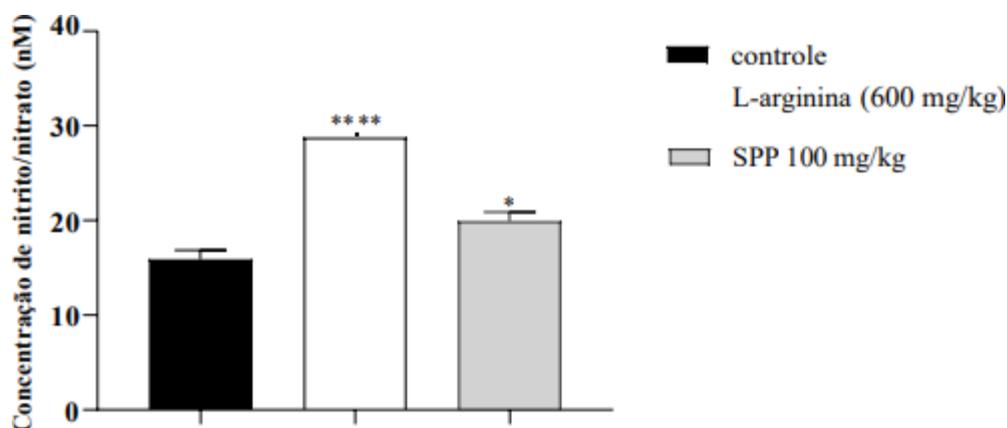
Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização do óxido nítrico. Os valores apresentam a média aritmética ± E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de Dunnett's (****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle). (###p<0,001; ####p<0,0001 quando comparado na ausência e presença de L-name).

Na tentativa de complementar a investigação do papel do NO na proteção gástrico SPP e EHPP os níveis de nitrito (NO²⁻) e nitrato (NO³⁻) foram dosados, a partir dos homogenatos dos estômagos. Estes íons são produtos do metabolismo endógeno do NO, os quais necessitam serem oxidados no sangue e nos tecidos para que ocorra sua formação (MATSUDA; LI; YOSHIKAWA, 1999).

Os resultados mostraram que o grupo pré-tratado com SPP, EHPP e L-arginina (600 mg/kg) apresentaram níveis de nitrito relevantes sendo 125,42%; 139,96 e 180,86%, respectivamente quando comparado ao grupo controle (Figura 29 e 30), corroborando com os resultados anteriores, dessa forma, sugere-se a participação do NO no efeito protetor induzido tanto pelo SPP como pelo EHPP.

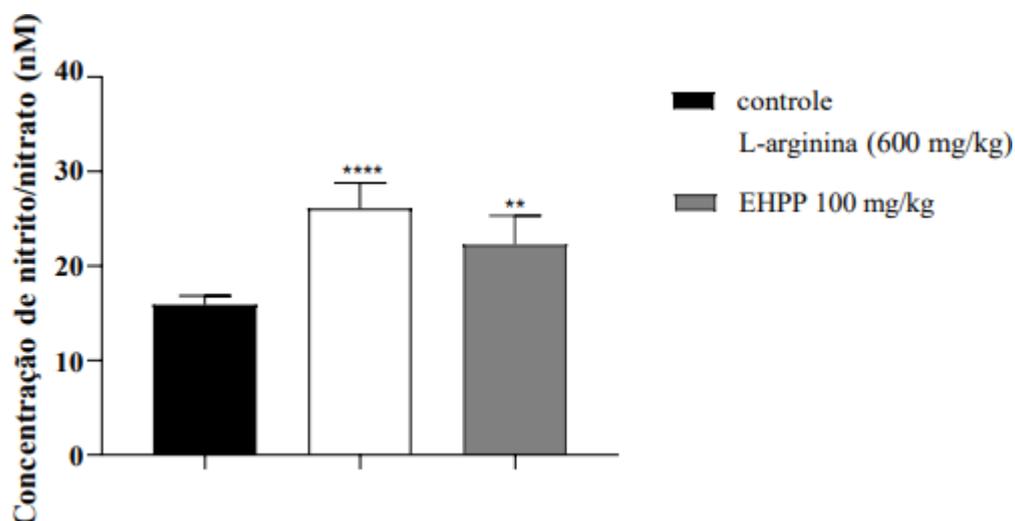
Figura 29 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem do nitrito e nitrato.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na dosagem de nitrito e nitrato. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* (* $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 30 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos na dosagem do nitrito e nitrato.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na dosagem de nitrito e nitrato. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnett's* (** $p < 0,01$ **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle).

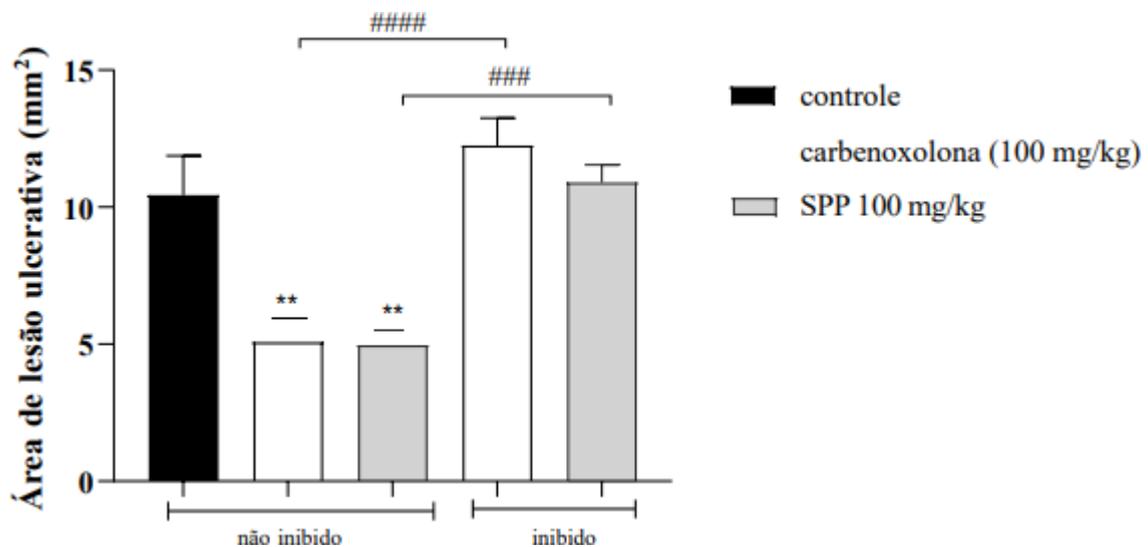
Os grupamentos SH participam da proteção da mucosa pela ligação aos radicais- livres, exercendo, portanto, um importante um efeito antioxidante (SÁNCHEZ- MENDOZA et al. 2011). Além disso, formam pontes de dissulfeto entre as subunidades do muco, impedindo a sua separação (BALAN et al. 2014). Eles estão presentes na glutatona, uma substância endógena que, em sua forma reduzida, tem importância na redução do estresse oxidativo, por

eliminar radicais livres, reduzir os peróxidos e se complexar com compostos eletrolíticos de maneira a proteger suas unidades celulares proteicas, como DNA e lipídeos (FAURE; LAFOND, 1995).

Nesse ensaio, o grupo tratado com o SPP, EHPP (100 mg/kg, v.o.) e carbenoxolona (100 mg/kg v.o.) apresentaram percentuais de inibição das lesões gástricas de 52,51; 61,19 e 51,45% quando comparado ao grupo controle. Para elucidar a participação de grupamento sulfidrílicos na gastroproteção, foi realizado um pré- tratamento com o NEM (N-etilmaleimida), um inibidor de grupamentos sulfidrílicos. Os tratamentos com SPP, EHPP e carbenoxolona foram capazes de reverter totalmente o efeito gastroprotetor, indicando a participação de ambos nesta via (Figura 31 e 32).

Muitos produtos naturais exercem atividades gastroprotetoras por meio da modulação dos grupamentos sulfidrilas. Zakaria et al. (2016) demonstraram em seu estudo que os mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor do extrato de *Muntingia calabura L.* São mediados por estes grupamentos associado ao ácido gálico

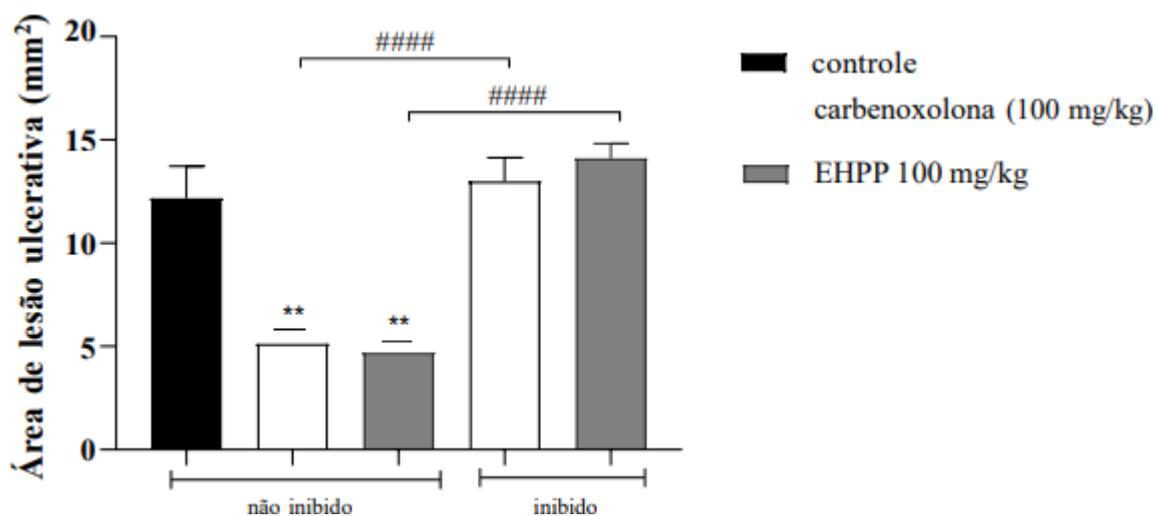
Figura 31 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos pré-tratados com NEM (N-etilmaleimida).



Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização de grupamentos SH. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle). (### $p < 0,001$; #### $p < 0,0001$, quando comparado quando comparado na ausência e presença de NEM).

Figura 32 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) em lesões gástricas induzidas por etanol em

camundongos pré-tratados com NEM (N-etilmaleimida).



Fonte: elaborado pela autora (2021).

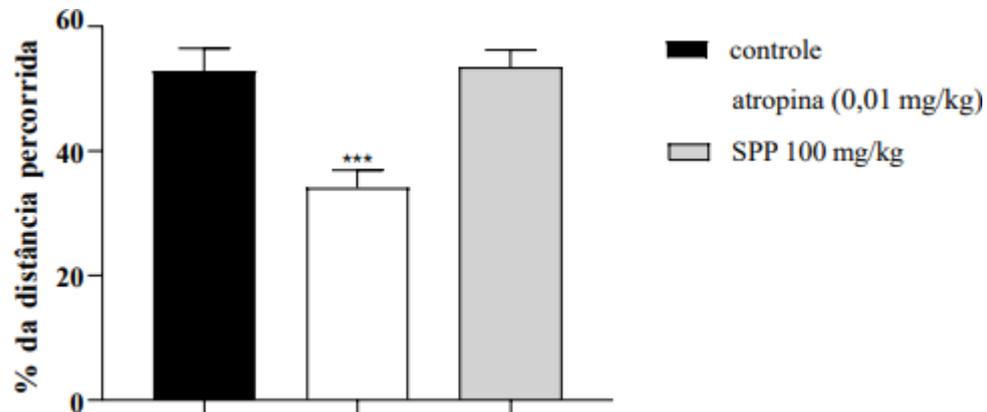
Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre as lesões agudas induzidas por etanol absoluto na via de sinalização de grupamentos SH. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (***) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle). (####) $p < 0,0001$ quando comparado quando comparado na ausência e presença de NEM).

5.5 AVALIAÇÃO DA MOTILIDADE INTESTINAL

5.5.1 Trânsito intestinal

O ensaio do trânsito intestinal em camundongos é essencial para o entendimento da influência de determinadas substâncias sobre a motilidade digestiva. O tratamento com o antagonista muscarínico atropina reduziu significativamente a motilidade intestinal, apresentando um percentual de 35,41% quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, os grupos que receberam o tratamento com SPP e EHPP (100 mg/kg) não foram estatisticamente diferentes do grupo controle. Dessa forma, sugere-se que o SPP e o EHPP não apresentam ação antimuscarínica na motilidade gastrointestinal (Figura 33 e 34).

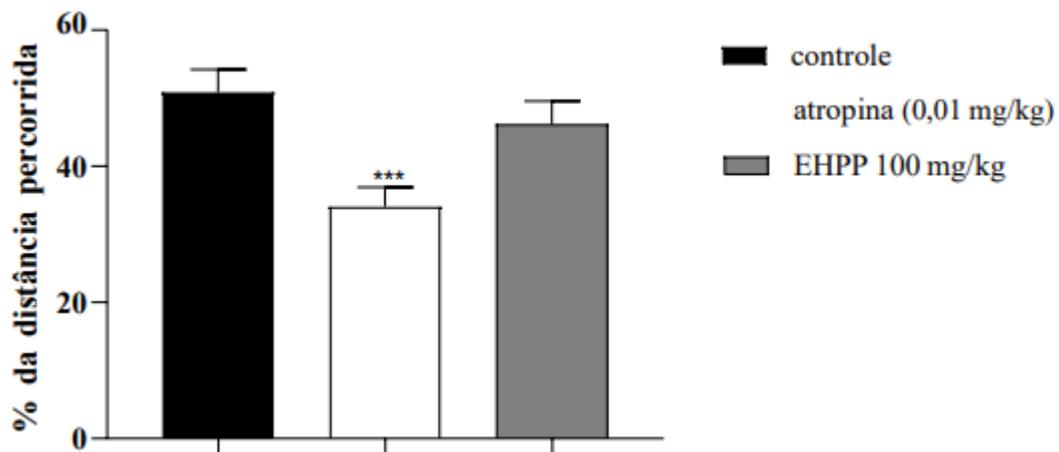
Figura 33 - Efeitos do sumo de *Plinia peruviana* (SPP) no deslocamento intestinal em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do SPP (100 mg/kg, v.o.) sobre o deslocamento intestinal de camundongos. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle).

Figura 34 - Efeitos do extrato de *Plinia peruviana* (EHPP) no deslocamento intestinal em camundongos.



Fonte: elaborado pela autora (2021).

Efeito do EHPP (100 mg/kg, v.o.) sobre o deslocamento intestinal de camundongos. Os valores apresentam a média aritmética \pm E. P. M (erro padrão da média) para grupo de 6 animais. ANOVA de uma via seguida do teste de *Dunnnett's* (** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle).

6 CONCLUSÃO

O sumo e o extrato hidroetanólico de *Plinia peruviana* apresentaram efeito gastroprotetor nos modelos de lesão gástrica avaliados, cujos mecanismos envolvem a participação de diferentes vias como: inibição da MPO, receptores $\alpha 2$ -adrenérgicos, síntese de NO, participação dos grupamentos SH e estimulação da secreção de muco mediado por prostaglandinas.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, I. Z. A.; KHATTABA, H. A. H.; HEEBAB, G. H. Gastroprotective effect of *Cordia Myxa* L. fruit extract against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. **Life Science Journal**, v. 8, n. 3, p. 433–445, 2011.

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1679–1687, 2012.

AL ASMARI, A. et al. Vanillin abrogates ethanol induced gastric injury in rats via modulation of gastric secretion, oxidative stress and inflammation. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 105–113, 2016.

ALLEN, A.; FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: Protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, v. 288, n. 1 57-1, 2005.

AUXILIADORA, M.; KAPLAN, C. Uso Medicinal De Espécies Das Famílias Myrtaceae E Abstract Medicinal Uses of Species From Myrtaceae and Melastomataceae. **Floresta e Ambiente**, p. 47–52, 2006.

AZEVEDO, L. F. et al. Evidence of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Plinia edulis* leaf infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, p. 178–182, 2016.

BADHANI, B.; SHARMA, N.; KAKKAR, R. Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. **RSC Advances**, v. 5, n. 35, p. 27540–27557, 2015.

BALAN, T. et al. Antiulcer activity of *Muntingia calabura* leaves involves the modulation of endogenous nitric oxide and nonprotein sulfhydryl compounds. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 4, p. 410–418, 2014.

BIGHETTI, Aparecida Érica; ANTÔNIO, Márcia Aparecida; DE CARVALHO, João Ernersto. Regulação e modulação da secreção gástrica. **Revista de Ciências Médicas**, v. 11, n. 1, 2002

BLANDIZZI, Corrado et al. Characterization of α 2-adrenoceptor subtypes involved in the modulation of gastric acid secretion. **European journal of pharmacology**, v. 278, n. 2, p. 179-182, 1995.

BONET, Joan Truyols; EGEA, Antonio Martínez; HEROLA, Ana García. Úlcera gástrica y duodenal. 2015. BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BRADLEY, P.; CHRISTENSEN, D. water. v. 60, n. 3, p. 618–622, 1982.

BRAGA, L. L. B. C. et al. Fundamentos da Fisiopatologia da Úlcera Péptica e do Câncer Gástrico. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**, p. 731–750, 2016.

BRITO, T. G. DA S. et al. Anti-inflammatory, hypoglycemic, hypolipidemic, and analgesic activities of *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Brazilian grape) epicarp. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 268, p. 113611, 2021.

CHEN, H. et al. Protective effects of β -glucan isolated from highland barley on ethanolinduced gastric damage in rats and its benefits to mice gut conditions. **Food Research International**, v. 122, n. November 2018, p. 157–166, 2019.

COSTA, A. G. V. et al. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical redblack berries. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 539–549, 2013a.

COSTA, C. G. et al. Wood anatomy of myrciaria, neomitranthes, plinia and siphoneugena species (myrteae, myrtaceae). **IAWA Journal**, v. 34, n. 3, p. 313–323, 2013b.

DANNER, M. A. et al. Seedling development of jabuticaba fruit trees (*Plinia* sp.) in different substrates and sizes of containers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 179–182, 2007.

DANGELO, J. G; FATTINI, C.A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar**. São Paulo: Editora Atheneu, 2007.

DONADIO, L.C. **Jaboticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg)**. Jaboticabal, Brasil: FUNEP, 2000.

DONG, Mamie H.; KAUNITZ, Jonathan D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current opinion in gastroenterology**, v. 22, n. 6, p. 599-606, 2006.

DRAKE, Richard L. **Gray anatomia para estudantes**. Elsevier Brasil, 2005.

DE LIMA PAULA, P. et al. Pharmacological investigation of antioxidant and antiinflammatory activities of leaves and branches extracts from *Plinia cauliflora* (Jaboticaba). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 280, n. August, 2021.

DE SALES, I. R. P. et al. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 222, p. 190–200, 2018.

DOS SANTOS, L. et al. Phytochemical profile and gastroprotective activity of *Eugenia mattosii* fruits. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 55, n. 2, p. 138–141, 2018.

EWALD, B. T. et al. Atividade gastroprotetora do extrato etanólico de *Pavonia alnifolia* A.St.-Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 392–397, 2015.

ENCICLOPÉDIA BRITÂNICA ON LINE: Stomach: Structure. Disponível em: <<http://www.britanica.com/EBchecked/media/68634/structure-of-the-human-stomach-the-somach-has-three-layers>> Acesso em: 15 de junho de 2020.

FAURE, P.; LAFOND, J. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl. p. 3–4, 1995.

FELÍCIO CALOU, I. B.; LIMA, L. A. R. A ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA *Maytenus ilicifolia* e GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF *Maytenus ilicifolia* AND. **REVISTA SAÚDE E CIÊNCIA On line**, v. 3, n. 2, p. 33–42, 2014.

FRANSCESCON, F. et al. Protective role of jaboticaba *Plinia peruviana* peel extract in copper-induced cytotoxicity in *Allium cepa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 35, p. 35322–35329, 2018.

FERREIRA, M. R.; FERNANDES, M. T.; SILVA, W. A.; BEZERRA, I. C., SOUZA, T. P.; PIMENTEL, M. F.; SOARES, L. A. Chromatographic and spectrophotometric analysis of phenolic compounds from fruits of *Libidibia ferrea* Martius. **Pharmacognosy Magazine**, v. 12, n. Suppl 2, p. S285, 2016.

FRISANCHO VELARDE, Frisancho. Gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos. **Bol. Soc. Peru. Med. Interna**, p. 109-114, 1997.

GALVÃO, B. V. D. et al. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Jaboticaba) leaf extract: In vitro anti-*Trypanosoma cruzi* activity, toxicity assessment and phenolic-targeted UPLCMSE metabolomic analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, n. February, 2021.

GRAZIELA MORAES, G. et al. Preliminary phytochemical analysis and evaluation of the antioxidant and anti-proliferative effects of *Plinia peruviana* leaves: an in vitro approach. **Natural Product Research**, v. 35, n. 5, p. 836–844, 2021.

GOLDBERG, Alisa B.; GREENBERG, Mara B.; DARNEY, Philip D. Misoprostol and pregnancy. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 1, p. 38-47, 2001.

GOODMAN-GILMAN, As Bases Farmacológicas da. la Terapéutica. 2006.

GREEN, Laura C.; TANNENBAUM, Steven R.; GOLDMAN, Peter. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56-58, 1981.

GYIRES, K.; TOTH, V.E.; ZADORI, Z.S. Gastric mucosal protection: from the periphery to the central nervous system. **J Physiol Pharmacol**, v.66, p. 319-329, 2015.

HACKE, A. C. M. et al. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. C2206–C2217, 2016.

ISHIKAWA, T. et al. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, n. 3, p. 527–529, 2008.

HALL, John E. **Guyton & hall physiology review e-book**. Elsevier Health Sciences, 2015.

HANSON, Rick. **O cérebro de Buda: neurociência prática para a felicidade**. Alaúde Editorial, 2011

HAMILTON, W. J. **Tratado de anatomia humana**. 2 a ed. Rio de Janeiro: Interamericana.1982.

KROES, BH vd et al. Anti-inflammatory activity of gallic acid. **Planta medica**, v. 58, n. 06, p. 499-504, 1992.

KIM, Y. J. Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 6, p. 1052–1055, 2007.

KOIDE, T. et al. Trypanocidal effects of gallic acid and related compounds. **Planta Medica**, v. 64, n. 1, p. 27–30, 1998.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: Atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciencia Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283– 1287, 2006.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41–60, 2008.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: An illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p. 508–536, 1997.

LATTUADA, D. S.; DE SOUZA, P. V. D.; GONZATTO, M. P. Enxertia herbácea em Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1285–1288, 2010.

LANAS, Angel. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis research & therapy**, v. 10, n. 2, p. 1-6, 2008.

LORENZI, Harri. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo in natura**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LI, Z. J. et al. Antifungal Activity of Gallic Acid In Vitro and In Vivo. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 7, p. 1039–1045, 2017.

LIMA, N. F. *Bjscr* 5 (3). v. 5, n. February, 2014.

LIMA, V. N. et al. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 56– 61, 2016.

MACHADO, G. H. A. et al. Antibacterial activity and in vivo wound healing potential of phenolic extracts from jaboticaba skin. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 92, n. 1, p. 1333–1343, 2018.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MALLE, E. et al. Myeloperoxidase: A target for new drug development? **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 6, p. 838–854, 2007.

MALONE, M. H. *Pharmacological Approaches to Natural Product Screening and Evaluation*. n. 1, p. 23–53, 1977.

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

MAZZARINO, L. et al. Jaboticaba (*Plinia peruviana*) extract nanoemulsions: development, stability, and in vitro antioxidant activity. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 4, p. 643–651, 2018.

MINCIS, Moyses et al. Etanol e o trato gastrointestinal. **Arq. gastroenterol**, p. 131-9, 1995.

MONTROSE, David C. et al. The role of PGE2 in intestinal inflammation and tumorigenesis. **Prostaglandins & other lipid mediators**, v. 116, p. 26-36, 2015.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; AGUR, A. M. **Clinically Oriented Anatomy**, Taylor, C., Ed. 2013.

MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of Polyamines on Acidified Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 33, n. 5, p. 939–945, 1983.

MORAIS, L. M. F. DE; CONCEIÇÃO, G. M. DA; NASCIMENTO, J. DE M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica E Distribuição Geográfica. **Agrarian academy**, v. 1, n. 1, p. 317–346, 2014.

MORIMOTO, Y. et al. Effects of the New Anti-Ulcer Agent KB-5492 on Experimental Gastric Mucosal Lesions and Gastric Mucosal Defensive Factors, as Compared to Those of Teprenone and Cimetidine. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 495–505, 1991.

NESELLO, L. A. N. et al. Screening of Wild Fruit Trees With Gastroprotective Activity in Different Experimental Models. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 54, n. 2, p. 135– 138, 2017.

O'CONNOR, Anthony; O'MORÁIN, Colm. Digestive function of the stomach. **Digestive diseases**, v. 32, n. 3, p. 186-191, 2014.

OECD. Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. **Test**, n. October, p. 1–21, 2008.

OGALY, H. A. et al. Gastroprotective effects and metabolomic profiling of Chasteberry fruits against indomethacin-induced gastric injury in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 86, p. 104732, 2021.

OLBE, L.; CARLSSON, E.; LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: The case

histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 2, p. 132–139, 2003.

PITZ, H. D. S. et al. In Vitro Evaluation of the Antioxidant Activity and Wound Healing Properties of Jaboticaba (*Plinia peruviana*) Fruit Peel Hydroalcoholic Extract. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

PINTO, Ana Leonor Neto. **Anti-histamínicos H3: Uma nova classe terapêutica**. 2012. Tese de Doutorado. [sn].

RAAFAT, K.; EL-DARRA, N.; SALEH, F. A. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of *Prunus cerasus* phytochemicals and their possible mechanisms of action. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 10, n. 4, p. 345–353, 2020.

RADAELLI, J. C. et al. Repeatability based on growth behavior of jaboticabeira tree genotypes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 5, p. 1–4, 2018.

RADAELLI, J. C. et al. Adaptability and stability of jaboticaba tree genotypes based on plant growth. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 42, p. 1–7, 2020.

RAFATULLAH, S. et al. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 1, p. 25–34, 1990.

RAHGOZAR, M. et al. Diazoxide, a KATP opener, accelerates restitution of ethanol or indomethacin-induced gastric ulceration in rats independent of polyamines. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 16, n. 3, p. 290–296, 2001.

RAMSAY, Philip T.; CARR, Aaron. Gastric acid and digestive physiology. **Surgical Clinics**, v. 91, n. 5, p. 977-982, 2011.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 385-390, 2007.

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do

cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215–1221, 2011.

ROZZA, A. L. et al. Effect of menthol in experimentally induced ulcers: Pathways of gastroprotection. **Chemico-Biological Interactions**, v. 206, n. 2, p. 272–278, 2013.

RUÍZ-NARVÁEZ, C. E. et al. Helicobacter pylori, peptic ulcer and gastric cancer. **Revista Facultad de Medicina**, v. 66, n. 1, p. 103–106, 2018. S.

TARNAWSKI, A.; AHLUWALIA, A. Molecular Mechanisms of Epithelial Regeneration and Neovascularization During Healing of Gastric and Esophageal Ulcers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 16–27, 2012.

SÁNCHEZ-MENDOZA, M. E. et al. Bioassay-guided isolation of an anti-ulcer compound, tagitinin C, from Tithonia diversifolia: Role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 665–674, 2011.

SANTIN, J. R. et al. Role of an Indole-Thiazolidine Molecule PPAR Pan-Agonist and COX Inhibitor on Inflammation and Microcirculatory Damage in Acute Gastric Lesions. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, p. 1–13, 2013.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 598–603, 2010.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. Artmed editora, 2010.

SOBRAL, M. Alterações nomeclaturais em plinia (Myrtaceae). **Boletim do Museu Botânico de Curitiba, Curitiba**, n. 63, p. 1-4, 1985.

SOBRAL, M. et al. Myrtaceae: Lista de espécies da flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015.

STICKNEY, J. Clifford; NORTHUP, David W. Effect of gastric emptying upon propulsive motility of small intestine of rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and**

Medicine, v. 101, n. 3, p. 582-583, 1959.

SCHUBERT, M. L. Functional anatomy and physiology of gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 31, n. 6, p. 479–485, 2015.

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. **Gastroenterology**, v. 134, n. 7, p. 1842–1860, 2008.

SOUZA-MOREIRA, T. M. et al. Flavonoids from *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel (Myrtaceae) with antifungal activity. **Natural Product Research**, v. 33, n. 17, p. 2579–2582, 2019.

SUGUINO, E. et al. A cultura da jabuticabeira. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 1, 2012.

SUZUKI, H. et al. Roles of oxidative stress in stomach disorders. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 50, n. 1, p. 35–39, 2012.

TANG, R. S.; CHAN, F. K. L. Therapeutic management of recurrent peptic ulcer disease. **Drugs**, v. 72, n. 12, p. 1605–1616, 2012.

TORTORA, Gerard J.; DERRICKSON, Bryan. *Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia*. **Artmed Editora**, 2016.

TREVISAN, G. et al. Gallic acid functions as a TRPA1 antagonist with relevant antinociceptive and antiedematogenic effects in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 387, n. 7, p. 679–689, 2014.

VERMA, S.; SINGH, A.; MISHRA, A. Gallic acid: Molecular rival of cancer. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 35, n. 3, p. 473–485, 2013.

WALLACE, J. L. Recent advances in gastric ulcer therapeutics. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, n. 6 SPEC. ISS., p. 573–577, 2005.

WALLER, S. B. et al. Jabuticaba [*Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts]: a Brazilian fruit with a promising application against itraconazole-susceptible and -resistant *Sporothrix brasiliensis*.

Natural Product Research, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2020.

WU, S. B. et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7513–7525, 2012.

ZÁDORI, Z. S. et al. Both α 2B- and α 2C-adrenoceptor subtypes are involved in the mediation of centrally induced gastroprotection in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 669, n. 1–3, p. 115–120, 2011.

ZAKARIA, Z. A. et al. Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–17, 2016.

ZHAO, D. K. et al. Jaboticabin and Related Polyphenols from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) with Anti-inflammatory Activity for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 5, p. 1513–1520, 2019.

ZHOU, D. et al. Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 126, n. March, p. 110075, 2020.

ZINKIEVICH, J. M. et al. Gastric acid is the key modulator in the pathogenesis of non steroidal anti-inflammatory drug-induced ulceration in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, n. 7, p. 654–661, 2010.

APÊNDICE A – PERSPECTIVAS FUTURAS

Estudos posteriores necessitam ser realizados com o intuito de melhor caracterizar os constituintes químicos do SPP e EHPP. Outros protocolos experimentais devem ser desenvolvidos como a atividade cicatrizante induzida por ácido acético, análise histológica, atividade anti-*Helicobacter pylori* e testes de toxicidade de doses repetidas, todos visando contribuir para respaldar a atividade biológica dessa espécie e devolver a sociedade informação ratificada em critérios científicos.

APÊNDICE B - PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2020-2022

Artigos em elaboração:

ALCANTARA, I.S. et al. Mecanismos de ação envolvidos na atividade gastroprotetorado sumo de *Plinia peruviana* (Myrtaceae). 2022

ALCANTARA, I.S. et al. Atividade gastroprotetora do extrato hidroetanólico de *Plinia peruviana* (Myrtaceae). 2022

Artigos publicados em colaboração:

DE OLIVEIRA, Maria Rayane Correia et al., ... **ALCANTARA, I.S.** Biological activities of the essential oil from the leaves of *Lantana montevidensis* (Spreng) Briq. in mice. **Environment, Development and Sustainability**, p. 1-24, 2021.

DA COSTA, Roger Henrique Sousa et al., ... **ALCANTARA, I.S.** Acaricide activity of the *Ximenia americana* L. (Olacaceae) stem bark hydroethanolic extract against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Biologia**, p. 1-8, 2021.

OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS, Anita et al., ... **ALCANTARA, I.S.** Effect of the *Croton rhamnifolioides* Essential Oil and the Inclusion Complex (OEFC/ β -CD) in Antinociceptive Animal Models. **Macromol**, v. 1, n. 2, p. 94-111, 2021.

ALCANTARA, Isabel Sousa et al. Cytotoxic potential and antiparasitic activity of the *Croton rhamnifolioides* Pax leaves. & K. Hoffm essential oil and its inclusion complex (EOCr/ β -CD). **Polymer Bulletin**, p. 1-11, 2021.

OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS, Anita et al., ... **ALCANTARA I.S.** Anti-Inflammatory and Physicochemical Characterization of the *Croton rhamnifolioides* Essential Oil Inclusion Complex in β -Cyclodextrin. **Biology**, v. 9, n. 6, p. 114, 2020.

BEZERRA RODRIGUES DANTAS, Lindaiane et al., ... **ALCANTARA I.S.** Nootkatone inhibits acute and chronic inflammatory responses in mice. **Molecules**, v. 25, n. 9, p. 2181, 2020.

Apresentações de trabalho em eventos científicos:

ALCANTARA, I.S.; MARTINS A.O.B.P.; PESSOA R.T.; SILVA L.Y.S.; OLIVEIRA M.R.C; MENEZES I.R.A.; WANDERLEY A.G. "Avaliação da atividade gastroprotetorado sumo e extrato hidroetanólico das cascas de *Plinia peruviana* no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto" na XV Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada online no período de 29 a 31 de julho.

PESSOA R.T.; SILVA L.Y.S.; OLIVERA M.R.C.; **ALCANTARA I.S.;** COSTA R.H.S.; MARTINS A.O.B.P.; MENEZES I.R.A. "Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato hidroetanólico das cascas do caule da *Ximenia americana L.* Por meio do ensaio de formalina " na XXXV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada online, no período de 8 a 11 de setembro de 2021.

SILVA M.G.L.; SILVA L.Y.S.; OLIVERA M.R.C.; PESSOA R.T.; BATISTA F.L.A.; DONELARDY A.C.C.; **ALCANTARA I.S.;** MARTINS A.O.B.P.; MENEZES I.R.A. "Avaliação da atividade antinociceptiva do ácido abiético no modelo de nocicepção cutânea induzida por formalina" no XIII simpósio brasileiro de farmacognosia, realizado online, no período de 12 a 15 de outubro de 2021.

PESSOA R.T.; SILVA L.Y.S.; OLIVERA M.R.C.; **ALCANTARA I.S.;** TINTINO C.D.M.O; SILVA M.G.L.; COSTA R.H.S.; MARTINS A.O.B.P.; MENEZES I.R.A. "Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato hidroetanólico das cascas do caule da *Ximenia americana L.* Por meio do ensaio de placa quente", no XIII simpósio brasileiro de farmacognosia, realizado online, no período de 12 a 15 de outubro de 2021.

SILVA L.Y.S.; PESSOA R.T.; RAMOS A.G.B.; NETO J.B.A.; OLIVERA M.R.C.; **ALCANTARA I.S.;** TINTINO C.D.M.O; COUTINHO H.D.M.; MARTINS A.O.B.P.; MENEZES I.R.A. "Avaliação do efeito antibacteriano do isopulegol em *Staphylococcus aureus* portadora da bomba de efluxo MsrA" no XIII simpósio brasileiro de farmacognosia, realizado online, no período de 12 a 15 de outubro de 2021.

ALCANTARA, I.S.; MARTINS A.O.B.P.; PESSOA R.T.; SILVA L.Y.S.; OLIVEIRA M.R.C; COSTA R.H.S.; SILVA T.M.S.; MUNIZ D.F.M.; MENEZES I.R.A.; WANDERLEY A.G. "Avaliação da resposta gastroprotetora do extrato hidroetanólico das cascas de *Plinia peruviana* no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto na via

de sinalização da prostaglandina E2" no no XIII simpósio brasileiro de farmacognosia, realizado online, no período de 12 a 15 de outubro de 2021.

NETO R.A.V.; SILVA L.Y.S.; PESSOA R.T.; RAMOS A.G.B.; COSTA R.H.S.; OLIVERA M.R.C.; **ALCÂNTARA I.S.**; MARTINS A.O.B.P.; MENEZES I.R.A.

“Avaliação do efeito antinociceptivo do monoterpene estragol (Es) por meio do ensaio detail flick, no XIII simpósio brasileiro de farmacognosia, realizado online, no período de 12 a 15 de outubro de 2021.

Participação científica (congressos, simpósios, cursos, minicursos e eventos):

Participação: XV Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada online no período de 29 a 31 de julho.

Participação: XIII Simpósio Brasileiro de Farmacognosia realizado em 12/10/2021 a 15/10/2021, na cidade de São Cristóvão, Sergipe, contabilizando carga horária total de 30 horas.

Curso: **Avaliação do perfil linfocitário por citometria de fluxo**, com carga horária de 3 (três) horas, que ocorreu durante a XV Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada online no período de 29 a 31 de julho.

Curso: **Biossegurança em foco**, com duração de 45 horas, no período de 13/04/2020 a 30/12/2020. A Fundação Oswaldo Cruz, por meio da Unidade Fiocruz Pernambuco.

Curso: **Neuroanatomia e neuro radiologia**, com duração de 2 horas, em 15 de junho de 2020. Liga acadêmica de neuroanatomia clínica da Paraíba.

Curso: **Revisão sistemática aplicada a estudos em saúde**, com duração de 10 horas, em 21,22,28 e 29 de julho de 2021. Professor Dr. Raimundo G. Oliveira Junior.

ANEXO A - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADE COM FINALIDADE CIENTÍFICA - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DABIODIVERSIDADE



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 78582-1	Data da Emissão: 18/05/2021 18:46:18	Data da Revalidação*: 18/05/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: ISABEL SOUSA ALCANTARA	CPF: 056.998.883-73
Título do Projeto: ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E GASTROPROTETORA DO SUMO E EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS CASCAS DO FRUTO DE <i>Plinia peruviana</i> (MYRTACEAE)	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Outras ressalvas

1	CBC Brasília-DF
---	-----------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Sítio Bebida Nova	Crato-CE	Caatinga	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Coleta/transporte de material botânico, fúngico ou microbiológico	<i>Plinia peruviana</i>	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Plantas)	Folhas, Frutos/estróbilos, Flor

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI URCA	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0785820120210518

Página 2/3

**ANEXO B - IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E NÚMERO DE HERBÁRIO
DA ESPÉCIE DE *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts (MYRTACEAE)**



Herbário Cariense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

Número de Herbário

Remetente:		Nº08.2020		
HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)				
Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)				
Universidade Regional do Cariri - URCA				
Departamento de Ciências Biológicas				
Rua: Cel. Antônio Luiz, 1161				
Campus Pimenta				
Crato – Ceará - Brasil				
CEP: 63.105-100				
Destinatário:		Data: 01.03.2021		
Contato: Isabel Sousa Alcântara				
Universidade Regional do Cariri - URCA				
Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais				
Nº Amostras: 01		Tipo de Operação: Número de Herbário e Identificação Botânica		
Nº HERBÁRIO	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	14.430	Jaboticaba	Myrtaceae	<i>Plinia peruviana</i> Ana Cleide Alcântara Morais Mendonça

OBS: Em caso de publicações com os dados acima, deve constar no manuscrito como co-autores, os responsáveis pela referida identificação. A saber: Professora Ma.: Ana Cleide Alcântara Morais Mendonça, Professora Dra.: Maria Arlene Pessoa da Silva.

Dra. Maria Arlene Pessoa Silva
Curadora do HCDAL

ANEXO C - DECLARAÇÃO DO CEUA



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
proppg@urca.br - www.urca.br/ceua



Declaração

Declaro para devidos fins, que o projeto intitulado "Estudos das atividades antioxidantes e gastroprotetora do sumo extrato hidroetanólico das cascas do fruto de *Plinia peruviana* (Mirtaceae)" - processo **00103/2021.1** foi APROVADO pela Comissão de Experimentação e Uso de animais-CEUA-URCA .

Roseli Barbosa

Coordenadora do CEUA-URCA

Crato, 14 de maio de 2021