



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELLA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Complexo de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart e β -ciclodextrina:
caracterização e avaliação das atividades gastroprotetora e antioxidante *in vitro***

JULIANA LIMA NASCIMENTO

Teresina – Piauí

2013

JULIANA LIMA NASCIMENTO

**Complexo de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart e β -ciclodextrina:
caracterização e avaliação das atividades gastroprotetora e antioxidante *in vitro***

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Antônia Maria das Graças
Lopes Citó

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª Rita de Cássia Meneses
Oliveira

Teresina – Piauí

2013

JULIANA LIMA NASCIMENTO**Complexo de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart e β -ciclodextrina:
caracterização e avaliação das atividades gastroprotetora e antioxidante *in vitro***

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Antônia Maria das Graças Lopes Citó (Orientadora)

Departamento de Química – UFPI

Prof. Dr. Joaquim Soares da Costa Júnior (1^a Examinador)

Departamento de Química – IFPI

Prof. Dr.^a Hilris Rocha e Silva (2^o Examinadora)

Hospital Universitário - UFPI

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Profa. Dr^a. Nadir do Nascimento Nogueira

PRO-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Pedro Vilarinho Castelo Branco

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Helder Nunes da Cunha

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Dr^a Regina Ferraz Mendes

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista aos meus pais, Eleusa e Nascimento, pelo exemplo de sucesso através da honestidade e caráter. Especialmente ao meu Pai, o maior incentivador dos meus estudos, e quem me ensina diariamente que só se alcançam objetivos por este meio. Por se sentir orgulhoso em cada conquista minha e por não me deixar parar de estudar nunca. E com mais uma etapa finalizada, sou eternamente grata por ter a melhor família do mundo.

AGRADECIMENTOS

Todo este trabalho só foi possível graças à ajuda e apoio de cada um que cruzou meu caminho. Posso afirmar que em cada momento desta jornada, encontrei verdadeiros anjos, a quem chamo de Amigos.

À Deus, por ser meu guia. Por me dar força e coragem de vencer meus desafios diários; e por me permitir ser tão determinada nos meus objetivos. **Aos meus pais**, meus maiores tesouros. **Minha mãezinha**, a quem eu dedico todas as minhas conquistas; por toda dedicação, cuidado, paciência e amizade. **Meu pai**, por todo zelo aos filhos, toda preocupação, e por não medir esforços para nos proporcionar sempre o melhor. **Aos irmãos Thalita Lima e Glauber Lima**, pela união que nos fazem crescer juntos. Por me fazerem ter a certeza que a Família é nosso maior bem. **Ao meu marido e companheiro Daniel Ângelo**; por ser o anjo mais lindo que Deus botou na minha vida. Pelo incentivo em todas as decisões, motivação diária, por nunca medir esforços pra me ajudar, compreensão nas minhas ausências, e por me permitir vivenciar um Amor único. Todas as minhas conquistas são NOSSAS. **À minha família**, pelo orgulho desta nova etapa, e por acreditarem que sempre irei mais longe. **Aos meus amigos**, pela compreensão da ausência; especialmente aos **ETERNOS CALOUROS**, por termos crescido juntos; agradeço em nome do **Kayo Alves**, um amigo que vem me acompanhando a longos anos, por não medir esforços pra me auxiliar, e que foi meu apoio sempre quando precisei durante esta jornada. Agradeço especialmente e com todo carinho **à querida Prof. Graça Citó**, por fazer jus ao nome de orientadora, e por diversas vezes nos fazer sentir tão queridos como filhos. Por sempre buscar uma resposta às dificuldades do projeto, por tanta preocupação dispensada, paciência em me fazer compreender o mundo da química e por proporcionar uma convivência e um aprendizado durante todo este período que vai muito além desta dissertação. Uma mãezona, que o mestrado me permitiu conhecer! **À querida co-orientadora Prof. Rita de Cássia**, por todo carinho que sempre me recebeu em seu laboratório, por todo envolvimento e disponibilidade ao se envolver no meu projeto, pelo exemplo de ética e responsabilidade na pesquisa e principalmente pelas análises construtivas e engradencedoras. Agradeço de coração a oportunidade de ter realizado boa parte do meu projeto em um ambiente tão agradável. **Ao meu companheiro de toda esta jornada Ytallo Barros**, este trabalho é igualmente nosso. Por me acompanhar desde o primeiro dia do mestrado, sempre se fazendo disponível, por escutar diversas vezes o meu cansaço e sempre acreditar no projeto. A jornada tornou-se mais divertida com sua ajuda. Um grande amigo, que poderá sempre contar com meu apoio. **Ao amigo de longas datas** (desde as *Artemias salinas*) **Daniel Arcanjo**, que só pelo nome não dá para esquecê-lo. A oportunidade de voltar a conviver com ele foi um presente. Agradeço por se sentir parte do meu projeto, e por ser o mais confiante nele. Pelo apoio, ensinamentos, amizade e um motivador da pesquisa. Sou imensamente grata por caminhar ao meu lado nesta jornada. **Ao Márcio Rocha**, agradecimento é pouco para tanto auxílio prestado. Sempre encontrando um horário para me auxiliar, seja no laboratório, ou me explicando pacientemente cada procedimento realizado. Uma parceria fundamental. **Ao Prof. Rivelilson Mendes**, por tanta determinação, e pelo exemplo de dedicação ao nosso PPGCF. **Ao Prof. Joaquim Soares**, pelo auxílio durante todo o projeto e por estar sempre disponível nas dúvidas existentes.

A todos os anjos que conheci nesta jornada, por terem me ajudado em vários momentos desta caminhada: aos alunos da prof. Citó; **Bruna, Roger, Arkelau** sempre disponíveis a ajudar e de uma convivência maravilhosa, **aos alunos do Laboratório de Química Orgânica**, que me faziam sentir em casa; **a todos do Limav, especialmente ao André, Luciano, Xavier e Fabrícia**, em que realizei boa parte dos meus experimentos. **Ao Bruno Quirino e Lucas**, pela contribuição significativa nas análises da minha amostra, nos atendendo sempre de prontidão. À **Lyghia Meirelles e Rhilder** pela colaboração em meus experimentos.

A todos do **NPPM**, especialmente aos amigos que conquistei **Francilene, Irisdalva, Gleyziane, Ana Flávia e Manu**; pela imensa disponibilidade, incluindo os feriados, paciência explicando todos os mecanismos e contribuição fundamental. Pessoas muito queridas, que tornaram meus dias no laboratório bem mais alegres. **Ao meu emprego**, que, por mais que tenha tornado esta caminhada mais difícil, me dignifica como ser humano, e me permite lutar por meus objetivos com mais força de vontade.

Aos membros da banca em nome de **Hilris Rocha**, um exemplo de profissionalismo e **Prof. Joaquim Soares**; por se disponibilizarem gentilmente para avaliação deste trabalho; e à **UFPI**, por novamente me dar uma oportunidade de crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a todos de coração!

*“Jamais considere seus estudos como uma
obrigação, mas como uma oportunidade
invejável para aprender a conhecer a influência
libertadora da beleza do reino do espírito, para
seu próprio prazer pessoal e para proveito da
comunidade à qual seu futuro trabalho
pertencer.”*

Albert Einstein

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	Xi
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	Xiii
LISTA DE TABELAS	Xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos.....	20
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 O uso de plantas medicinais.....	21
3.2 Família <i>Clusiaceae</i>	23
3.3 <i>Platonia insignis</i> Mart.....	24
3.4 Garcinialiptona (GFC).....	26
3.5 Ciclodextrinas: uma revisão.....	27
3.5.1 Estrutura química das ciclodextrinas.....	29
3.5.2 Complexo de inclusão	32
3.6 Caracterização	34
3.6.1 Difração de Raios-X	35
3.6.2 Infravermelho	35
3.6.3 Diagrama de solubilidade	35
3.7 Atividade gastroprotetora.....	36
3.7.1 Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal (TGI).....	36
3.7.2 Secreção ácida gástrica	38
3.7.3 Protetores da mucosa gástrica.....	40
3.7.4 Agressores da mucosa gástrica.....	42
3.7.5 Úlcera péptica: etiologia e terapêutica.....	44
3.7.6 Tratamento.....	45
3.8 Atividade antioxidante	46
Referências	48
CAPÍTULO I: Preparação e caracterização do complexo de inclusão do extrato hexânico das sementes de <i>Platonia insignis</i> Mart. (bacurizeiro) com a molécula de β- ciclodextrina	61
Resumo.....	62
Abstract.....	63
Introdução.....	64
Material e Métodos.....	66
Resultados e discussão.....	71
Conclusões	84
Referências.....	84

CAPÍTULO II: Efeito gastroprotetor do extrato hexânico de <i>Platonia insignis</i> Mart. e complexo de inclusão extrato hexânico: β-ciclodextrina em diferentes modelos experimentais.....	90
Resumo.....	91
Abstract.....	92
Introdução.....	94
Material e Métodos.....	96
Resultados e Discussão	99
Conclusão	109
Referências.....	109
CAPÍTULO III: Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> do extrato hexânico da semente do bacuri (<i>Platonia insignis</i> Mart.) e de seu complexo de inclusão com β-ciclodextrina	116
Resumo	117
Abstract	117
Introdução	118
Material e Métodos	119
Resultados e Discussão	124
Conclusão	131
Referências	131
CONSIDERAÇÕES FINAIS	135
ANEXO	136

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
AMPc	adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
ANOVA	Análise de Variância
ATR	Refletância Total Atenuada
CCK-2	Receptor de colecistocinina
CDs	Ciclodextrinas
CEAPI	Central de Abastecimento do Piauí
CGAR-EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
CGTase	Ciclodextrina-glicosil-transferase
CIs	Complexos de inclusão
COX	Coxibe
DAG	Diacilglicerol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRX	Difração de raios-x
DS	Dispersão sólida
Ec	Eficiência de complexação
ECL	Células enterocromafins
EHSB	Extrato hexânico da semente do bacuri
EHSB: β CD	Extrato hexânico da semente do bacuri com molécula de β -ciclodextrina
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ERs	Espécies reativas
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
GFC	Garcinialiptona
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCO ₃ ⁻	Íon bicarbonato
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
HPCD	hidroxi-propil—CD
IE	Ionização por elétrons
IL-6	Interleucina 6
I/R	Isquemia e reperfusão
Kc	Constante de estabilidade
Kc	Constante de estabilidade
MDA	Malonaldeído
MF	Mistura física
NAC	<i>N</i> -acetilcisteína
NO	Óxido nítrico
NOSc	NO sintase constitutiva
NOSi	NO sintase induzida
NPS	Nitroprussiato de sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde

PGE2	Prostaglandina E2
PGI2	Prostaciclina
PGs	Prostaglandinas
RMCD	metil—CD randomizada
RMN	Ressonância magnética nuclear
SBCD	sulfo-butil-éter—CD
SDS	Duodecil sulfato de sódio
SNC	Sistema Nervoso Central
SNE	Sistema Nervoso Entérico
So	Solubilidade intrínseca
SPE	Extração em fase sólida
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TGI	Trato gastrointestinal
TNF- α	Fator de necrose tumoral – alfa
UV-Vis	Ultravioleta visível
α -CD	α - ciclodextrinas
β CD	Beta- ciclodextrina
γ -CD	γ -ciclodextrinas

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Ilustração 1	Frutos e sementes de <i>Platonia insignis</i> Mart.....	25
Ilustração 2	Estrutura química da GFC.....	27
Ilustração 3	Estrutura trimensional e molecular da ciclodextrina.....	30
Ilustração 4	Estrutura molecular da α -, β - e γ - CD	31
Ilustração 5	Estequiometria de complexação.....	33
Ilustração 6	Perfis de solubilidade de fases.....	36
Ilustração 7	Anatomia do estômago.....	37
Ilustração 8	Fatores agressores e protetores da mucosa gástrica.....	40

CAPÍTULO I

Ilustração 1	Estrutura química da β -ciclodextrina.....	65
Ilustração 2:	Extração por Soxhlet.....	66
Ilustração 3:	Espectro de absorção da substância de referência.....	68
Ilustração 4:	Curva analítica padrão do GFC.....	68
Ilustração 5:	Curva analítica do EHSB	71
Ilustração 6:	Cromatograma de íons totais da fração do EHSB	72
Ilustração 7:	Espectro de FTIR da molécula de β -ciclodextrina, do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB), mistura física entre EHSB e ciclodextrina e complexo de inclusão do extrato com β -ciclodextrina (EHSB: β CD).....	78
Ilustração 8:	Comparativo dos espectros FTIR dos complexos de inclusão em diferentes proporções.....	79
Ilustração 9:	Difratograma da molécula de β -ciclodextrina (β CD), extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB), mistura física entre o extrato do bacuri e β -ciclodextrina (MF) e complexo de inclusão do bacuri com β -ciclodextrina (EHSB:BCD).....	81
Ilustração 10:	Difratograma do complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com β -ciclodextrina em diferentes proporções extrato hexânico:ciclodextrina.....	82

Ilustração 11:	Diagrama de solubilidade do extrato hexânico em β -ciclodextrina..	83
 CAPÍTULO II		
Ilustração 1:	Estrutura química da carbenoxolona	101
Ilustração 2:	Área das lesões induzidas por etanol	102
Ilustração 3:	Efeito do extrato hexânico e complexo de inclusão perante o controle negativo do protocolo de etanol	103
Ilustração 4:	Efeito do extrato hexânico e complexo de inclusão perante o controle negativo de IR	106
Ilustração 5:	Estrutura química do NAC.....	107
Ilustração 6:	Dosagem de MDA nos estômagos com úlceras	108
 CAPÍTULO III		
Ilustração 1:	Espectro de absorção da Garcinialiptona	121
Ilustração 2:	Curva analítica padrão de GFC	121
Ilustração 3:	Formação do TBARS a partir do Malonaldeído	125
Ilustração 4:	Efeitos do EHSB contra a produção de TBARS	126
Ilustração 5:	Efeitos do EHSB: β CD contra a produção de TBARS	126
Ilustração 6:	Processo reacional de quantificação do MAD	127
Ilustração 7:	Efeitos do EHSB na remoção do radical hidroxila	128
Ilustração 8:	Efeitos do EHSB: BCD na remoção do radical hidroxila	128
Ilustração 9:	Mecanismo de reação para determinação do nitrito	129
Ilustração 10:	Efeitos do EHSB na remoção do radical nitrito	130
Ilustração 11:	Efeitos do EHSB: β CD na remoção do radical nitrito	130
 LISTA DE TABELAS		
 INTRODUÇÃO		
Tabela 1	Algumas características da α -, β -, γ - e δ -CD	31
 CAPÍTULO I		
Tabela 1:	Constituintes químicos (%) de fração do bacuri	72
Tabela 2:	Rendimento dos complexos de inclusão	74
Tabela 3:	Rendimento ou teor de banha complexada com β CD.....	75

Tabela 4:	Valores das constantes do diagrama de solubilidade.....	84
------------------	---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1:	Área da lesão (mm ²) e porcentagem de gastroproteção no protocolo de úlcera por etanol	105
------------------	--	-----

Tabela 2:	Área da lesão (mm ²) e porcentagem de gastroproteção no protocolo de úlcera por etanol	108
------------------	--	-----

Complexo de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart e β -ciclodextrina: caracterização e avaliação da atividade gastroprotetora e antioxidante *in vitro*. JULIANA LIMA NASCIMENTO. Orientadora: Antônia Maria das Graças Lopes Citó. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Curso de Farmácia, UFPI, 2013.

RESUMO

Platonia insignis Mart. é uma planta da família Clusiaceae, comumente conhecida como bacuri. A graxa extraída das sementes do bacuri apresenta uma composição química com alto teor de ácidos graxos; sendo bastante utilizada na medicina popular para o tratamento de diversas doenças, como problemas de pele, atividade cicatrizante e anti-inflamatória. Do extrato hexânico foi isolada uma substância, Garcinialiptona fc (GFC), uma benzofenona poliisoprenilada, sendo essa substância ^{escolhida} como marcadora para as análises de teor no extrato e complexos formados. As ciclodextrinas possuem hoje, aplicação nas mais distintas áreas, consideradas como excipientes funcionais, sendo estas características vantajosas que justificam a complexação de fármacos com moléculas de ciclodextrinas. Neste estudo buscou-se a obtenção, caracterização, avaliação da atividade gastroprotetora oral e antioxidante *in vitro* do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) e do complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com a molécula de β -ciclodextrina (EHSB: β CD). O primeiro capítulo aborda o processo de obtenção do extrato hexânico, doseamento de GFC no extrato, formação do complexo de inclusão com β -ciclodextrina por pulverização a seco no spray-drying em diferentes concentrações extrato: β CD, doseamento do GFC no complexo, caracterização do EHSB, β CD e complexos formados por FTIR, DRX e avaliação do incremento de solubilidade pelo método de diagrama de fases. O complexo com maior teor da substância marcadora foi utilizado nos testes farmacológicos. O segundo capítulo aborda a avaliação da atividade gastroprotetora oral comparando-se o EHSB, EHSB: β CD e os fármacos de referência (carbenoxolona e *N*-acetilcisteína) através dos protocolos de indução de lesão gástrica por etanol em camundongos Swiss e indução de lesão gástrica por isquemia e reperfusão em ratos Wistar, respectivamente; como também a dosagem do malonaldeído (MDA) nos estômagos utilizados no protocolo de etanol. No modelo de lesão gástrica induzida por etanol, o extrato e o complexo nas concentrações de 100, 50 e 25 mg/kg apresentaram proteção gastro significativa nas lesões comparativamente ao controle negativo; já na dose de 100 mg/kg, o complexo de inclusão apresentou uma proteção gástrica semelhante à carbenoxolona (100 mg/kg). No modelo de lesão gástrica induzida por isquemia e reperfusão, o EHSB e o complexo de inclusão EHSB: β CD (100, 50 e 25 mg/kg) apresentaram proteção das lesões gástricas, com pouca ou nenhuma diferença significativa comparado à *N*-acetilcisteína (100 mg/kg). Na dosagem do MDA, houve redução nos níveis de malonaldeído tanto no EHSB (100 mg/kg), quanto do EHSB: β CD (100 mg/kg), comparativamente à substância utilizada como referência, carbenoxolona (100 mg/kg). Sugere-se, portanto, a utilização do extrato hexânico e com melhores características, o complexo de inclusão, como uma excelente alternativa na proteção gástrica induzida por agentes ulcerogênicos. No terceiro capítulo foi avaliada a atividade antioxidante *in vitro* do EHSB e do complexo de inclusão EHSB: β CD através da inibição da formação de TBARS e remoção dos radicais hidroxila e óxido nítrico, sugerindo o potencial antioxidante destas substâncias.

Palavras-chave: *Platonia insignis*, complexo de inclusão, Garcinialiptona, úlcera gástrica.

Inclusion complex of the hexane extract of *Platonia insignis* Mart (lard bacuri) and β -cyclodextrin: Increased solubility and gastroprotective activity and antioxidant activity *in vitro*. JULIANA LIMA NASCIMENTO. Advisor: Antônia Maria das Graças Lopes Citó. Master's thesis. Post-grad program in Pharmaceutical Sciences. Health Sciences Center. College of Pharmacy, UFPI, 2013.

ABSTRACT

Platonia insignis Mart. is a plant of the *Clusiaceae* family, commonly known as bacuri. The grease extracted from the seeds of bacuri presents a chemical composition with high content of fatty acids, being widely used in folk medicine to treat various diseases such as skin problems, healing and anti-inflammatory activity. The hexane extract was isolated a substance, Garcinielliptone (GFC), the polyisoprenylated benzophenone, this substance being chosen as a marker for analysis of content in the extract and complexes. Cyclodextrins have today, more application in different areas, considered as functional excipients, and these advantageous features that justify the complexation of drugs with cyclodextrins molecules. In this study we sought to obtain , characterization, evaluation of oral gastroprotective and antioxidant activity *in vitro* of the hexane seed extract bacuri (EHSB) and the inclusion complex of the hexane seed extract bacuri with β - cyclodextrin molecule (EHSB : β CD). The first chapter discusses the process to obtain the hexane extract, extract the GFC assay, formation of inclusion complex with β - cyclodextrin by spray drying the extract in different concentrations: β CD, determination of GFC in the complex, characterization of EHSB, β CD and the complexes formed by FTIR, DRX, and evaluation of the increase of solubility by the method of the phase diagram. The complex with a higher content of the marker substance was used in pharmacological tests. The second chapter includes the assessment of oral gastroprotective activity comparing the EHSB, EHSB: β CD and reference drugs (carbenoxolone and N -acetylcysteine) through the gastric damage induced by ethanol in Swiss mice and induced gastric damage protocols for ischemia and reperfusion in rats Wistar, respectively, as well as the estimation of malondialdehyde (MDA) in the stomachs used in ethanol protocol . In the ethanol-induced gastric lesion model, complex and the extract at concentrations of 25, 50 and 100 mg /kg showed significant protection in the gastrointestinal lesions compared to the negative control, whereas at a dose of 100 mg/kg, the inclusion complex showed a gastric protection similar to carbenoxolone (100 mg/kg). In the gastric damage induced by ischemia and reperfusion model, the EHSB and the inclusion complex EHSB: β CD (100, 50 and 25 mg/kg) showed gastric lesions protection, with little or no significant difference compared to N-acetylcysteine (100mg /kg). The measurement of MDA levels were reduced malonaldehyde in both, the EHSB (100 mg/kg) as the EHSB: β CD (100 mg/kg), compared to the substance used as reference, carbenoxolone (100 mg/kg), suggesting the use of hexane extract and best features, the inclusion complex as an excellent alternative in gastric protection induced by ulcerogenic agents. In the third section was evaluated *in vitro* antioxidant activity of EHSB and inclusion complex EHSB: β CD through inhibition of TBARS formation and removal of hydroxyl radicals and nitric oxide, suggesting the antioxidant potential of these substances.

Keywords: *Platonia insignis*, inclusion complex, Garcinielliptone, gastric ulcer.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, despertando interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos (SOUZA; FELFILI, 2006).

É visível o papel que os povos tradicionais desempenham na exploração dos ambientes naturais, fornecendo informações sobre as suas diferentes formas. A utilização de plantas medicinais como fonte de produtos terapêuticos acompanha a história da humanidade nas mais diferentes sociedades. A medicina popular vem oferecendo uma contribuição cada vez maior às ciências, devido a uma gama de conhecimentos e práticas médicas de caráter empírico, influenciadas pelo contexto sócio-cultural, econômico e físico, no qual se encontram inseridos (CAMARGO, 1976; CALIXTO, 2000). A identificação dos componentes ativos presentes nas plantas e seus mecanismos de ação, vêm sendo um dos maiores desafios para a química farmacêutica, a bioquímica, a toxicologia e a farmacologia (BRAZ FILHO, 2010). Assim, a busca por novas moléculas com propriedades farmacológicas importantes para o tratamento de doenças, é uma área de interesse crescente de diversos grupos de pesquisa (RUBIO-MORAGA et al., 2013; JÄGER et al., 2012).

Na atualidade, os fármacos são veiculados em formas farmacêuticas ditas convencionais e geralmente não conseguem atingir concentrações apreciáveis no sítio alvo do organismo porque, entre o local de aplicação e o alvo onde deve exercer seu efeito farmacológico, interpõem-se uma série de barreiras biológicas, as quais expõem os tecidos normais do organismo aos efeitos potencialmente tóxicos do fármaco (DAMASCENO; SILVA; OLIVEIRA, 2011). Nesse sentido, esta dissertação intitulada “**Complexo de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart e β -ciclodextrina: caracterização e avaliação das atividades gastroprotetora e antioxidante in vitro**” foi desenvolvida com o intuito de agregar valor ao extrato hexânico da semente do bacuri que apresenta algumas atividades farmacológicas já comprovadas (COSTA JÚNIOR et al., 2011a; LUSTOSA, 2012; COSTA JUNIOR et al., 2013), enfatizando a relevância da utilização de metodologias que melhorem as propriedades do extrato para sua incorporação em formas farmacêuticas.

A dissertação foi organizada em capítulos, apresentando inicialmente uma revisão bibliográfica sobre a planta em estudo e os mecanismos utilizados para avaliação do incremento de atividade ao extrato. No primeiro capítulo foi abordado o processo de obtenção e caracterização do extrato hexânico e complexo de inclusão com a molécula de β -

ciclodextrina. No segundo capítulo foi dissertado sobre a avaliação do efeito gastroprotetor tanto do extrato hexânico isolado quanto do complexo de inclusão formado; enquanto que no terceiro capítulo, avaliou-se a atividade antioxidante *in vitro* do extrato e do complexo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Preparar e caracterizar o complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com a molécula de β -ciclodextrina, bem como avaliar a atividade gastroprotetora e o potencial antioxidante *in vitro* do extrato hexânico e do complexo de inclusão.

2.2 Objetivos Epecíficos

- Obter o complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com a molécula de β -ciclodextrina em diferentes proporções, e dosar o teor da Garcinialiptona (GFC), substância marcadora, no extrato hexânico da semente do bacuri e no complexo de inclusão realizado, a fim de avaliar a eficiência de complexação;
- Caracterizar através de métodos espectroscópicos (DRX e FTIR) e do incremento de solubilidade o complexo de inclusão formado;
- Avaliar a atividade gastroprotetora do extrato hexânico do bacuri e do complexo de inclusão no modelo de indução de úlcera por etanol em camundongos *Swiss* e modelo de indução de úlcera por isquemia e reperfusão (I/R) em ratos Wistar, como também realizar a dosagem do malonaldeído (MDA);
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato hexânico do bacuri e do complexo de inclusão *in vitro* através da inibição da formação de TBARS, remoção de radical hidroxila, bem como remoção do radical óxido nítrico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O uso de plantas medicinais

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade, sendo tão antiga quanto a espécie humana; e por muito tempo, produtos de origem mineral, vegetal e animal foram as principais fontes de fármacos (SIVIERO et al., 2012). A OMS (Organização Mundial de Saúde) define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos” (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; CORP, PENDRY, 2013).

No início da década de 1990, a OMS divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde, sendo que 85% destes fabricam extratos de plantas medicinais a partir de cultivos existentes na própria casa. Em estudo realizado em diversas localidades na América Latina, relatam a presença de plantas medicinais na maioria das residências que praticam alguma forma de agricultura urbana, que permitem reduzir os gastos das famílias com problemas de saúde (SIVIERO et al., 2012). Entre as espécies de plantas medicinais mais utilizadas na agricultura urbana na América do Sul se destacam: a babosa (*Aloe vera* L. ex Webb.), o alecrim (*Rosmarinum officinalis* L.), a anacahuita (*Schinus molle* L.) e a hortelã (*Mentha* L.) (EMBRAPA, 1994; VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; SIVIERO et al., 2012).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm em voga a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais,

contribuem para a sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; CHENG; NG; POON, 2013).

De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a flora mundial. Várias abordagens para a seleção de espécies vegetais têm sido apresentadas na literatura, dentre elas, três tipos são alvo de maiores investigações: a) abordagem randômica - escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a disponibilidade da planta; b) abordagem quimiotaxonômica ou filogenética - seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família e c) abordagem etnofarmacológica - seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico. As probabilidades de novas descobertas de substâncias inéditas, bioativas ou não, é, sem dúvida, maior na seleção randômica. A seleção etnofarmacológica, no entanto, favorece com maior probabilidade a descoberta de novas substâncias bioativas (MACIEL et al., 2002; BOUDJELAL et al., 2013).

Um dos principais problemas da utilização destes produtos é a crença de que produtos de origem vegetal são isentos de reações adversas e efeitos tóxicos (RODRIGUES et al., 2011). A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública. Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outros fármacos) ocorrem comumente. No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes em feiras livres. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins medicinais diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas (MACIEL et al., 2002; VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; CHENG; NG; POON, 2013).

Devido a todos estes aspectos, vê-se um interesse crescente na utilização e pesquisa de plantas medicinais, objetivando fins terapêuticos, aliadas à boa aceitabilidade destes produtos no mercado farmacêutico e as altas cifras que circundam a comercialização de fitomedicamentos, observada na última década (NOLDIN; ISAIAS; CECHINEL FILHO, 2006).

3.2 Família Clusiaceae

O Brasil é o país com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, pois detém a maior e mais rica biodiversidade do planeta. Uma das famílias que vem despertando grande interesse na comunidade científica devido aos promissores resultados químicos e biológicos é a Clusiaceae (NOLDIN; ISAIAS; CECHINEL FILHO, 2006; NUALKAEW et al., 2012; MULHOLLAND et al., 2013).

A família Clusiaceae engloba aproximadamente 1000 espécies subordinadas a 47 gêneros, dispersos em regiões tropicais e subtropicais do mundo e um gênero que alcança as regiões temperadas. Em nove desses gêneros, cerca de 90 espécies são de plantas cujos frutos são comestíveis (BARROSO et al., 2002; COSTA JÚNIOR, 2011a). Muitas destas espécies são empregadas na medicina popular para tratar danos como dor, processos infecciosos, inflamatórios e úlceras (NOLDIN; ISAIAS; CECHINEL FILHO, 2006).

Quanto à quimiosistemática, as plantas pertencentes a este gênero consistem principalmente de cumarinas, xantonas, esteróides, triterpenos e flavonoides; substâncias naturais que têm despertado grande interesse dos pesquisadores de saúde, sendo que muitas destas substâncias são dotadas de atividades biológicas. Vários desses compostos têm mostrado atividade antidepressiva, antioxidante, antifúngica, citotóxica, anti-HIV e antibacteriana (MONACHE et al., 1988; GUSTAFSON et al., 1992; NOLDIN; ISAIAS; CECHINEL FILHO, 2006; COSTA JÚNIOR, 2011a). Investigações sobre a composição química das plantas da família Clusiaceae mostraram que estas também são ricas em benzofenonas poliisopreniladas (COSTA JÚNIOR, 2011a).

Espécies da família Clusiaceae, como por exemplo, *P. Insignis* Mart são importantes plantas medicinais utilizadas na medicina popular brasileira, em especial para o tratamento de eczemas, herpes, doenças gastrointestinais, dermatite, esquistossomose, leishmaniose e malária. Preparações obtidas a partir destas plantas têm demonstrado atividade anti-inflamatória, antimalária, anti-hipertensivas, antidiabéticas, imunomodula-respiratórias, antiviral, antitumoral, antidepressivos, antialérgicas, efeitos anti-mutagênico e antioxidante (BILANDA et al., 2010; COSTA JÚNIOR et al., 2013).

3.3 *Platonia insignis* Mart.

O bacurizeiro pertence à família Clusiaceae, subfamília *Clusioideae*, gênero *Platonia*, monotipo, sendo a espécie classificada como *Platonia insignis* Mart. (BRAGA, 1976). É uma árvore frutífera nativa da região amazônica do Brasil e Guiana, mas também cresce na Colômbia e no Paraguai, sempre em áreas mais ou menos descampadas ou de vegetação baixa (MOURÃO; BELTRATI, 1995; CHITARRA; CHITARRA, 2005; FONTENELE et al., 2010;). No Brasil, o centro de dispersão é o Estado do Pará, onde é encontrada ampla variação de forma e tamanho de frutos, rendimento e qualidade de polpa, além de outras características de interesse econômico; podendo também ser encontrado no Maranhão, Mato Grosso, Piauí e Goiás (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987; SILVA; DONATO, 1993; VILLACHICA et al., 1996; SOUZA et al., 2001; AGUIAR et al., 2008). No Piauí, o bacurizeiro encontra-se em terrenos limitados ao Norte pelos municípios de Murici dos Portelas, Amarante e Palmeirais. É vulgarmente conhecida por “bacuri”, “bacuri-açu”, “pakoori”, e “wild mamme aple” na Guiana, “pakoelie” e “geelhart” no Suriname, “parcori” na Guiana Francesa e “matazona” no Equador (MOURÃO; BELTRATI, 1995; SINIMBÚ NETO; MARTINS; BARBOSA, 2011).

O caule do bacurizeiro é ereto, medindo em média, de 15 a 25 m de altura (SINIMBÚ NETO; MARTINS; BARBOSA, 2011). O bacuri é um fruto do tamanho de uma laranja, de peso variável entre 200 e 1000 g, com casca grossa, e de cor amarelo-citrina (FONSECA, 1954) (Ilustração 01). A polpa é branco-cremosa, mas passa a amarela quando exposta ao ar, apresentando odor e sabor agradáveis (FONTENELE et al., 2010). O número de sementes por fruto, geralmente, varia de um a cinco, com média de 2-4 sementes (VILLACHICA et al., 1996; CARVALHO; NASCIMENTO; MULLER, 1998). Em casos raros, são encontrados frutos contendo seis sementes (MOURÃO, 1992) ou desprovidos de sementes (CALZAVARA, 1970). De acordo com Teixeira et al. (2005), o bacuri é um fruto não-climatérico. Frutos não-climatéricos só amadurecem quando estão ligados à planta e, na maior parte das árvores, os frutos caem quando estão maduros, de maneira que a colheita consiste em recolhê-los do solo (FAO, 1987). Após a colheita, eles não melhoram suas características sensoriais e nutricionais, embora leve amolecimento e perda de coloração verde possam ocorrer (NAGY, et al., 1990; SOUZA et al., 2001).

Ilustração 01: Frutos e sementes de *Platonia insignis* Mart (Adaptado de COSTA JÚNIOR, 2011a).



Em termos percentuais, a maior parte do bacuri é representada pelo epicarpo e mesocarpo (63,0 – 75%), popularmente denominado de casca, sendo as sementes o segundo componente (13,0 – 26%). A polpa, que corresponde ao endocarpo (MOURÃO, 1992), é o componente que ocorre em menor proporção (9,7 – 17,3%) (PESCE, 1941; CALZAVARA, 1970; BARBOSA; NAZARÉ; NAGATA, 1979; SANTOS, 1982; CRUZ, 1988; GUIMARÃES; MOTTA; NAZARÉ, 1992; ALCOFORADO et al., 1996; TEIXEIRA, 2000). A safra do bacuri ocorre de janeiro a maio, porém, a maior produção de frutos ocorre entre fevereiro e março. O fruto é coletado 4 - 4,5 meses após a floração (CALZAVARA, 1970).

O fruto pode ser consumido tanto na forma *in natura*, sendo muito utilizado na preparação de sorvetes, cremes, refrescos, compotas e geléias; como processado na agroindústria (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987; SILVA et al., 2010). A produção de bacuri é comercializada, principalmente, nas CEASAs e feiras livres de Belém-PA, São Luís-MA e Teresina-PI, e não tem sido suficiente para atender à demanda crescente do mercado consumidor dessas capitais. Na forma de polpa congelada, a comercialização é feita principalmente, nas grandes redes de supermercados dessas capitais a preços superiores aos de outras frutas tropicais como o cupuaçu, cajá, goiaba e a graviola, por exemplo. Tal fato é devido às dificuldades de propagação, ao longo período de juvenilidade da planta, que pode alcançar mais de 10 anos para o início da frutificação, especialmente quando propagada por sementes, e ao baixo rendimento da polpa (NASCIMENTO; CARVALHO; MULLER, 2007). Portanto, a médio ou a longo prazos, essa espécie pode estabelecer-se como uma nova e

excelente alternativa para os mercados interno e externo de frutas exóticas (SOUZA et al., 2001).

A polpa do fruto é rica em constituintes químicos com propriedades antioxidantes como, as vitaminas C (ácido ascórbico) e E (tocoferóis) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995) e uma semente rica em ácidos graxos, oléico (C18:1) 27,59%, palmítico (C16:0) 25,31%, éster metílico do ácido linoleico (C 18:2) 4,35%, ácido erúico (C 22:1) 3,50%, mirístico 3,34%, linoléico (C18:2) 2,5%, esteárico (C18:0) 1,86%, palmitoleico (C16:1 cis-9) 1,82%, além da presença de tripalmitina, cerca de 10 - 12% dos extrativos graxos das sementes de bacuri, indicando que o mesmo pode ser uma boa alternativa para a indústria de óleo (SILVA BENTES et al., 1986; LUSTOSA, 2012).

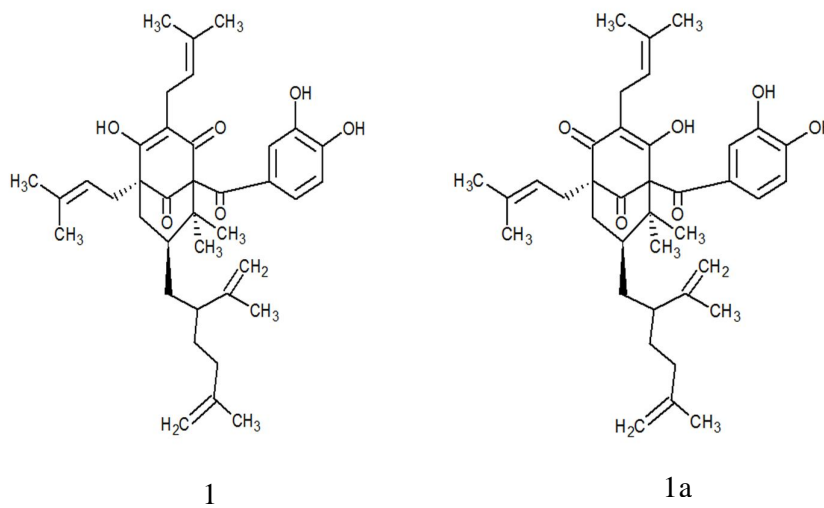
Embora a espécie *P. insignis* seja mais conhecida como planta frutífera, o bacurizeiro também apresenta madeira com boa característica físico-mecânica e multiplicidade de usos, podendo ser utilizada na fabricação de móveis, caibros, ripas, estacas, dormentes, embalagens pesadas e tacos (MAINIERI; LOUREIRO, 1964; LOUREIRO; SILVA; ALENCAR, 1979; MAINIERI; CHIMELO, 1989; PAULA; ALVES, 1997).

A graxa de bacuri, fabricada pela população a partir das sementes, que, ao ser aquecida com água fica como sobrenadante, é usada para o tratamento de diversas doenças, tais como: problemas de pele (queimaduras, feridas), ação antimicrobiana, antitumoral, citotóxica e de forma sistemática, como anti-inflamatória (LIMA; VIEIRA; COSTA JÚNIOR, 2007; SANTOS JÚNIOR et al., 2010). O látex amarelo da árvore em algumas regiões é utilizado para o tratamento de eczemas, vírus do herpes e outros problemas de pele (SHANLEY; MEDINA, 2005).

Em vista do seu grande uso popular, torna-se, portanto, de grande interesse a pesquisa para comprovação dos efeitos biológicos que a graxa extraída do bacuri apresenta.

3.4 Garcinialiptona FC

Na busca de componentes biologicamente ativos da família Clusiaceae, Costa Junior e colaboradores, (2011b) investigou componentes bioativos das sementes de *P. insignis* e isolou um par tautomérico de uma benzofenona poliisoprenilada, denominadas Garcinialiptona FC (1/1a) (Ilustração 02). Garcinialiptona FC, isolada a partir das sementes de *P. insignis*, foi identificada por análise de dados espectroscópicos. Foi relatado que benzofenonas poliisopreniladas são componentes comuns de membros da família Clusiaceae (CIOCHINA E GROSSMAN, 2006).

Ilustração 02: Estrutura química do par tautomérico de GFC (1/1a).

Segundo WU e colaboradores (2008), que também isolou esta substância, a GFC possui atividades pró-oxidante no DNA, e induz a morte celular *in vitro*. Possui também atividade anti-HIV (GARNSEY et al., 2011), anti-inflamatória (WENG et al., 2004), antiplasmódica (MARTI et al., 2009) e comprovada atividade leishmanicida em formas promastigotas e amastigotas comparada à anfotericina B, utilizada como droga de referência (COSTA JÚNIOR, 2011a; COSTA JÚNIOR et al., 2013). Os compostos com mais grupos prenil e grupos hidroxila livres têm maior atividade antiproliferativa em relação a outros compostos com uma estrutura semelhante (AGA et al., 1994). Por esta razão, acredita-se que a atividade citotóxica e leishmanicidade apresentada pela GFC podem estar relacionadas à presença destes grupos.

3.5 Ciclodextrinas: uma revisão

Medicamentos farmacologicamente ativos devem possuir algum grau de solubilidade aquosa, e devem ter caráter lipofílico para permearem as membranas biológicas, através de difusão passiva. O tipo de formulação e sua potência determinam a solubilidade aquosa dos fármacos. O surgimento de novas formulações farmacêuticas tende a alterar o conceito atual de medicamento. Diversos sistemas de administração de fármacos têm surgido com a finalidade de modelar a cinética de liberação, melhorar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou vetorizá-lo para uma determinada população celular. Os novos sistemas

terapêuticos surgiram da necessidade de minimizar os problemas que se prendem com a administração das formas farmacêuticas tradicionais (SALTÃO; VEIGA, 2001; RASHEED; KUMAR; SRAVANTHI, 2009).

Várias técnicas têm sido empregadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Estas incluem a formulação com formas amorfas sólidas, nanopartículas, microemulsões, dispersões sólidas (DS), formação de sais e de complexos solúveis em água. Através destas técnicas é possível aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir seu potencial terapêutico (LOFTSSON; HREINSDOTTIR; MASSON, 2005).

O objetivo principal dos sistemas de liberação de fármacos é fornecer a quantidade necessária de fármaco para o local alvo durante um período de tempo necessário, de forma eficiente e com precisão. As formas de dosagem com materiais veiculares apropriados são usados para superar as propriedades indesejáveis dos medicamentos. Fármacos poucos solúveis frequentemente apresentam comportamento de biodisponibilidade *in vivo* inferior quando comparados àqueles de alta solubilidade. Assim, vários biomateriais estão sendo constantemente desenvolvidos, visando à melhoria da biodisponibilidade. Ciclodextrinas são potenciais candidatos para essa finalidade, estando entre as alternativas mais vantajosas e eficientes quando se busca melhoria nas propriedades de dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis, por causa da sua capacidade de alterar características físicas, químicas, reatividade química e espectral, e propriedades biológicas de moléculas hóspedes que estão alojadas dentro da sua cavidade interna através da formação de complexos de inclusão (UEKAMA; HIRAYAMA; IRIE, 1998; LYRA et al., 2010; MENEZES et al., 2012; SERAFINI et al., 2012; QUINTANS et al., 2013; MBULI et al., 2013).

As ciclodextrinas (CDs) foram isoladas pela primeira vez em 1891 por Villiers, que descobriu um produto isolado a partir da degradação enzimática bacteriana do amido. Os resultados experimentais indicaram que a substância era uma dextrina e Villiers denominou-a de “celulosine” (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009). Tempos depois, Schardinger isolou o *Bacillus macerans* produtor de CDs pela ação da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase (CGTase). Até 1970, as CDs eram produzidas em quantidades reduzidas e a um elevado custo, o que dificultou a sua utilização generalizada na formação de complexos de inclusão (LOFTSSON; DUCHENE, 2007). Existem inúmeras bactérias produtoras de CGTase como *Bacillus macerans*, *Bacillus alcalofílico* ou *Klebsiella pneumoniae* entre outros, que convertem o amido em dextrinas cíclicas e acíclicas através da hidrólise das ligações glicosídicas. Dependendo do tipo de microorganismo que produz a

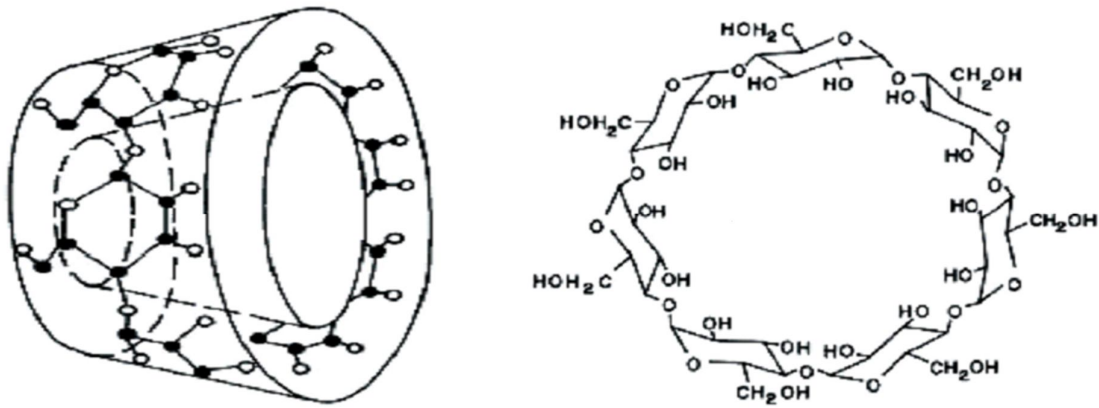
enzima e das condições da reação, são produzidos diferentes tipos de CDs. Hoje em dia, as CDs são obtidas por processos biotecnológicos em larga escala e a preços acessíveis, o que tem permitido o aumento significativo de estudos de investigação científica, assim como a sua aplicação a nível industrial (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009; NIETO-SUÁREZ; BLANCO-VILA; VILA-ROMEU, 2013).

Complexos de inclusão com CDs têm sido amplamente utilizados no campo farmacêutico para melhorar propriedades de fármacos, tais como a solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade química e física, biodisponibilidade, redução de irritações (gástrica, dérmica ou ocular), toxicidade, diminuição ou eliminação de odores ou sabores desagradáveis, conversão de medicamentos de formulações líquidas em pó amorfo ou microcristalino, e evitar interações fármaco-fármaco e fármaco-excipiente. (GUEDES et al., 2008; JULLIAN et al., 2008; RASHEED; KUMAR; SRAVANTHI, 2009).

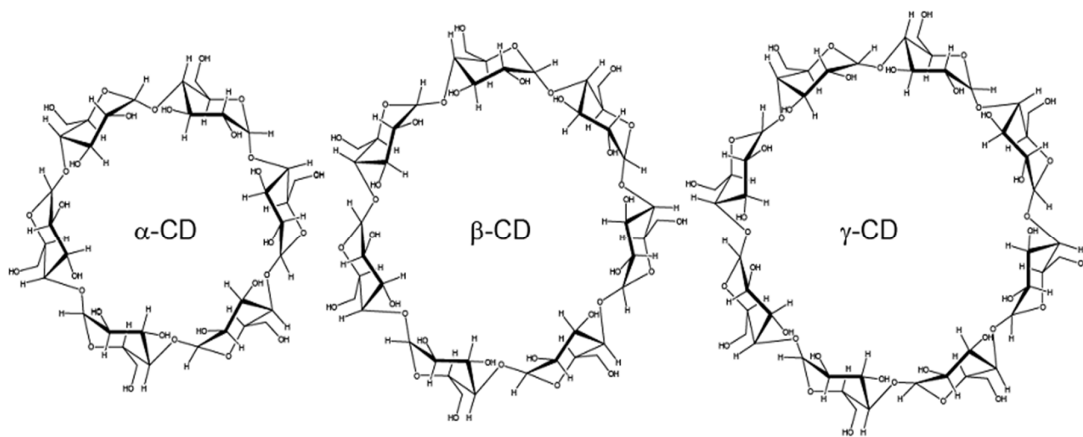
3.5.1 Estrutura química das ciclodextrinas

As CDs são oligossacarídeos cíclicos, compostos por unidades de glicose unidas através de ligações α -1,4 e classificam-se como sistemas de liberação controlada do tipo reservatório (BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004). Do ponto de vista estrutural, as CDs apresentam-se na forma de “cones truncados”, devido à conformação em cadeira das unidades de glicopiranoose, com o lado mais largo formado pelas hidroxilas secundárias em C-2 e C-3 e a face mais estreita constituída pelas hidroxilas primárias ligadas em C-6 orientadas para o exterior do anel. Os grupos hidroxilo posicionados externamente conferem características hidrófilas às CDs tornando-as solúveis na água e insolúveis na maioria dos solventes orgânicos. O interior da cavidade é constituído por dois anéis de grupos C-H e por um anel de átomos de oxigênio glicosídicos conferindo ao seu interior características hidrófobas, onde as moléculas hóspedes ou parte delas são encapsuladas, conferindo propriedades fisico-químicas únicas, sendo capazes de solubilizar-se em meio aquoso e ao mesmo tempo encapsular no interior da sua cavidade, moléculas hidrofóbicas (BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004; BREWSTER; LOFTSSON, 2007; CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007; SÁ-BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009) (Ilustração 03).

Ilustração 03: Estrutura trimendimensional e molecular da ciclodextrina (Adaptado de MEIRELLES, 2012).



As ciclodextrinas que são obtidas com maior rendimento são comumente conhecidas como CDs naturais e contêm seis, sete ou oito unidades de glicose, sendo denominadas de α -ciclodextrinas (α -CD), β -ciclodextrinas (β -CD) e γ -ciclodextrinas (γ -CD), respectivamente (CANNAVÀ et al., 2008) (Ilustração 04). Devido a fatores estéricos, ciclodextrinas tendo menos de seis unidades de glicopiranosose não podem existir (SINGH et al., 2010). Cada ciclodextrina tem a sua própria capacidade de formar complexos de inclusão com convidados específicos, uma habilidade que depende de um bom ajuste da molécula hóspede na cavidade hidrofóbica da ciclodextrina (UEKAMA; HIRAYAMA; IRIE, 1998). A solubilidade das ciclodextrinas, em água, apresenta uma tendência irregular, crescente na ordem: β -CD, α -CD e γ -CD, sendo a β -CD uma ordem de grandeza menos solúvel que as demais (EGÍDIO, 2005) (Tabela 01).

Ilustração 04: Estrutura molecular da α -, β - e γ -CD (Adaptado de BUDAL, 2003).**Tabela 01:** Algumas características da α -, β -, γ - e δ -CD. Adaptado de CHALLA et al., 2005.

Tipo de CD	Diâmetro da cavidade Å	Peso molecular	Solubilidade em água (g/ 100 mL)
α -CD	4,7 – 5,3	972	14,5
β -CD	6,0 – 6,5	1135	1,85
γ -CD	7,5 – 8,3	1297	23,2
δ -CD	10,3 – 11,2	1459	8,19

As principais vantagens de ciclodextrinas naturais como transportadoras de fármacos são as seguintes: (1) estrutura química bem definida, (2) disponibilidade de ciclodextrinas com cavidades de tamanhos diferentes, (3) baixa toxicidade e baixa atividade farmacológica, (4) relativa solubilidade em água e (5) proteção de fármacos complexados da degradação (UEKAMA; HIRAYAMA; IRIE, 1998). Com o intuito do aprimoramento das propriedades físico-químicas e capacidade de inclusão das ciclodextrinas naturais como novos veículos de fármacos, recentemente, vários tipos de derivados semi-sintéticos de ciclodextrinas foram elaborados, utilizando como ponto de partida as CDs naturais, com elevada capacidade de reconhecimento molecular e solubilidade aquosa, como a hidroxipropil- β -CD (HPCD), a sulfo-butil-éter- β -CD (SBCD) e a metil- β -CD randomizada (RMCD), ampliando suas

possibilidades de utilização (UEKAMA; HIRAYAMA; IRIE, 1998; CUNHA-FILHO; SÁ BARRETO, 2007;).

Entre as ciclodextrinas, a β -CD é amplamente utilizada devido o tamanho adequado de sua cavidade para a maior gama de medicamentos, com pesos moleculares entre 200 e 800 g mol⁻¹ e, também, devido à sua pronta disponibilidade e preço razoável. Mas a baixa solubilidade aquosa e nefrotoxicidade limitam a utilização da β -CD especialmente por via parentérica, sendo restrita a concentrações bastante baixas (CHALLA et al., 2005; CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007).

3.5.2 Complexo de Inclusão

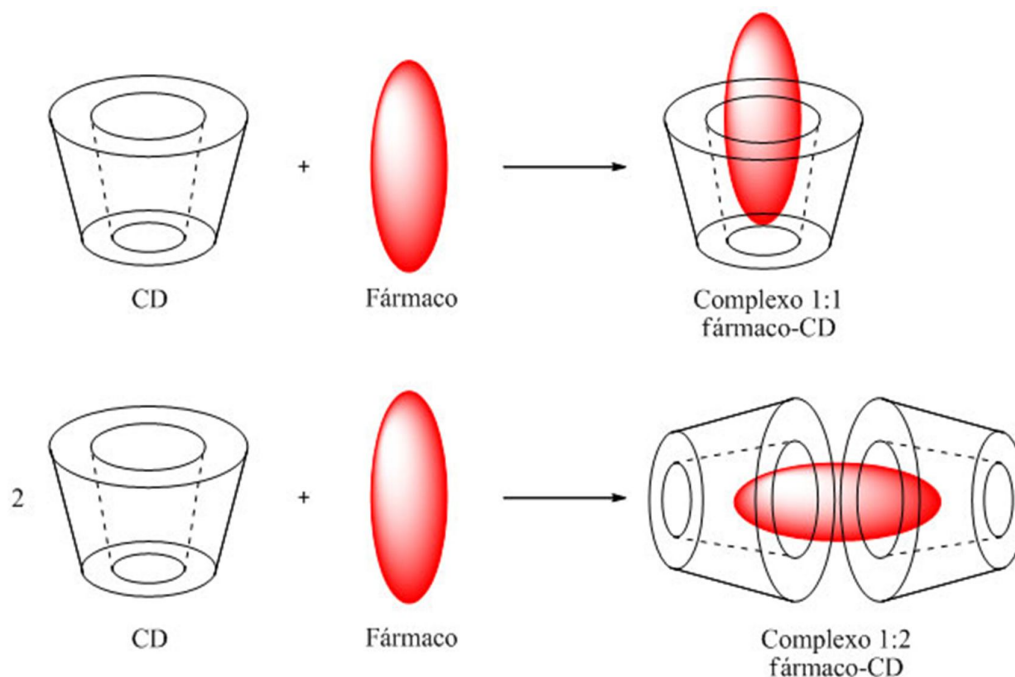
Inúmeras metodologias são utilizadas para preparo dos complexos de inclusão. As variáveis envolvidas na obtenção do complexo são baseadas nas propriedades do fármaco, como o tamanho, geometria e polaridade da molécula em relação ao hóspede, a temperatura, o uso de adjuvantes e o método de preparo. Dentre os diversos métodos de preparação de complexos de inclusão, destacam-se as técnicas de mistura física; solubilização seguida de evaporação do solvente; co-precipitação; precipitação por neutralização; malaxagem; atomização; co-evaporação do solvente; liofilização; irradiação de microondas; e anti-solvente supercrítico (MEIRELLES, 2012).

A encapsulação molecular pode ocorrer tanto em estado sólido, quanto em solução. No estado sólido, as moléculas hóspedes podem ser incluídas dentro da cavidade ou podem ser agregadas no exterior da molécula de ciclodextrina, e em solução, há equilíbrio entre moléculas complexadas e moléculas não complexadas. Entre os vários métodos de preparação, a técnica de suspensão é a mais utilizada. Suspensão de ciclodextrina (frio, quente, neutras ou ácidas), em conjunto diretamente com a molécula hóspede, sendo a solução concentrada agitada intensamente. Após atingir o equilíbrio, a água é removida ou por filtração e evaporação ou por outra técnica conveniente, por exemplo, liofilização, secagem por pulverização (spray-drying). A molécula convidada experimenta alterações das propriedades físico-químicas quando é incorporada na cavidade de ciclodextrina (FERNANDES et al., 2009; SINGH et al., 2010) (Ilustração 05).

As etapas do processo de secagem por aspersão ou spray-drying consistem: inicialmente o fluido é disperso como gotículas, produzindo uma grande área superficial. No segundo momento, ocorre contato de tais gotículas com uma corrente de ar aquecido, havendo

transferência de calor. Na terceira etapa, acontece a evaporação do solvente e a formação de partícula sólida (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009).

Ilustração 05: Formação de complexos fármaco-ciclodextrina com estequiometria 1:1 e 1:2. (Adaptado de OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009).



As extremidades da cavidade da CD isolada são abertas de tal forma que o substrato pode entrar no anel da CD por ambos os lados. Em solução aquosa, a cavidade levemente apolar é ocupada por moléculas de água que são energeticamente desfavoráveis, dada a natureza da interação polar-apolar e, portanto, podem ser facilmente substituídas por um substrato que seja menos polar que a água. Considera-se que a força motriz para a complexação seja a substituição das moléculas de água de alta entalpia por substratos apropriados, o que contribui para o aumento da estabilidade do complexo formado. Para moléculas pequenas é mais fácil formar complexos com α - e β -CD devido à compatibilidade do volume do substrato e da CD. Já no caso da γ -CD, se o substrato for muito pequeno o encaixe torna-se desfavorável, devido ao tamanho muito maior da cavidade desta CD (VENTURINI et al., 2008).

Interações eletrostáticas, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, transferências de cargas e efeitos estéreos também contribuem para formação e estabilização dos complexos de inclusão (CIs). De forma geral, nenhuma interação fraca individualmente é capaz de levar à interação específica de duas

moléculas e tal fato somente pode ocorrer através da cooperação de diversas interações fracas simultâneas. Desta forma, as moléculas interagem umas com as outras à medida que são influenciadas por forças decorrentes das características próprias de cada substância. Ocorre então, um fenômeno complexo de interação molecular, uma vez que cada interação corresponde a um conjunto de forças distintas (VENTURINI et al., 2008; GÓRNAS et al., 2009).

As propriedades físico-químicas dos fármacos e das CDs isoladamente são diferentes daquelas apresentadas quando estão complexados; a molécula hóspede experimenta mudanças nas propriedades físico-químicas quando é incorporada à cavidade da ciclodextrina, por isso é importante a caracterização do material obtido a fim de confirmar a formação do complexo e determinar suas propriedades (SINGH et al., 2010). Partindo deste conceito, qualquer metodologia que tenha sensibilidade suficiente para medir estas diferenças pode ser utilizada para caracterizar estes complexos sob diferentes pontos de vista, permitindo direcionar os fenômenos de inclusão de acordo com as necessidades. Os complexos de inclusão formados entre moléculas hóspedes e ciclodextrinas podem ser caracterizados tanto no estado sólido, quanto em solução, a partir de técnicas que se complementam para elucidar as propriedades do novo composto (BRITTO; NASCIMENTO JR; SANTOS, 2004; CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007; SINGH et al., 2010).

No estado sólido, o complexo pode ser caracterizado a partir de análise térmica; microscopia eletrônica de varredura; difração de raios X; teste de dissolução e espectroscopia no infravermelho. Porém, no estado líquido, técnicas eletroquímicas; diagrama de solubilidade de fases; métodos espectroscópicos; ressonância magnética nuclear (RMN) e microcalorimetria são mais utilizadas (MEIRELLES, 2012).

3.6 Caracterização

Dentre as técnicas utilizadas para caracterizar complexos de inclusão, os métodos espectroscópicos oferecem vantagens importantes nas análises, como por exemplo, não serem destrutivos, permitirem informações químicas, serem rápidos e utilizarem pequenas quantidades e concentrações de material (CANNAVÀ et al., 2008).

3.6.1. Difração de Raios-X

Através do método de análise por difração de raios-x, podem ser detectados compostos de inclusão cristalinos, devido os padrões de difração dos complexos obtidos serem notoriamente diferentes dos obtidos a partir dos componentes individuais. O uso desta técnica se baseia na comparação dos difratogramas das substâncias puras e do complexo. A observação de um difratograma com características de material amorfo, sem picos bem definidos, pode ser indicativo da ocorrência de complexação (SZEJTLI, 1998; DODZIUK, 2006; CORTI et al., 2007).

3.6.2. Infravermelho (IV)

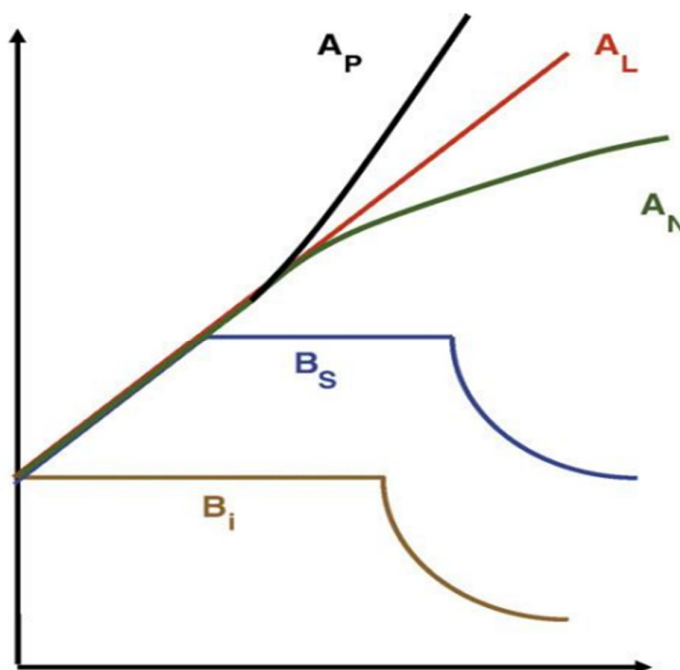
Ainda que as informações conseguidas por este ensaio apresente limitações, as técnicas de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) são bastante utilizadas na caracterização de sistemas sólidos com CDs, por serem determinações rápidas e precisas. A débil natureza dos fenômenos envolvidos na complexação torna os desvios e mudanças de intensidade das bandas correspondentes aos grupos químicos do fármaco ou da ciclodextrina bastante sutis, requerendo uma cuidadosa interpretação dos dados (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007). A partir da comparação dos espectros de infravermelho do fármaco puro e dos complexos sólidos obtidos, a formação dos CIs na fase sólida pode ser avaliada (SPRICIGO et al., 2008). São verificadas, portanto, interações em nível molecular, detectando as mudanças significativas na forma e na posição das faixas de absorbância, através do espectro vibracional dos diferentes grupos funcionais das moléculas de fármacos complexados ou livres (LYRA et al., 2010).

3.6.3. Diagrama de solubilidade

O diagrama de solubilidade é um dos métodos clássicos para verificação da formação do complexo de inclusão, a partir da constante de estabilidade e sua estequiometria. A técnica desenvolvida e interpretada por Higuchi e Connors, (1965), é a abordagem mais utilizada, pois permite avaliar os diferentes comportamentos dos fármacos adicionados em excesso a volumes fixos de soluções de ciclodextrinas em concentrações crescentes, permitindo obter a constante de estabilidade (K_c) e a estequiometria de formação do complexo, a partir da

solubilidade intrínseca do substrato (S_0), e a inclinação da reta resultante do diagrama de solubilidade; podendo ser classificados em dois tipos: A e B (Ilustração 06) (LYRA et al., 2010; MEIRELLES, 2012).

Ilustração 06: Perfis de solubilidade de fases (Adaptado de MEIRELLES, 2012).



No sistema A, ocorre um aumento gradual da solubilidade em função da concentração de CD, com subtipos A_L (solubilidade aumentada em função do aumento da concentração de CD), A_P e A_N (estequiometria maior e menor que 1, respectivamente), assim classificados conforme a inclinação da reta (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010). Enquanto o sistema B representa os complexos cuja solubilidade aquosa é limitada, dividindo-se ainda em sistemas B_S (incremento inicial de solubilidade, seguido por um equilíbrio e, ao atingir o limite de solubilidade, precipita-se) e B_I (não possui solubilidade diferente do fármaco livre, mantendo o equilíbrio até que inicie a precipitação do complexo formado) (MEIRELLES, 2012).

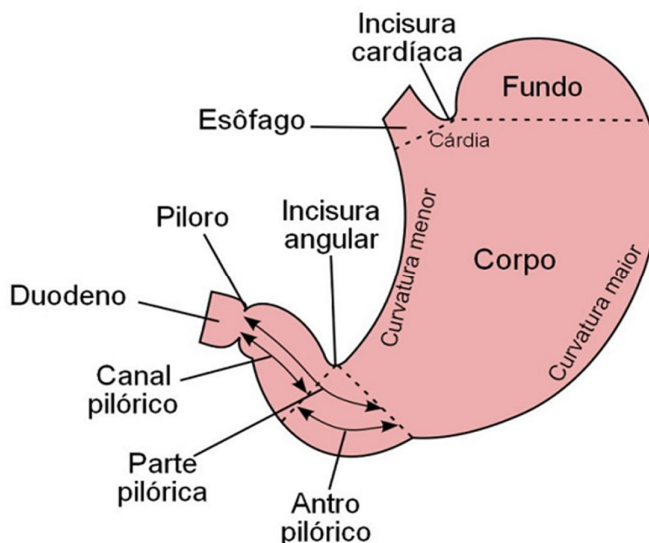
3.7 Atividade gastroprotetora

3.7.1 Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal (TGI)

O trato gastrintestinal (TGI) é um dos sistemas do organismo de importância fundamental, considerando sua função de prover o mesmo de água, eletrólitos e alimentos (GUYTON; HALL, 2006). É um tubo muscular derivado do mesoderma com um epitélio especializado que se estende desde a faringe posterior até o ânus. Além de serem responsáveis pela digestão, absorção e excreção das substâncias ingeridas, os órgãos que pertencem ao trato gastrintestinal também coordenam o maior número de células endócrinas e imunes do organismo (AHLMAN; NILSSON, 2001).

Como parte do TGI, o estômago é um órgão muscular oco, grande, em forma de feijão e é constituído por várias camadas de músculo liso e revestido por uma mucosa, sendo dividido em quatro regiões anatômicas: cárdia, fundo, corpo e antro, limitado por dois sistemas esfíncterianos: o esfíncter esofágico inferior, na parte superior ou proximal do estômago; e o esfíncter pilórico, na parte inferior ou distal do estômago (Ilustração 07). Este órgão está envolvido na digestão de proteínas e possui depressões e glândulas em toda sua extensão, sendo a superfície constituída por células epiteliais secretoras de muco e os sulcos, por células parietais, principais, enterocromafins (ECL) e células G, produtoras de gastrina (HOGBEN et al., 1974; SANTOS, 2007; SOUSA, 2009).

Ilustração 07: Anatomia do estômago (Adaptado de BURCI, 2011).



As suas funções dependem de propriedades inerentes à musculatura lisa intestinal, reflexos de neurônios intrínsecos no intestino e no sistema nervoso central (SNC), efeitos

parácrinos de mediadores químicos e hormônios gastrointestinais (WILLIAM, 2003). Porém, a maioria de suas funções é autônoma e controlada predominantemente pelo sistema nervoso entérico (SNE) (HOOGERWERF; PASRICHA, 2003). O SNE está presente na parede do TGI, do esôfago até o ânus, e é formado por aproximadamente 100 milhões de neurônios, o equivalente ao total de neurônios presentes na medula espinhal e está envolvido no controle da motilidade e secreção do TGI (SANTOS, 2007).

3.7.2 Secreção ácida gástrica

A secreção de ácido clorídrico constitui uma das mais importantes funções do estômago, ocorrendo nas células parietais através da H^+K^+ -adenosina trifosfatase (H^+K^+ /ATPase – bomba de prótons). O ácido gástrico facilita a digestão de proteínas e absorção de ferro, cálcio e vitamina B-12, além de prevenir o desenvolvimento bacteriano e outras infecções entéricas (SCHUBERT; PEURA, 2008; OLIVEIRA et al., 2012). A troca iônica (H^+K^+) promovida pela bomba de prótons é acompanhada pela extrusão de íons cloro, da célula parietal, via canais de cloro localizados na membrana apical da célula parietal. Os íons de H^+ e Cl^- ligam-se formando o ácido clorídrico, que atingirá o lúmen gástrico (POTRICH, 2009). O íon bicarbonato (HCO_3^-), formado pela dissociação do ácido carbônico (H_2CO_3) é expelido por antiporte na membrana basolateral das células parietais que trocam o HCO_2^- pelo íon cloreto (Cl^-) (WILLIAM, 2003).

Os principais estimulantes da secreção ácida são a histamina, liberada a partir de células ECL (parácrinas), a gastrina, liberada a partir de células G (hormonais) e a acetilcolina, liberada a partir de neurônios entéricos pós-ganglionares (neurônios). O principal inibidor da secreção ácida é a somatostatina, produzida por células D oxínticas e pilóricas (parácrinas). Cada um desses agentes atua diretamente na célula parietal bem como, indiretamente, modulando a secreção de células neuroendócrinas (SOLL, 1982).

A secreção ácida pela célula parietal envolve a elevação dos níveis intracelulares de cálcio e adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC), seguido pela translocação da H^+,K^+ -ATPase das túbulovesículas citoplasmáticas para a membrana apical da célula parietal (BURCI, 2011).

A gastrina, produzida pelas células G, pode ser liberada através da distensão local do estômago e composição química do conteúdo gástrico, e é o principal hormônio estimulante de secreção ácida durante a ingestão de alimentos (SCHUBERT, 2004; OLIVEIRA et al., 2012).

A acetilcolina, liberada pelos neurônios pós-ganglionares do SNE, estimula a secreção ácida ao ativar diretamente os receptores M3 das células parietais. Também podem atuar através da regulação da ativação das células ECL, via liberação de gastrina pelas células G e/ou pela liberação de neuropeptídios (AIHARA et al., 2005). Atua também indiretamente pela eliminação do efeito inibitório que a somatostatina exerce, tanto nas células parietais como nas células ECL, assim como em receptores muscarínicos presentes nas células ECL, estimulando a liberação de histamina e estimulando a liberação de gastrina, nas células D (JAIN et al., 2007; YAMAJI et al., 2007).

A principal substância inibitória da secreção ácida é a somatostatina, que consiste de um peptídeo inibitório liberado pelas células D localizadas nas áreas do antro e do fundo do estômago. Seu efeito antissecretor pode ser atribuído a dois mecanismos, sendo o primeiro devido à interação direta sobre as células parietais, e o outro devido à inibição da liberação de histamina pelas células ECL e sobre a liberação de gastrina pelas células G. As ações da somatostatina são mediadas via cinco subtipos de receptores acoplados à proteína G, conhecidos como SSTR1 a SSTR5 (KOMASAKA et al., 2002; SAMUELSON; HINKLE, 2003).

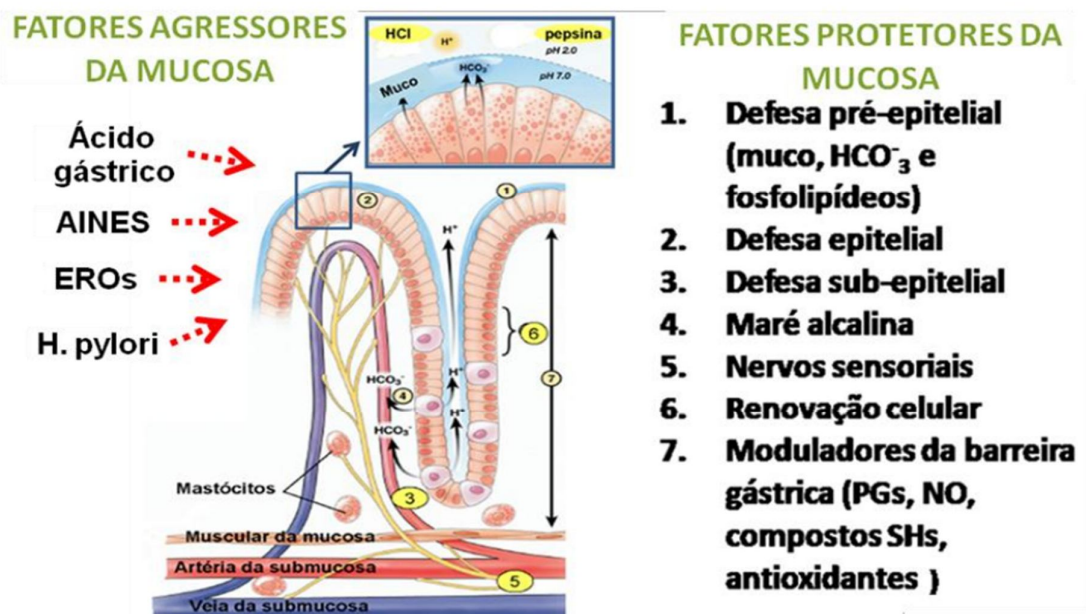
Outros fatores também agem inibindo a secreção gástrica, como a adrenomedulina, a amilina e as prostaglandinas (OLIVEIRA et al., 2012). As prostaglandinas (PGs) atuam inibindo a secreção de ácido por ação direta nas células parietais ou de forma indireta pela inibição da secreção de gastrina. Assim, prostaglandina E2 (PGE2) e prostaciclina (PGI2) ao atuarem em seus respectivos receptores acoplados a uma proteína Gi, promovem a inibição da adenilato ciclase, resultando na inibição da secreção ácida (BURCI, 2011). Além disso, PGE2 e PGI2 também inibem a secreção ácida através da inibição da secreção de histamina pelas células ECL (ATAY; TARNAWSKI; DUBOIS, 2000).

A secreção do ácido gástrico é extremamente importante, visto que é responsável pelo processo digestivo (para a formação do bolo alimentar denominado quimo, que será absorvido posteriormente no intestino delgado) e por promover a proteção do organismo contra possível contaminação bacteriana. Além disso, a regulação fisiológica da secreção ácida gástrica é a principal terapia no tratamento de distúrbios gástricos. Porém existem diversos mecanismos pelo qual o organismo promove a proteção e mantém a integridade da mucosa gástrica (POTRICH, 2009).

3.7.3 Protetores da mucosa gástrica

É sabido que o estômago pode se defender dos danos causados por uma variedade de agentes irritantes e nocivos devido à ativação de várias linhas de defesa, num processo conhecido como defesa da mucosa (BRZOZOWSKI et al., 2003). Este termo é usado para descrever os vários fatores e componentes que permitem a mucosa permanecer intacta apesar de sua frequente exposição às substâncias com larga variação de temperatura, pH e osmolaridade, assim como substâncias com ações detergentes ou citotóxicas e produtos bacterianos capazes de causar reações inflamatórias sistêmicas e locais (WALLACE; GRANGER, 1996). Esse processo de defesa inclui mecanismos locais e neurohormonais. Entre os mecanismos locais, os mais importantes incluem a barreira muco-bicarbonato-fosfolipídeos, as células epiteliais de superfície e sua capacidade de regeneração rápida, o fluxo alcalino, a geração contínua de prostaglandinas E2 e I2 (PGE2 e PGI2), a microcirculação na mucosa (BRZOZOWSKI et al., 2003; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI 2008) e a liberação de óxido nítrico e compostos sulfidrílicos que tornam seletiva a passagem das substâncias (ROZZA, 2009) (Ilustração 08).

Ilustração 08: Fatores agressores e protetores da mucosa gástrica (Adaptado de OLIVEIRA et al., 2012).



Constituem a primeira linha de defesa do estômago os fatores secretados no lúmen: ácido gástrico (importante na redução da colonização bacteriana no estômago), bicarbonato, muco, imunoglobulinas e outras substâncias antibacterianas, protegendo contra fatores agressores exógenos e endógenos (WALLACE; GRANGER, 1996).

O muco é secretado pelas células epiteliais secretoras de muco e células mucosas do colo e seus principais constituintes são glicoproteínas, mucinas e água (PHILLIPSON et al., 2008). A camada muco-bicarbonato-fosfolipídeos retém o bicarbonato secretado pelas células epiteliais, mantendo um microambiente de pH neutro na superfície das células e prevenindo a penetração de pepsina e consequente proteólise do epitélio (TARNAWSKI et al., 2001; VALCHEVA-KUZMANOVA et al., 2005). O muco também atua como lubrificante para reduzir o dano físico ao epitélio causado pelos materiais ingeridos e como armadilha para as bactérias, diminuindo a possibilidade de que bactérias acessem o epitélio (BELLEY; KELLER; GOTTKER, 1999). Quando a barreira formada pelo muco está prejudicada, a próxima série de mecanismos protetores entra em ação, incluindo a neutralização intracelular de ácido, rápido reparo epitelial e manutenção e distribuição de fluxo sanguíneo na mucosa (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A produção de bicarbonato pelas células epiteliais superficiais é estimulada pelas PG endógenas (PHILLIPSON et al., 2002), NO e neurônio aferentes sensíveis a capsaicina, e regulada pelo ácido luminal (KAGAWA et al., 2003). O chamado fluxo alcalino ocorre porque células parietais que secretam ácido clorídrico no lúmen da glândula gástrica simultaneamente secretam bicarbonato no interstício e lúmen dos capilares sanguíneos adjacentes. Esse bicarbonato é transportado para a base das células epiteliais superficiais e para o lúmen gástrico, onde contribui para a manutenção da camada muco-bicarbonato (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

A segunda linha de defesa é formada por uma camada contínua de células epiteliais de superfície, que secretam muco e bicarbonato e gera prostaglandinas. Estas células formam uma barreira que impede a difusão do ácido gástrico e da pepsina. Devido à presença dos fosfolipídios na superfície, essas células são hidrofóbicas, repelindo agentes danosos solúveis em ácido ou água (LICHTENBERGER, 1999), e sua renovação é contínua, mantendo a integridade estrutural da mucosa. As junções fechadas e outras barreiras intercelulares controlam a passagem de agentes lesivos do lúmen para a mucosa gástrica, para espaços intersticiais e submucosos (OLIVEIRA et al., 2012).

A microcirculação na mucosa é determinante para a integridade da mucosa gástrica, para entrega de oxigênio e nutrientes e remoção de substâncias tóxicas, constituindo a terceira linha de defesa. Quando a mucosa gástrica é exposta a um agente irritante ou quando ocorre a re-difusão de ácido, há rápido aumento no fluxo sanguíneo, que permite remover ou diluir o retorno do ácido gástrico. Todos os mecanismos de defesa e reparo dependem de um suporte eficiente de fluxo sanguíneo. Situações de isquemia comprometem a proteção da mucosa gastrointestinal e pode levar a proliferação bacteriana e doenças sistêmicas (MAITY et al., 2003; LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008).

O quarto nível de defesa é constituído pelo sistema imunológico da mucosa, que inclui a participação das células de alerta como mastócitos e macrófagos que, por sua vez, mobilizam todo sistema imunológico celular para uma resposta inflamatória de proteção (WALLACE, 2001). A mucosa não é impenetrável a diversas substâncias ingeridas ou produzidas. Deste modo, a formação de úlceras e a ocorrência de danos são inevitáveis (BERSTAD; BERSTAD, 1993).

3.7.4 Agressores da mucosa gástrica

A mucosa gástrica é continuamente exposta a vários fatores e agentes nocivos, sejam eles endógenos (ácido clorídrico e pepsina) ou exógenos (*Helicobacter pylori*, fumo, ingestão de álcool, uso de AINEs, estresse). Apesar de potentes mecanismos de defesa que protegem a mucosa de possíveis lesões, agressões à mucosa sempre ocorrem (POTRICH, 2009).

Os AINES estão entre os fármacos mais utilizados/prescritos no tratamento da dor, febre e inflamação e que mais desencadeiam efeitos indesejáveis; aproximadamente 20% dos usuários regulares de AINES desenvolvem uma úlcera de estômago ou duodeno (COSTA, 2009). A maioria desses efeitos relaciona-se ao sistema digestório, destacando-se a capacidade de causar principalmente gastrite aguda, dispepsia e úlcera péptica (WALLACE, 2001; BAYIR et al., 2006). Ambos os efeitos dos AINES, adversos e terapêuticos, são atribuídos a sua capacidade de reduzir a produção de PG, através da inibição da COX (FORNAI et al., 2005). Pesquisas baseadas nos estudos da atividade dos dois tipos de COX culminaram com o desenvolvimento dos inibidores seletivos da COX-2, os COXIBs. Estes compostos prometem promover inibição específica e efetiva sobre a COX-2, induzida/inflamatória, poupando a atividade da COX-1, fisiológica. Entretanto, o conceito de que uma

única e exclusiva isoforma da COX estejam implicadas nos processos de homeostase/patogenia tem sido questionado (MOREAU et al., 2005).

O NO é um importante transmissor endógeno, produzido pela ação da NO sintase induzida (NOS_i) ou constitutiva (NOS_c). É evidenciado na literatura o efeito protetor ou prejudicial do NO na patofisiologia da gastroproteção (NATALE et al., 2004). Embora a produção de NO pela NOS_c seja importante na manutenção da integridade da mucosa, recentes estudos demonstram que o NO atua de maneira bifásica na resposta ulcerogênica da mucosa gastrointestinal, dependendo da isoforma da NOS. Ou seja, o NO produzido pela NOS_c apresentaria efeito protetor, e o NO originário da NOS_i teria um efeito pró-ulcerogênico (NISHIO et al., 2006).

O *Helicobacter pylori* (Hp) também é apontado como um fator envolvido no desencadeamento das lesões gástricas ulcerativas. Trata-se de um bastonete gram-negativo, flagelado em forma de espiral e que coloniza o estômago e o duodeno e é apontado como um importante fator de risco para úlceras gastroduodenais, sendo sua transmissão na população desconhecida. Existem relatos que ambas as vias de transmissão, oral-oral e oral-fecal, ocorre em humanos. O homem parece ser o principal reservatório do agente infeccioso (CZESNIKIEWICZ-GUZIK et al., 2005; PASSOS, 2007; LINZ; SCHUSTER, 2007). Metade da população mundial está infectada por este microrganismo, porém 80% desses indivíduos permanecem sem nenhuma evidência clínica de doença e somente uma pequena percentagem desenvolve sintomas relacionados à sua presença (AMIEVA; EL-OMAR, 2008). Vale ressaltar que a lesão tecidual proporcionada pelo *Helicobacter pylori* depende de fatores do hospedeiro e da bactéria, sendo que a interferência deste microrganismo é determinada pela complexa interação entre estes. Contudo, pode-se ainda considerar que foram identificadas na população pessoas saudáveis colonizadas pela bactéria, que não desenvolviam as úlceras e indivíduos acometidos pela doença sem a presença dessa bactéria (SIQUEIRA et al., 2007).

Conforme as informações relacionadas à etiopatogenia da doença, é possível observar a complexidade do tratamento a ser empregado nos pacientes acometidos por esta enfermidade. Aplicam-se a estes casos, de acordo com o estágio em que se encontra o distúrbio, desde antiácidos, medicamento paliativos que consistem apenas em neutralizar a secreção ácida do estômago, até os inibidores de bomba de prótons, os quais diminuem a secreção ácida do estômago. Os inibidores de bomba são considerados na atualidade, juntamente com o metronidazol e a amoxicilina, a terapia tríplice indicada como tratamento de primeira escolha (SANTOS, 2007).

3.7.5 Úlcera péptica: etiologia e terapêutica

A úlcera é considerada uma lesão benigna profunda da mucosa gástrica ou duodenal, ocorrendo quando o epitélio gástrico é exposto às secreções gástricas (ácido-péptico), ocorrendo um desequilíbrio entre os fatores agressores e os mecanismos de defesa da mucosa gástrica (MAYER, 2007). De acordo com Otofujii (2005), a lesão celular da mucosa gástrica pode ocorrer por causas adquiridas ou inatas, sendo que as cinco causas mais comuns são: (1) hipóxia e isquemia (resultante da diminuição do fluxo sanguíneo ou do decréscimo da hemoglobina ou ainda da diminuição das enzimas antioxidantes dos tecidos); (2) por agentes químicos (como monoaminas, eicosanóides, endotelinas, fármacos sintéticos, e principalmente substâncias químicas ingeridas propositadamente como o etanol); (3) por agentes biológicos (como vírus, bactérias, fungos, parasitas, levando a reações imunológicas que geralmente são desenvolvidas para a defesa do organismo, entretanto produzem radicais livres tóxicos que contribuem para o dano tecidual); (4) por fatores físicos (estresse, temperaturas extremas, força mecânica) e (5) por defeitos genéticos (SOUSA, 2009).

Constitui uma doença crônica e recorrente (GUYTON; HALL, 2006), sendo o distúrbio gastrointestinal mais comum na prática clínica (BAFNA; BALARAMAN, 2004). É uma das doenças crônicas mais comuns em adultos, ocorrendo em 5% a 10% da população. Embora apresente chance de cura superior a 95%, a chance de reincidência está entre 65% a 80% até um ano após a cura e quase 100% até dois anos (FAN et al., 2005).

Outro fator de grande importância no desenvolvimento de úlceras gástricas é o consumo de álcool pela população, que pode produzir erosão gástrica aguda hemorrágica. A ingestão excessiva pode resultar em gastrite caracterizada por edema, hemorragia sub-epitelial, esfoliação celular e infiltração de células inflamatórias na mucosa gástrica (JAHOVIC et al., 2007; MATSUHASHI et al., 2007).

As úlceras podem levar a certas complicações caso não sejam tratadas. Estas complicações podem ser: hemorragias que podem ser lentas causando uma anemia crônica e fadiga constante ou hemorragias rápidas podendo levar o paciente a ter vômitos enegrecidos (hematêmese) ou evacuação enegrecida (melena) devido à presença do sangue que sofreu digestão; perfuração da mucosa gástrica pelo ácido clorídrico levando a uma dor intensa, aguda e com necessidade de cirurgia de emergência devido ao extravasamento do suco gástrico para o peritônio causando peritonite; e obstrução, pois a presença da inflamação

crônica de uma úlcera pode causar um inchaço local e cicatrização levando a diminuição do espaço por onde o alimento passa (GASTRONET, 2013).

Têm sido contínua e importante a investigação de novos fármacos para o tratamento de doenças relacionadas à ação da acidez gástrica sobre órgãos do trato gastrintestinal. A supressão da secreção ácida gástrica, que constitui o tratamento mais utilizado, mesmo que em doses recomendadas, às vezes pode conduzir a uma acloridria (ausência de ácido clorídrico) podendo desencadear infecções entéricas como a febre tifóide, cólera e disenteria (JAIN et al., 2007).

Existe uma grande variedade de estudos com substâncias químicas isoladas e extrato de plantas com significativa atividade gastroprotetora, sinalizando a importância do aprofundamento em modelos experimentais na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos eficazes e com menores efeitos adversos daquelas disponibilizadas no mercado atualmente (MAYER, 2007; COSTA, 2009; BURCI, 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

3.7.6 Tratamento

Muitos produtos farmacêuticos têm sido utilizados para o tratamento de úlceras, resultando em quedas nas taxas de mortalidade e morbidade, mas eles não são completamente efetivos e produzem uma série de efeitos colaterais (RATES, 2001).

Os fármacos utilizados no tratamento dos distúrbios acidopépticos podem ser divididos em duas classes: agentes que reduzem a acidez intragástrica e agentes que promovem a defesa da mucosa. Dentre os agentes que reduzem a acidez, citam-se: os antiácidos, que são bases fracas que reagem com o ácido clorídrico gástrico, formando sal e água; embora seu principal mecanismo de ação consista em reduzir a acidez intragástrica, os antiácidos podem promover os mecanismos de defesa da mucosa através da estimulação da produção de prostaglandinas. Como exemplo de antiácidos, têm-se o bicarbonato de sódio, bicarbonato de cálcio, hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio (KATZUNG, 2010).

Enquadram-se também na categoria de antiácidos, os antagonistas dos receptores H_2 , que inibem competitivamente nos receptores H_2 das células parietais e suprimem a secreção ácida tanto basal quanto estimulada pelo alimento; também diminuem a secreção de ácido estimulada pela histamina bem como pela gastrina. Os fármacos cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina fazem parte desta classe. Os inibidores da bomba de prótons são os agentes supressores mais potentes da secreção de ácido gástrico. Nas doses típicas, esses fármacos diminuem a produção diária de ácido (basal e estimulada) em 80 a 95%. São pró-

fármacos que exigem ativação em ambiente ácido. Após sua absorção na circulação sistêmica, o pró-fármaco difunde-se nas células parietais do estômago e acumula-se nos canálculos secretores ácidos, onde é ativado, restando o fármaco de modo que ele não pode difundir-se novamente através da membrana canalicular. A seguir, a forma ativada inativa a bomba de prótons, retornando a secreção ácida somente após a síntese de novas bombas. Omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, rabeprazol e pantoprazol, são exemplos dos fármacos desta classe (GOODMAN; GILMAN, 2010).

Já na categoria de protetores da mucosa, citam-se o sucralfato, análogos da prostaglandinas (misoprostol) e compostos de bismuto coloidal (KATZUNG, 2010).

3.8 Atividade Antioxidante

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Os processos oxidativos geram radicais livres, que são átomos ou grupos de átomos com número de elétrons desemparelhados e podem ser formados quando o oxigênio interage com determinadas moléculas (AGRAWAL; KULKARNI; SHARMA, 2011; SILVA, et al., 2012). Os radicais livres são conhecidos como sendo a principal causa de diversas doenças crônicas e degenerativas, incluindo o envelhecimento, doença cardíaca coronária, inflamação, acidente vascular cerebral, diabetes mellitus e câncer, podendo causar lesões celulares e iniciar a peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados nas membranas biológicas (BAGHIANI et al., 2011).

Uma das maneiras mais eficazes de combater os danos ocasionados pelos processos oxidativos é através do maior fornecimento de substâncias antioxidantes no organismo, principalmente os naturais, sendo possível através do aumento do consumo de vegetais e frutas. Antioxidantes são considerados como possíveis agentes de proteção reduzindo o dano oxidativo do corpo humano, sendo capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, prevenindo o início da peroxidação lipídica, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos (AGRAWAL; KULKARNI; SHARMA, 2011; BOKHARI et al., 2012; SILVA, et al., 2012).

As plantas medicinais têm sido utilizadas com fins terapêuticos desde o início da civilização humana, para a prevenção e profilaxia de diversas doenças (VEIGA JR. et al., 2005). Devido à situação geográfica brasileira e sua flora bastante diversificada, existem diversos estudos com substâncias naturais derivadas de plantas para o tratamento de inúmeras patologias. Neste contexto, destaca-se a utilização de antioxidantes naturais, especialmente

para inibir a peroxidação lipídica ou para proteger contra danos gerados por radicais livres, objetivando o desenvolvimento de novos fármacos que possam apresentar diversas vantagens, como efetividade, potência e menos efeitos colaterais, em relação aos fármacos disponíveis (ALMEIDA et al., 1999; NAGMOTI et al., 2012; SILVA, et al., 2012).

REFERÊNCIAS

AGA, H.; SHIBUYA, T.; SUGIMOTO, T.; KURIMOTO, M.; NAKAJIMA, S. Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 58, n. 5, p. 945-946, 1994.

AGRAWAL, S.; KULKARNI, G. T.; SHARMA, V. N. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts of *Terminalia paniculata* and *Madhuca longifolia*. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 1, n. 4, p. 62-68, 2011.

AGUIAR, L. P.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; SOUZA, V. A. B. D. Caracterização física e físico-química de frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, 2008.

AHLMAN, H.; NILSSON. The gut as the largest endocrine organ in the body. **Annals of Oncology**, v.12, n. 2, p. S63-S68, 2001

AIHARA, T.; NAKAMURA, Y.; TAKETO, M. M.; MATSUI, M.; OKABE, S. Cholinergically stimulated gastric acid secretion is mediated by M3 and M5 but not M1 muscarinic acetylcholine receptors in mice. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 288, n. 6, p. G1199-G1207, 2005.

ALCOFORADO FILHO, F. G.; REIS, M. M. D.; MOURA, A. F.; ARAÚJO, E. C. E. Caracterização dos frutos de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae). **Universidade de Brasília Brasília**, p. 35, 1996.

ALMEIDA, R. N.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M.F.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 80, p. 72-76, 1999.

AMIEVA, M. R.; EL-OMAR, E. M. Host-Bacterial Interactions in *Helicobacter pylori* Infection. **Gastroenterology**, v. 134, n. 1, p. 306-323, 2008.

ASASE, A.; KADERA, M. L. Herbal medicines for child healthcare from Ghana. **Journal of Herbal Medicine**, 2013.

ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S.; DUBOIS, A. Eicosanoids and the stomach. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 61, n. 3, p. 105-124, 2000.

BAFNA, P. A.; BALARAMAN, R. Anti-ulcer and antioxidant activity of DHC-1, a herbal formulation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 123-127, 2004.

BAGHIANI, A.; BOUMERFEG, S.; ADJADJ, M.; AMENI, D.; DJERMOUNI, M.; KHELIFI-TOUHAMI, F.; CHAREF, N.; KHENNOUF, S.; ARRAR, L. Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga iva* L. Extracts. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 1, n. 4, p. 21-30, 2011.

- BARBOSA, W.C.; NAZARÉ, R. F. R.; NAGATA, I. Estudos físicos e químicos dos frutos: bacuri (*Platonia insignis*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e muruci (*Byrsonima crassifolia*). In: **Congresso brasileiro de fruticultura**, 2, Pelotas. Anais. Pelotas: SBF, v. 2, p.797-808, 1979.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil Minas Gerais: Viçosa**, 309 p. 2002.
- BAYIR, Y.; ODABASOGLU, F.; ÇAKIR, A.; ASLAN, A.; SULEYMAN, H.; HALICI, M.; KAZAZ, C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. **Phytomedicine**, v. 13, n. 8, p. 584-590, 2006.
- BELLEY, A.; KELLER, K.; GÖTTKE, M.; CHADEE, K.; GÖETTKE, M. Intestinal mucins in colonization and host defense against pathogens. **Am J Trop Med Hyg**, v. 60, n. 4, p. 10-15, 1999.
- BERSTAD, K.; BERSTAD, A. *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 28, n. 7, p. 561-567, 1993.
- BILANDA, D. C.; DIMO, T.; DZEUFUET DJOMENI, P. D.; BELLA, N. M. T.; ABOUBAKAR, O. B. F.; NGUELEFACK, T. B.; TAN, P. V.; KAMTCHOING, P. Antihypertensive and antioxidant effects of *Allanblackia floribunda* Oliv. (Clusiaceae) aqueous. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, n. 3, p. 634-640, 2010.
- BOKHARI, J.; KHAN, M. R.; SHABBIR, M.; RASHID, U.; JAN, S.; ZA, J. A. Evaluation of diverse antioxidant activities of *Galium aparine*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 2012.
- BOUDJELAL, A.; HENCHIRI, C.; SARI, M.; SARRI, D.; HENDEL, N.; BENKHALED, A.; RUBERTO, G. Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 395-402, 2013.
- BRAGA, R. **Plantas medicinais do Nordeste, especialmente do Ceará**: Mossoró: ESAM, 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 645-666, 2007.
- BRITTO, M. A. F. O.; NASCIMENTO JR, C. S.; SANTOS, H. F. D. Structural analysis of cyclodextrins: a comparative study of classical and quantum mechanical methods. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 882-888, 2004.

- BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and câncer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment – polish achievements. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 54, p. 99-126, 2003.
- BUDAL, R. M.; JOVER RAMOS, A.; NASCIMENTO, M. G.; YUNES, R. A.; VÁZQUEZ TATO, J. Estudos de Formação dos Complexos de Inclusão CHAPS e CHAPSO em β - e γ -CD por RMN de ^1H e ^{13}C . In: **26a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química/SBQ**, Poços de Caldas- MG, 2003.
- BURCI, L.M. **Avaliação do Potencial Gastroprotetor e Cicatrizante da Fração Diclorometano e da Piplartina obtidos dos frutos *Piper tuberculatum* Jacq. em Ratas**. 2011. 121 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PA, 2011.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.
- CALZAVARA, B. B. G. Fruteiras: abieiro, abricozeiro, bacurizeiro, cuaçuzeiro. **Belém: IPEAN**, v. 1, 84 p., (Série Culturas da Amazônia, 2), 1970.
- CAMARGO, M. T. L. A. Medicina popular. **Rio de Janeiro: Campanha de Defesa do Folclore Brasileiro**, 47 p., 1976.
- CANNAVÀ, C.; CRUPI, V.; FICARRA, P.; GUARDO, M.; MAJOLINO, D.; STANCANELLI, R.; VENUTI, V. Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV-vis and FTIR-ATR spectroscopies. **Vibrational Spectroscopy**, v. 48, n. 2, p. 172-178, 2008.
- CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O; MÜLLER, C. H. Características físicas e de germinação de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia. **Belém: Embrapa-CPATU**, (Boletim de Pesquisa, 203), 18 p, 1998.
- CHALLA, R.; AHUJA, A.; ALI, J.; KHAR, R. K. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. **AAPS Pharm. Sci. Tech**, v. 6, n. 2, p. E329-E357, 2005.
- CHENG, W. C.; NG, C. S.; POON, N. L. Herbal Medicines and Phytopharmaceuticals – Contaminations. In: SIEGEL, J. A.; SAUKKO, P. J. e HOUCK, M. M. (Ed.). **Encyclopedia of Forensic Sciences**. Waltham: Academic Press, p.280-288, 2013.
- CHITARRA A. B.; CHITARRA M. I. F. Pós-colheita de frutos e hortaliças: Glossário. **Lavras, UFLA**, 256 p, 2005.
- CIOCHINA, R.; GROSSMAN, R. B. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols. **Chemical reviews**, v. 106, n. 9, p. 3963-3986, 2006.
- CORP, N.; PENDRY, B. The role of Western herbal medicine in the treatment of gout. **Journal of Herbal Medicine**, v. 3, p. 157-170, 2013.

- CORTI, G.; CAPASSO, G., MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MURA, P. Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 480-486, 2007.
- COSTA JÚNIOR, J. S. **Análise fitoquímica, farmacológica e toxicológica das sementes de *Platonia insignis* Mart.** 2011. 216 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada), Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2011a.
- COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; FILHO, B. A. B.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; FREITAS, R. M.; SAFFI, J. Evaluation of antioxidant effects in vitro of Garcinielliptona FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 2, p. 293-299, 2011b.
- COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; MELO CAVALCANTE, A. A. C.; FREITAS, R. M.; MOURA SPEROTTO, A. R. Investigation of Biological Activities of Dichloromethane and Ethyl Acetate Fractions of *Platonia insignis* Mart. seed. **Basic Clinical Pharmacology e Toxicology**, v. 112, n. 1, p. 34-41, 2013.
- COSTA, J. A. O. **Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (*Helianthus annuus* Linné).** 2009. 98 f. Dissertação (Mestrado em Saúde). Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, 2009.
- CRUZ, P. E. N. **Caracterização química e nutricional de algumas frutas do Estado do Maranhão.** 1988. 58 f. Tese (Titular Química de Alimentos) – Universidade Federal do Maranhão, São Luis - MA, 1988.
- CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2007.
- CZESNIKIEWICZ-GUZIŁ, M.; BIELANSKI, W.; GUZIŁ, T. J.; LOSTER, B.; KONTUREK, S. J. *Helicobacter pylori* in the oral cavity and its implications for gastric infection, periodontal health, immunology and dyspepsia. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, p. 77, 2005.
- DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G. D.; EGITO, E. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.
- DE SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.
- DODZIUK, H. Cyclodextrins and their complexes: chemistry, analytical methods, applications. **Wiley. com**, 2006.
- EGÍDIO, F. C. **Estudo sobre a solvatação de ciclodextrinas por RMN através da relaxação das moléculas de água.** 2005. 94 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2005.

- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Atlas do meio ambiente do Brasil**. Brasília: Editora Terra Viva, 256 p, 1994.
- FAN, T. Y.; FENG, Q. Q.; JIA, C. R.; FAN, Q.; LI, C. A.; BAI, X. L. Protective effect of Weikang decoction and partial ingredients on model rat with gastric mucosa ulcer. **World J. Gastroenterology**, v. 11, n. 8, p. 1204-1209, 2005.
- FAO. Especies forestales productoras de frutas y otros alimentos. Ejemplos de América Latina. **Roma: SIDA**, p. 167-170, 1987.
- FERNANDES, L. P.; OLIVEIRA, W. P.; SZTATISZ, J.; SZILÁGYI, I. M.; NOVÁK, C. Solid state studies on molecular inclusions of *Lippia sidoides* essential oil obtained by spray drying. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, p. 855-863, 2009.
- FERREIRA, F. R.; FERREIRA, S. A. N.; CARVALHO, J. D. U. **Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil**, 1987.
- FONSECA, E. T. **Frutas do Brasil**. p. 77-78, 1954.
- FONTENELE, M. A.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; ALVES, R. E.; SOUSA, P. H. M. D.; SOUZA, V. A. B. D. Conservação pós-colheita de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sob refrigeração e embalado em PVC. **Revista Ceres, Viçosa**, v. 57, p. 292-296, 2010.
- FORNAL, M.; NATALE, G.; COLUCCI, R.; TUCCORI, M.; CARAZZINA, G.; ANTONIOLI, L.; BALDI, S.; LUBRANO, V.; ABRAMO, A.; BLANDIZZI, C. Mechanisms of protection by pantoprazole against NSAID-induced gastric mucosal damage. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 372, n. 1, p. 79-87, 2005.
- GARNSEY, M. R.; MATOUS, J. A.; KWIEK, J. J.; COLTART, D. M. Asymmetric total synthesis of (+)-and (-)-clusianone and (+)-and (-)-clusianone methyl enol ether via ACC alkylation and evaluation of their anti-HIV activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 8, p. 2406-2409, 2011.
- GASTRONET. Disponível em: <<http://www.gastronet.com.br/Ulceras.htm>>. Acesso em: 24 de abril de 2013.
- GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 12ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.
- GÓRNAS, P.; NEUNERT, G.; BACZYŃSKI, K.; POLEWSKI, K. Beta-cyclodextrin complexes with chlorogenic and caffeic acids from coffee brew: Spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling study. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 190-196, 2009.
- GUEDES F. L., ALVES G. M. C., SANTOS F. L. A., LIMA L. F., ROLIM L. A., ROLIM NETO P. J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 220-235, 2008.
- GUIMARÃES, A. D. G.; MOTA, M. G. C.; NAZARÉ, R. F. R. Coleta de germoplasma de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) na Amazônia. I: microrregião Campos de Marajó (Soure/Salvaterra). Belém: Embrapa-CPATU. **Boletim de pesquisa**, v. 132, 1992.

GUSTAFSON, K. R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. G.; FULLER, R. W.; MCKEE, T. C.; CARDELLINA II, J. H.; MCMAHON, J. B.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R. Theguttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia*, and *Clusia rosea*. **Tetrahedron**, v. 48, n. 46, p. 10093-10102, 1992.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia dos Distúrbios Gastrointestinais**. In: **Tratado de Fisiologia Médica**, 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 820: 2006.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. **Advanced Analytical Chemistry Instrumental**, v. 4, n. 2 p. 207–212, 1965.

HOGBEN, C. A. M.; KENT, T. H. WOODWARD, P. A.; SILL, A. J. Quantitative histology of the gastric mucosa: man, dog cat, guinea pig, and frog. **Gastroenterology**, v. 67, n. 6, p. 1143-1154, 1974.

HOOGERWERF, W.; PASRICHA, P. J. Agentes usados para o controle da acidez gástrica e no tratamento de úlceras pépticas e da doença do refluxo gastroesofágico. In: **Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica**, Joel Hardman e Lee E. Limbird, 10 ed., Rio de Janeiro, 2003.

JÄGER, A. K.; GAUGUIN, B.; ANDERSEN, J.; ADSERSEN, A.; GUDIENSEN, L. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat depression and anxiety for affinity to the serotonin transporter and inhibition of MAO-A. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 822-825, 2012.

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

JAIN, K. S.; SHAH, A. K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S. M.; KALE, A. P.; JAGTAP, J. R.; BHOSALE, A. V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.15, n. 3, p. 1181-1205, 2007.

JULLIAN, C.; MORALES-MONTECINOS, J.; ZAPATA-TORRES, G.; AGUILERA, B.; RODRIGUEZ, J.; ARANC, V.; OLEA-AZARB, C. Characterization, phase-solubility, and molecular modeling of inclusion complex of 5-nitroindazole derivative with cyclodextrins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 5078–5084, 2008.

KAGAWA, S.; A. O. I., M.; KUBO, Y.; KOTANI, T.; TAKEUCHI, K. Stimulation by Capsaicin of Duodenal HCO_3^- Secretion via Afferent Neurons and Vanilloid Receptors in Rats Comparison with Acid-Induced HCO_3^- Response. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 48, n. 9, p. 1850–1856, 2003.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 1oª ed. Porto Alegre: AMGH, 2010.

KOMASAKA, M.; HORIE, S.; WATANABE, K.; MURAYAMA, T. Antisecretory effect of somatostatin on gastric acid via inhibition of histamine release in isolated mouse stomach. **European Journal of Pharmacology**, v. 452, n. 2, p. 235-243, 2002.

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

- LICHTENBERGER, L. M. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 15, n. 6, p. 463–472, 1999.
- LIMA, M. M. O. ; VIEIRA, L. F.; COSTA JÚNIOR, J. S. Avaliação da atividade antioxidante de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae). In: **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, João Pessoa, 2007.
- LINZ, B.; SCHUSTER, S. C. Genomic diversity in Helicobacter and related organisms. **Research in Microbiology**, v. 158, n. 10, p.737-44, 2007.
- LOFTSSON, T.; DUCHENE D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1, p. 1-11, 2007.
- LOFTSSON, T.; HREINSDOTTIR, D.; MASSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, n. 1-2, p. 18-28, 2005.
- LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. D.; ALENCAR, J. D. C. Essências madeireiras da Amazônia. **Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia 245 p.-illus. Por Icones, Anatomy and morphology. Plant records. Geog.**, v. 4, 1979.
- LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e obtenção tecnológica de forma farmacêutica de uso tópico.** 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI, 2012.
- LYRA, M. A.; MARQUES, D. E.; ALVES, L. D. S.; FONTES, D. A. F.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM-NETO, P. J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 117-124, 2010.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. Fichas de características de madeiras brasileiras. São Paulo: **Instituto de Pesquisas Tecnológicas**, 2ed., 418p, 1989.
- MAINIERI, C.; LOUREIRO, A. A. Madeiras de *Simphonia globulifera* L. *Platonia insignis* Mart., *Moronobea coccínea* Aubl. E *Moronobea pulchra* Ducke (Gutiferaceae): estudo anatômico macro e microscópico, como contribuição para a sua identificação. **Belém: CNPq/INPA**, 27p. (CNPq/INPA.Publicação, 18), 1964.
- MAITY, P.; BISWAS, K.; ROY, S.; BANERJEE, R. K.; BANDYOPADHYAY, U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer – recent mechanistic update. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 253, n. 1-2, p. 329–338, 2003.
- MARTI, G., EPARVIER, V., MORETTI, C., SUSPLUGAS, S., PRADO, S., GRELLIER, P., RETAILLEAU, P., GUERITTE, F., LITAUDON, M. Antiplasmodial benzophenones from the trunk latex of *Moronobea coccinea* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v.70, n. 1, p. 75-85, 2009.

MATSUHASHI, T.; OTAKA, M.; ODASHIMA, M.; JIN, M.; KOMATSU, K.; WADA, I.; HORIKAWA, Y.; OHBA, R.; OYAKE, J.; HATAKEYAMA, N.; WATANABE, S. Protective effect of a novel rice extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 52, n. 2, p. 434 – 441, 2007.

MAYER, B. **Mecanismos envolvidos nas ações antiúlcera e anti secretora ácida dos extratos da *Salvia officinalis* L.** 2007. 99 f. Dissertação de Mestrado (Setor de Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PA, 2007.

MBULI, B. S.; NXUMALO, E. N.; KRAUSE, R. W.; PILLAY, V. L.; OREN, Y.; LINDER, C.; MAMBA, B. B. Modification of polyamide thin-film composite membranes with amino-cyclodextrins and diethylamino-cyclodextrins for water desalination. **Separation and Purification Technology**, v. 120, p. 328-340, 2013.

MEIRELLES, L. M. A. **Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida.** 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI, 2012.

MENEZES, P. P.; SERAFINI, M. R.; SANTANA, B. V.; NUNES, R. S.; QUINTANS-JR, L. J.; SILVA, G. F.; MEDEIROS, I. A.; MARCHIORO, M.; FRAGA, B. P.; SANTOS, M. R. V. Solid-state β -cyclodextrin complexes containing geraniol. **Thermochimica Acta**, v. 548, p. 45–50, 2012.

MONACHE, F. D.; MONACHE, G. D.; MOURA PINHEIRO, R.; RADICS, L. Nemorosonol, a derivative of tricyclo-[4.3.1.03,7]-Decane-7-hydroxy-2,9-dione from *Clusia nemorosa*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 7, p. 2305-2308, 1988.

MOREAU, M.; DAMINET, S.; MARTEL-PELLETIER, J.; FERNANDES, J.; PELLETIER, J. P. Superiority of the gastroduodenal safety profile of licofelone over rofecoxib, a COX-2 selective inhibitor, in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 1, p. 81-86, 2005.

MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis* Mart.(Clusiaceae). I. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento. **Acta Amazônica**, v. 25, n. 1/2, p. 11-32, 1995.

MOURÃO, K. S. M. **Morfologia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae) *Platonia insignis* Mart. (Guttiferae).** 1992. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1992.

MULHOLLAND, D. A.; MWANGI, E. M.; DLOVA, N. C.; PLANT, N.; CROUCH, N. R.; COOMBES, P. H. Non-toxic melanin production inhibitors from *Garcinia livingstonei* (Clusiaceae). **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 570-575, 2013.

NAGMOTI, D. M.; KHATRI, D. K.; JUVEKAR, P. R.; JUVEKAR, A. R. Antioxidant activity free radical-scavenging potential of *Pithecellobium dulce* Benth seed extracts. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 2, p. 37-43, 2012.

- NAGY, S.; SHAW, P. E.; WARDOWSKI, W. F. **Fruits of tropical and subtropical origin. Composition, properties and uses.** Florida Science Source, Inc., 1990. ISBN 0944961002.
- NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H. Ocorrência e distribuição geográfica do bacurizeiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 3, p. 657-660, 2007.
- NATALE, G.; LAZZERI, G.; LUBRANO, V.; COLUCCI, R.; VASSALLE, C.; FORNAI, M.; BLANDIZZI, C.; DEL TACCA, M. Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 195, n. 1, p. 62– 72, 2004.
- NIETO-SUÁREZ, M.; BLANCO-VILA, N. M.; VILA-ROMEU, N. Effect of cyclodextrins on the behaviour of insulin at the air–water interface: A Langmuir monolayer study. **Thin Solid Films**, v. 548, n. 0, p. 509-516, 2013.
- NISHIO, H.; HAYASHI, Y.; TERASHIMA, S.; TAKEUCHI, K. Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodo acetamide treatment. **Life Sciences**, v. 79, n. 16, p. 1523–1530, 2006.
- NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 549-554, 2006.
- NUALKAEW, N.; MORITA, H.; SHIMOKAWA, Y.; KINJO, K.; KUSHIRO, T.; DE-EKNAMKUL, W.; EBIZUKA, Y.; ABE, I. Benzophenone Synthase from *Garcinia Mangostana* L. Pericarps. **Phytochemistry**, v. 77, p. 60-69, 2012.
- OLIVEIRA, I. S.; SILVA, F. V.; VIANA A. F. S. C.; SANTOS, M. R. V.; QUINTANS-JÚNIOR L. J.; MARTINS, M. C. C.; NUNES, P. H. M.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Gastroprotective activity of carvacrol on experimentally induced gastric lesions in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, v. 13, n. 9, p. 899-908, 2012.
- OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, P. Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 6, p. 70-83, 2009.
- OTOFUJI, G. M. **Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das raízes da *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen.** 2005. 177 f. Dissertação de mestrado (Departamento de Farmacologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PA, 2005.
- PASSOS, M. C. F. Infecção pelo *Helicobacter pylori*: prevalência e associação com lesões gástricas. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 44, n. 2, 2007.
- PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. Madeiras nativas; anatomia, dendrologia, dendometria, produção e uso. **Brasília: Empresa Gráfica Gutenberg LTDA**, p. 541, 1997.
- PESCE, C. Oleaginosas da Amazônia. **Belém: Revista da Veterinária**, p. 130, 1941.
- PHILLIPSON, M.; JOHANSSON, M. E. V.; HENRIKSNÄS, J.; PETERSSON, J.; GENDLER, S. J.; SANDLER, S.; PERSSON, A. E. G.; HANSSON, G. C.; HOLM, L. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 295, n. 4, p. G806-G812, 2008.

- PHILLIPSON, M.; ATUMA, C.; HENRIKSNA S., J.; HOLM, L. The importance of mucus layers and bicarbonate transport in preservation of gastric juxtamucosal pH. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 282, n. 2, p. G211-G219, 2002.
- POTRICH, F. B. **Atividade gastroprotetora do extrato bruto hidroalcoólico da *Achillea millefolium* L.: envolvimento do sistema antioxidante**. 2009. 77 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PA, 2009.
- QUINTANS, J. S. S.; MENEZES, P. P.; SANTOS, M. R. V.; BONJARDIM, L. R.; ALMEIDA, J. R. G. S.; GELAIN, D. P.; ARAUJO, A. A. S.; QUINTANS JUNIOR, L. J. Improvement of p-cymene antinociceptive and anti-inflammatory effects by inclusion in β -cyclodextrin. **Phytomedicine**, v. 20, n. 5, p. 436–440, 2013.
- RASHEED, A., KUMAR, A. C. K., SRAVANTHI, V. V. N. S. S. Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. **Scientia Pharmaceutica**, v. 76, p. 567–598, 2009.
- RATES S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603–613, 2001.
- RODRIGUES, H. G.; MEIRELES, C. G.; LIMA, J. T. S.; TOLEDO, G. P.; CARDOSO, J. L.; GOMES, S. L. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3, p. 359-366, 2011.
- ROSA, T. **Avaliação do efeito gastroprotetor do extrato hidroalcoólico de *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae) em ratos**. 2009. 41 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2009.
- ROZZA, A. L. **Atividade gastroprotetora do óleo essencial de *Citrus lemon* (Rutaceae), de seus componentes principais Limoneno e β -pineno e do óleo essencial de *Croton cajucara* (Euphorbiaceae)**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
- RUBIO-MORAGA, Á.; ARGANDOÑA, J.; MOTA, B.; PÉREZ, J.; VERDE, A.; FAJARDO, J.; GÓMEZ-NAVARRO, J.; CASTILLO-LÓPEZ, R.; AHRAZEM, O.; GÓMEZ-GÓMEZ, L. Screening for polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from eleven *Helianthemum* taxa (Cistaceae) used in folk medicine in south-eastern Spain. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, p. 287-296, 2013.
- SÁ-BARRETO L. C. L.; CUNHA-FILHO M. S. S. ciclodextrina: importante excipiente farmacêutico funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 629-36, 2008.
- SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 1, 2001. SAMUELSON, L. C.; HINKLE, K. L. Insights into the regulation of gastric acid secretion through analysis of genetically engineered mice. **Annual review of physiology**, v. 65, n. 1, p. 383-400, 2003.
- SANTOS JÚNIOR, R. Q.; SOARES, L. C.; MAIA-FILHO, A. L. M.; ARAÚJO, K. S.; SANTOS, I. M. S. P.; COSTA JÚNIOR, J. S.; SAFFI, J. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **Conscientiae Saúde**, v. 9, n. 4, p. 575-581, 2010.

- SANTOS, A. C. **Mecanismos de ação envolvidos nos efeitos da bardana (*Arctium lappa L.*) sobre o trato gastrointestinal.** 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós Graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PA, 2007.
- SANTOS, M. S. S. A. **Caracterização física, química e tecnológica do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e seus produtos.** 1982. 75f. Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 1982.
- SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 20, n. 6, p. 519-525, 2004.
- SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, n. 7, p. 1842-1860, 2008.
- SERAFINI, M. R., MENEZES, P. P., COSTA, L. P., LIMA, C. M., QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; CARDOSO, J. C., MATOS, J. R., SOARES-SOBRINHO, J. L., GRANGEIRO JR., S., NUNES, P. S., BONJARDIM, L. R., ARAÚJO, A. A. S. Interaction of p-cymene with-cyclodextrin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 109, n. 2, p. 951-955, 2012.
- SHANLEY, P., MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica.** Pará: Belém, p. 54, 2005.
- SILVA S.; DONATO H. Frutas do Brasil. São Paulo, **Imprensa de Arte e Projetos e Edições Artísticas**, p. 50, 1993.
- SILVA BENTES, M. H.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.; GODOY, R. L. O.; SILVA CABRAL, J. A.; SOARES MAIA, J. G. Estudo químico das sementes de bacuri. **Acta Amazônica**, v. 16, p. 363-368, 1986.
- SILVA, O. A.; ALMEIDA, A. A. C.; CARVALHO, R. B. F.; NETO, J. D. N.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Potencial antioxidante *in vitro* do (-)- α -terpineol. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 08, n. 03, p. 14—152, 2012.
- SILVA, V. K. L. D.; FIGUEIREDO, R. W. D.; BRITO, E. S. D.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. D.; FIGUEIREDO, E. A. T. D. Stability of the bacuri pulp (*Platonia insignis* Mart.) frozen for 12 months. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1293-1300, 2010.
- SINGH, R.; BHARTI, N.; MADAN, J.; HIREMATH, S.N. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 171-183, 2010.
- SINIMBÚ NETO, F. A.; MARTINS, A. B. G.; BARBOSA, J. C. Viabilidade *in vitro* de grãos de pólen de bacurizeiro – Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 593-600, 2011.
- SIQUEIRA, J. S.; LIMA, P. S. S.; BARRETO, A. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Aspectos Gerais nas infecções por *Helicobacter pylori*. **RBAC**, v. 39, n. 1, p. 9-13, 2007.
- SIVIERO, A.; DELUNARDO, T. A.; HAVERROTH, M.; OLIVEIRA, L. C.; MENDONÇA, A. M. S. Plantas medicinais em quintais urbanos de Rio Branco, Acre. **Revista Brasileira Pl. Med.**, v. 14, n. 4, p. 598-610, 2012.

- SOLL, A. H. Potentiating interactions of gastric stimulants on [14 C] aminopyrine accumulation by isolated canine parietal cells. **Gastroenterology**, v. 83, n. 1, p. 216-223, 1982.
- SOUSA, A. P. B. **Efetividade de medicamentos homeopáticos em ensaios biológicos de gastroproteção e cicatrização**. 2009. 102f. Dissertação (Mestrado em Saúde e ambiente). Universidade Tiradentes, Aracaju, 2009.
- SOUZA, V. A. B. D.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; LIMA, P. S. D. C. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da Região Meio-Norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 677-683, 2001.
- SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical reviews**, v. 98, n. 5, p. 1743-1754, 1998
- SPRICIGO, R.; BOTELHO, K.; CONSIGLIERI, V.; SERRA, C. H. R. Obtenção e Avaliação de Complexos de Inclusão de Furosemida com β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina: Efeitos sobre as Propriedades de Dissolução do Fármaco. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 5, p. 645-653, 2008.
- TARNAWSKI, A.; SZABO, I. L.; HUSAIN, S. S.; SOREGHAN, B. Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal transduction pathways. **Journal of Physiology-Paris**, v. 95, n. 1, p. 337-344, 2001.
- TEIXEIRA, G. H. D. A.; DURIGAN, J. F.; LIMA, M. A.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Postharvest changes and respiratory pattern of bacuri fruit (*Platonia insignis* Mart.) at different maturity stages during ambient storage. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p. 17-21, 2005.
- TEIXEIRA, G. H. A. **Frutos do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.): caracterização, qualidade e conservação**. 2000. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- UEKAMA, K.; HIRAYAMA, F.; IRIE, T. Cyclodextrin drug carrier systems. **Chemical reviews**, v. 98, n. 5, p. 2045-2076, 1998.
- VALCHEVA-KUZMANOVA S., MARAZOVA K., KRASNALIEV I., GALUNSKA B., BORISOVA P., BELCHEVA A. Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 56, n. 6, p. 385-392, 2005.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- VENTURINI, C. G.; NICOLINI, J.; MACHADO, C.; MACHADO, V. G. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.
- VILLACHICA H.; CARVALHO J. E. U.; MÜLLER C. H.; DIAZ S. C.; ALMANZA M. Frutales y hortalizas promotoras de la Amazônia. Lima, **Tratado de Cooperación Amazônica. Secretaria Pró-Tempore**. p. 152-156, 1996.

WALLACE, J. L.; KEENAN, C. M.; GRANGER, D. N. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 259, n. 3, p. G462-G467, 1990.

WALLACE, J. L.; GRANGER, D. N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **The FASEB Journal**, v. 10, n. 7, p. 731-740, 1996.

WALLACE, J. L. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. **The American journal of Medicine**, v. 110, n. 1, p. S19-S23, 2001.

WENG, J. R., TSAO, L. T., WANG, J. P., WU, R. R., & LIN, C. N. Anti-inflammatory phloroglucinols and terpenoids from *Garcinia subelliptica*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 11, p. 1796-1799, 2004.

WILLIAM, F. G. **Review of medical physiology**: California USA: Mc Graw Hill Companies. Inc , 2003.

WU, C. C., LU, Y. H., WEI, B. L., YANG, S. C., WON, S. J., & LIN, C. N. Phloroglucinols with prooxidant activity from *Garcinia subelliptica*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 2, p. 246-250, 2008.

YAMAJI, N.; YOKOO, Y.; IWASHITA, T.; NEMOTO, A.; KOIKE, M.; SUWA, Y.; WAKIMOTO, T.; TSUJI, K.; NUKAYA, H. Structural determination of two active compounds that bind to the muscarinic M3 receptor in beer. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 31, n. s1, p. S9-S14, 2007.

CAPÍTULO I: Preparação e caracterização do complexo de inclusão do extrato hexânico das sementes de *Platonia insignis* Mart. (bacurizeiro) com a molécula de β -ciclodextrina

Obtenção e caracterização do complexo de inclusão do extrato hexânico das sementes de *Platonia insignis* Mart. (bacurizeiro) com a molécula de β -ciclodextrina

NASCIMENTO, JL¹; BARROS, YSO², ARCANJO, DDR³; ROCHA, MS⁴, COSTA JÚNIOR, JS⁵; OLIVEIRA, RCM³; CITÓ, AMGL^{1,6}

¹Curso de Farmácia, Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

²Bolsista PIBITI/CNPQ-UFPI

³Departamento de Biofísica e Fisiologia, Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁴Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁵Departamento de Química, Instituto Federal do Piauí, CEP 64000-040, Teresina, Piauí, Brasil.

⁶Departamento de Química, Universidade federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brazil.

RESUMO

Platonia insignis Mart (bacuri) pertence à família Clusiaceae, é bastante utilizada na medicina popular para tratamentos inflamatórios, queimaduras e diarreia. As ciclodextrinas têm sido exploradas no incremento da solubilidade, permeabilidade e estabilidade de fármacos e na redução de seus efeitos colaterais. Devido a estas propriedades, a complexação de fármacos com a molécula de ciclodextrina apresenta características vantajosas. O objetivo deste estudo foi preparar e caracterizar os complexos de inclusão do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart. com a molécula de β -ciclodextrina em diferentes proporções. Para a caracterização utilizaram-se FTIR, DRX e incremento de solubilidade, por meio do diagrama de solubilidade. Para avaliação do teor de complexação, utilizou-se o doseamento da GFC (substância marcadora) no extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) e no complexo de inclusão com a β -ciclodextrina (EHSB: β CD) por UV-Vis. No doseamento do EHSB, obteve-se um teor de $7,71\% \pm 0,47$ de GFC. Foram obtidos três complexos pelo método de solubilização seguido por pulverização a seco utilizando o aparelho de spray-drying, nas proporções 1:9, 1:4 e 3:7 m/m (g) de EHSB: β CD, com rendimentos de 5,51%, 21,46% e 20,11%, respectivamente. No doseamento dos complexos, obtiveram-se os seguintes teores de

GFC: 1:9 (1,26% \pm 0,01), 2:8 (1,05%) e 3:7 (5,14 \pm 0,01). O complexo com maior teor de GFC e conseqüentemente de complexação, foi o de proporção (3:7) que foi utilizado nos ensaios posteriores. A partir do diagrama de solubilidade, pode-se determinar a eficiência de complexação (EC) e a constante de estabilidade (Kc) do complexo de maior teor de GFC, 3:7. De acordo com as caracterizações realizadas, pode-se sugerir a formação dos complexos de inclusão do extrato hexânico com a β -ciclodextrina (EHSB: β CD), com bom rendimento de complexação.

PALAVRAS-CHAVE: *Platonia insignis*, extrato hexânico, β -ciclodextrina, Garcinialiptona, caracterizações.

ABSTRACT

Platonia insignis Mart (bacuri) belongs to Clusiaceae family, widely used in folk medicine for inflammatory treatment, burns and diarrhea. Cyclodextrins have been explored in increasing the solubility, permeability and stability of drugs, and reducing their side effects. Due to these properties, the complexation of drugs with cyclodextrins molecules has advantageous features. This study aims at preparing and characterizing inclusion complexes of hexane extract of *Platonia insignis* Mart. with molecules of β -cyclodextrin at different ratios. For the characterization, it was used FTIR, XRD, and the increasing of solubility by the solubility diagram. For the evaluation of the complexation content, it was used the assay of GFC (marker substance) in bacuri seed extract hexane (EHSB), and in inclusion complex with β -cyclodextrin (EHSB: β CD) by UV-Vis. In the determination of EHSB, one got a content of 7.71% + 0.47 GFC. Three complexes were obtained by the method of solubilization followed by spray drying, in proportions 1:9, 1:4 and 3:7 w/w (g) of EHSB: β CD, with yields of 5.51 %, 21.46 % and 20.11 %, respectively. In the assay of the complex, one obtained the following GFC levels: 1:9 (1.26 % + 0.01) 2:8 (1.05 %) and 3:7 (5.14 +0.01). The complex with a higher content of CGP and, therefore, complexation was the proportion (3:7), which was used in subsequent assays. From the solubility diagram, one could determine the complexation efficiency (CE), and the stability constant (Kc) of the higher content of GFC in 3:7 complex. According to the characterizations performed, one may suggest the formation of inclusion complexes of the hexane extract with β -cyclodextrin (EHSB: β CD) in good yield complexation.

KEYWORDS: *Platonia insignis*; hexane extract; β -cyclodextrin; Garcinielliptone; characterizations.

INTRODUÇÃO

O foco em pesquisas com plantas tem aumentado em todo o mundo, e sua utilização crescente tem mostrado o imenso potencial das plantas medicinais (CHECHINEL FILHO; YUNES, 1998; MACIEL et al., 2002). Espécies da família Clusiaceae são importantes plantas medicinais utilizadas na medicina popular brasileira, em especial para o tratamento de eczemas, herpes, doenças gastrointestinais, dermatite, leishmaniose e malária (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Além disso, as preparações obtidas a partir destas plantas têm demonstrado atividades anti-inflamatória, anti-malária, antihipertensivas, antidiabéticas, antiviral, antitumoral, antidepressivas, antialérgicas, efeitos anti-mutagênico e antioxidante (AGRA; FREITAS, BARBOSA FILHO, 2007; TCHAMADEU et al., 2010; COSTA JUNIOR et al., 2013).

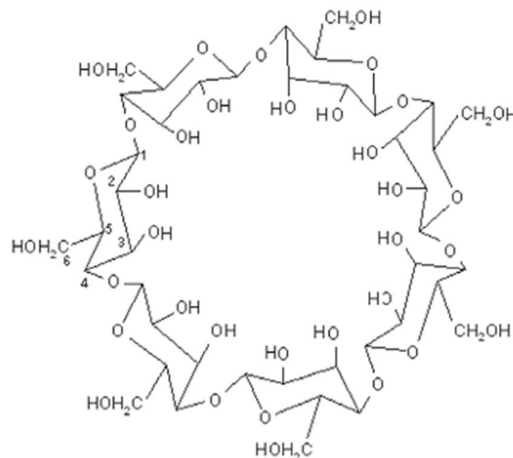
Platonia insignis Mart., mais conhecida como bacurizeiro, espécie frutífera da família Clusiaceae, é uma planta arbórea tipicamente de clima tropical, cujas áreas de ocorrência abrangem os Estados do Pará, Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso, alcançando também o Paraguai (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987; SOUZA et al., 2001). Apresenta grande potencialidade para a agroindústria, mediante o processamento da polpa de seu fruto, com sabor e aroma peculiares, a qual é bastante utilizada pela população das regiões Norte e Nordeste, nas mais diferentes formas: sucos, sorvetes, cremes, doces, compotas, ou mesmo consumido *in natura* (SINIMBÚ NETO; MARTINS; BARBOSA, 2011). Apresenta um fruto com polpa rica em constituintes químicos com propriedades antioxidantes como, a vitamina C (ácido ascórbico) e E (tocoferóis) e o óleo extraído das sementes rico em ácidos graxos (oléico, estárico e linoléico; além da presença de tripalmitina, cerca de 10 - 12% dos extrativos graxos das sementes de bacuri), diterpenos, alcóois e hidrocarbonetos de cadeia longa (COSTA JÚNIOR, 2011a; LUSTOSA, 2012).

Costa Júnior (2011a), relatou um par tautomérico de uma benzofenona natural poliisoprenilada, denominados Garcinialiptona FC, utilizada no presente estudo como substância marcadora, isolada das sementes do bacuri e identificadas por dados espectroscópicos, e, segundo estudos recentes, esta substância apresenta atividade anti-inflamatória, antiplasmódica e leishmanicida (LUSTOSA, 2012).

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos que foram recentemente reconhecidos como excipientes farmacêuticos úteis. A estrutura molecular destes derivados de glicose gera uma superfície exterior hidrofílica e uma cavidade interior hidrofóbica (JULLIAN et al., 2008; SINGH et al. 2010). Dentre as ciclodextrinas, a β -CD é a mais utilizada, pois sua cavidade pode hospedar moléculas de massa molecular entre 200 e 800 g mol⁻¹, faixa de massa molecular da maioria das moléculas de interesse (WANG et al., 2011). Além disso, o preço razoável desta ciclodextrina também propicia seu uso (Ilustração 01). Apesar da reduzida solubilidade aquosa que limita a sua aplicação farmacêutica, apresenta uma capacidade de complexação de um elevado número de fármacos hidrofóbos, está disponível em elevadas quantidades e seu uso está aprovado como excipiente para preparações farmacêuticas. Tais ciclodextrinas podem interagir com moléculas de fármaco de tamanho adequado que levam à formação de complexos de inclusão. Devido a estas características, a complexação de moléculas, especialmente lipofílicas, em ciclodextrinas, tende a promover inúmeras vantagens em possíveis fármacos, pelo incremento de solubilidade, diminuição de interações (alimentos e outros fármacos) e efeitos adversos e aumento da biodisponibilidade (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009; ROCHA, 2012).

No presente estudo, objetivou-se a obtenção de complexos de inclusão extrato hexânico: ciclodextrina em diferentes proporções, e a caracterização dos complexos formados, sugerindo a complexação efetiva e a avaliação do incremento de solubilidade do complexo.

Ilustração 01: Estrutura química da β -ciclodextrina (Adaptado de FRACETO et al., 2004).



MATERIAL E MÉTODOS

*Obtenção do extrato hexânico das sementes de *Platonia insignis* Mart.*

O material botânico, semente do bacuri, foi obtido na Central de Abastecimento do Piauí - CEAPI, localizada em Teresina, Piauí-Brasil (latitude -05° 05' 21" e longitude -42° 48' 07"), no período de março de 2012; e a excisata foi depositada no Herbário Graziella Barroso da Universidade Federal do Piauí, Brasil, (Nº: ICNTEPB27164).

As sementes dos frutos foram extraídas e secas a temperatura de 55 °C e moídas em moinho (Marconi). Duzentos e vinte e nove gramas (229 g) do pó seco foram extraídos com hexano (Tédia) em Soxhlet durante 8 horas (Ilustração 02). O extrato foi concentrado a vácuo em rotaevaporador com rendimento total de 42,98%.

Ilustração 02: Extrato hexânico da semente do bacuri (Soxhlet). Fonte: Arquivo pessoal.



Caracterização química do extrato hexânico da semente do bacuri

A amostra (200,0 mg) foi dissolvida em 10 mL de AcOEt (HPLC/Spectro Tedia®) e aplicada em uma coluna de gel de sílica e eluída com 10 mL de AcOEt. A fração acetato de etila obtida por SPE foi metilada com diazometano e analisada por CGAR-EM em um cromatógrafo Agilent com coluna capilar DB5 (J&W) (30 m x 0,25 mm x 0,25 m) no modo split (10:1). Temperatura do injetor: 310 °C e temperatura do detector: 310 °C. Programação da coluna: temperatura inicial de 150 °C por 12 min, taxa de 4 °C min⁻¹ até 290 °C, permanecendo por 45 min. Tempo total de análise: 92 min. O gás de arraste foi hélio (1,5 mL

min⁻¹). A aquisição dos espectros de massas no modo Scan, corte do solvente em 8 min, faixa de massas de 40 a 750 Daltons, utilizando o método de ionização por elétrons (IE), com energia de ionização de 70 eV, analisador do tipo quadrupolo e fonte de íons a 300 °C. Os constituintes químicos foram identificados pela fragmentação característica e por comparação dos espectros de massas obtidos com os registros da biblioteca computacional NIST 2.0.

Doseamento da substância marcadora Garcinialiptona por UV-Vis

Para a determinação do teor de GFC no extrato, utilizou-se a curva analítica de Garcinialiptona GFC. Foi realizado a varredura da GFC em Metanol PA- Synth, na faixa de 200 a 400 nm, em células de quartzo com percurso ótico de 1 cm, volume equivalente a 4 mL a temperatura ambiente, para a determinação do ($\lambda_{\text{máx}}$) (Ilustração 03). Utilizou-se como referência a substância GFC isolada, através de cromatografia em coluna de gel de sílica do extrato hexânico das sementes de *P. insignis* Mart. e identificada por ressonância magnética nuclear de Hidrogenio e Carbono e espectrometria de massas (COSTA JUNIOR, 2011b) (Ilustração 03).

Para realização da curva, preparou-se uma solução estoque da Garcinialiptona na concentração de 0,2 g L⁻¹ em metanol a partir da qual foi realizada uma série de diluições para obtenção das concentrações de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 e 5 mg L⁻¹, para as quais fez-se as leituras das medidas de absorbâncias no comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) 280 nm, de acordo com o espectro de absorção da GFC. Utilizou-se metanol como branco. O gráfico gerado quando foram plotadas as medidas de absorbâncias versus concentrações, por regressão linear apresentou a equação $A = 0,0214C + 0,1385$, onde A é a absorbância em 280 nm e C a concentração e apresentou coeficiente de correlação linear $R = 0,9999$ (Ilustração 04).

Ilustração 03: Espectro de absorção da substância de referência, Garcinialiptona (GFC).

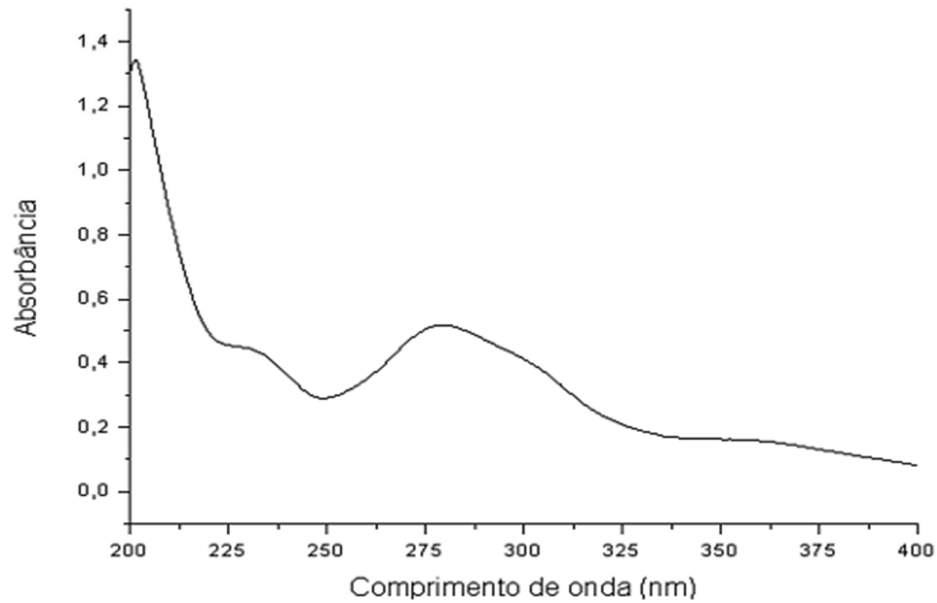
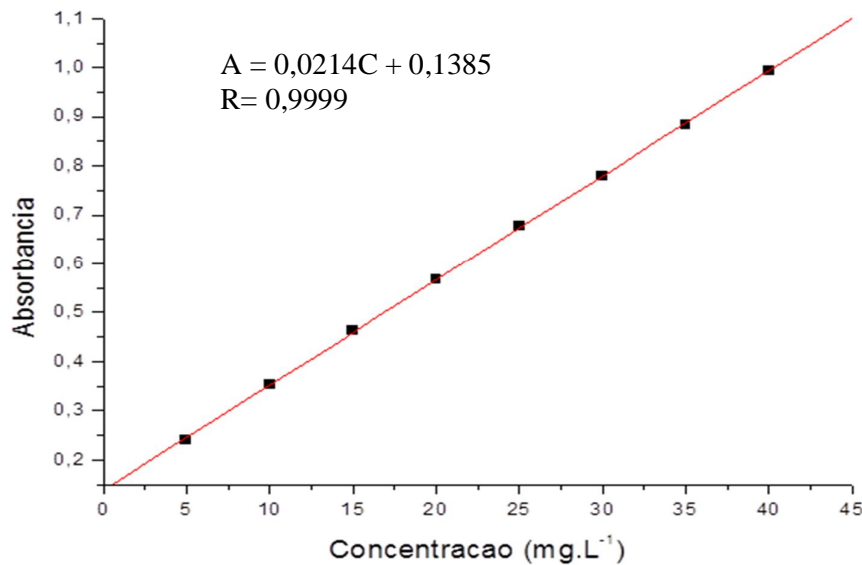


Ilustração 04: Curva analítica padrão com a substância de referência Garcinialiptona (GFC).



Uma amostra de 40 mg do extrato hexânico da semente do bacuri foi solubilizada em 10 mL de metanol e realizada a leitura do teor de GFC do EHSB utilizando a curva analítica da GFC (substância marcadora) e a equação da reta ($A = 0,0214C + 0,1385$).

As análises foram realizadas em triplicata, em espectrofotômetro Varian Cary 300 de duplo feixe na região do ultravioleta visível (UV-Vis) em 280 nm no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV) da UFPI.

Formação dos complexos de inclusão do extrato hexânico: β -ciclodextrina

Os complexos de inclusão entre o extrato hexânico e β -CD foram preparados por secagem por aspersão. Realizou-se inicialmente a solubilização seguida por pulverização a seco utilizando o aparelho de spray-drying, de acordo com o método descrito por COELHO (2001), com algumas modificações. Foram preparados complexos nas proporções 1:9; 2:8; 3:7 de EHSB: β -CD m/m (g). Para preparar o complexo de inclusão, a massa referente ao extrato foi solubilizada em 20 mL de etanol PA, sob aquecimento e agitação contínua. A massa referente à molécula de β -CD foi solubilizada em 250 mL de uma mistura etanol: água (1:4), sob aquecimento e agitação. Misturaram-se as duas soluções, que permaneceram sob agitação e aquecimento de 70 °C durante 35 a 40 minutos. Injetou-se a solução no aparelho spray-dryer de bancada, BUCHI B-290; com uma pressão de entrada de 0,9 Bar, com um fluxo da amostra de 7 mL min⁻¹, temperatura de entrada de 105 °C, temperatura de saída 62 °C e temperatura da amostra de 60 °C.

Em seguida, foi realizada a mistura física entre o extrato hexânico: ciclodextrina, onde a massa referente do extrato foi misturada à massa referente da β -ciclodextrina utilizando gral e pistilo.

Doseamento da GFC nos complexos de inclusão

Para retirada do extrato não complexado às moléculas de β -ciclodextrina, realizou-se a lavagem dos complexos formados, com hexano. Acrescentou-se 8 mL do solvente, dissolveu-se por alguns segundos no ultra-som, e com um conta-gotas aspirou-se vagarosamente o líquido sobrenadante, realizando-se este procedimento em triplicata para cada complexo, até que restasse apenas extrato complexado. Em seguida, os complexos foram armazenados em dessecador até secagem e análise no UV/Vis.

Para a determinação do teor de GFC nos complexos, utilizou-se a curva analítica da GFC (Ilustração 04). Os complexos lavados retirados do dessecador foram dissolvidos em metanol e completou-se o volume para 10 mL. As análises foram realizadas em triplicata, em espectrofotômetro Varian Cary 300 de duplo feixe UV/Vis em 280 nm.

Caracterização do complexo de inclusão em todas as proporções, do extrato hexânico e da molécula de β -ciclodextrina

✓ *Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)*

Os espectros de absorção no infravermelho por transformada de Fourier foram obtidos pelo método de refletância total atenuada (ATR). As amostras do EHSB, complexos de inclusão EHSB: β CD (1:9; 2:8; 3:7) e β -ciclodextrina pura foram obtidos em Espectrômetro FTIR (Varian 660- IR), na faixa de 4000 – 400 cm^{-1} , com 32 scans.

✓ *Difração de Raios X (DRX)*

As análises de Raios X do extrato hexânico, complexos de inclusão EHSB: β -CD (1:9; 2:8; 3:7) e β -ciclodextrina pura foram realizados em difratômetro (Shimadzu modelo XRD-6000), operando a 40 KV, 30 mA, com varredura angular 2θ de 2°min^{-1} , variando de 10 - 55°, utilizando-se radiação de cobre.

✓ *Diagrama de solubilidade das ciclodextrinas*

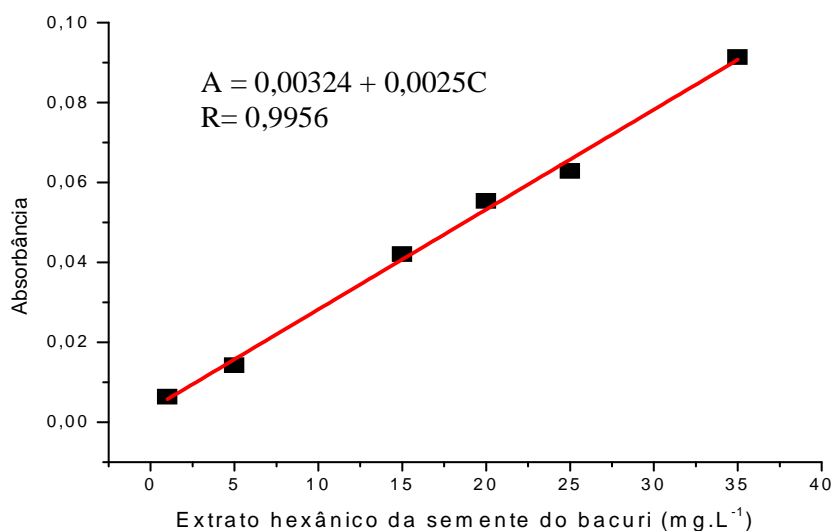
O estudo de solubilidade foi realizado conforme o método descrito por Higuchi; Connors (1965), em triplicata, adicionando-se excesso de extrato a tubos de ensaio contendo soluções aquosas da β -ciclodextrina, em concentrações crescentes (0–10 mmol L^{-1}). Aqueceram-se as soluções a 50 °C por 10 minutos, para solubilização do extrato. As amostras foram mantidas em banho-maria (Nova Ética modelo 304 D) a 37 °C, sob agitação, por dois dias, até obter-se o equilíbrio. Alíquotas foram retiradas, filtradas em papel filtro e adequadamente diluídas em metanol.

De acordo com o espectro de absorção da GFC, substância de referência, obteve-se o comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) 280 nm conforme mostrado na Ilustração 03, página 68, o qual foi utilizado para construção da curva analítica do extrato hexânico do bacuri.

Para realizar a quantificação do EHSB nos ensaios, realizou-se a varredura de uma solução estoque desta substância na concentração de 0,2 g L^{-1} em metanol, a partir do qual preparou-se uma série de diluições para obtenção das concentrações de 1, 5, 15, 20, 25 e 35 mg L^{-1} , realizando as medidas de absorbância no comprimento de onda de 280 nm,

utilizando o metanol como branco (Ilustração 05). A equação da reta obtida foi $A = 0,00324 + 0,0025C$, onde A é a absorbância em 280 nm e C a concentração, apresentando coeficiente linear $R = 0,9956$.

Ilustração 05: Curva analítica do EHSB em solução de metanol $0,2 \text{ g L}^{-1}$ ($1\text{-}35 \text{ mg L}^{-1}$).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise por Cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR-EM)

O perfil cromatográfico do extrato hexânico de bacuri (*P. insignis*) foi obtido por Cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a um espectrômetro de massas (CGAR/EM) (Ilustração 06). No total, foram verificados 15 constituintes químicos no cromatograma de íons totais. O extrato hexânico apresenta composição rica em ésteres de ácidos graxos, além de uma xantona (γ -mangostina) (pico 12). A γ -mangostina é uma substância farmacologicamente ativa, com muitas atividades relatadas na literatura (CHEN; YANG; WANG, 2008; CUI ET AL., 2010; WANG; SANDERSON; ZHANG, 2011). Apesar de ser o constituinte majoritário do extrato, não foi utilizada neste estudo como substância marcadora, pois esta substância ainda não foi isolada, apenas identificada por massa, apresentando todos os fragmentos característicos. Por conta disso, utilizou-se outra benzofenona prenilada, a GFC. Todos os constituintes com os respectivos teores estão descritos na Tabela 01.

Ilustração 06: Cromatograma de íons totais da fração do EHSB.

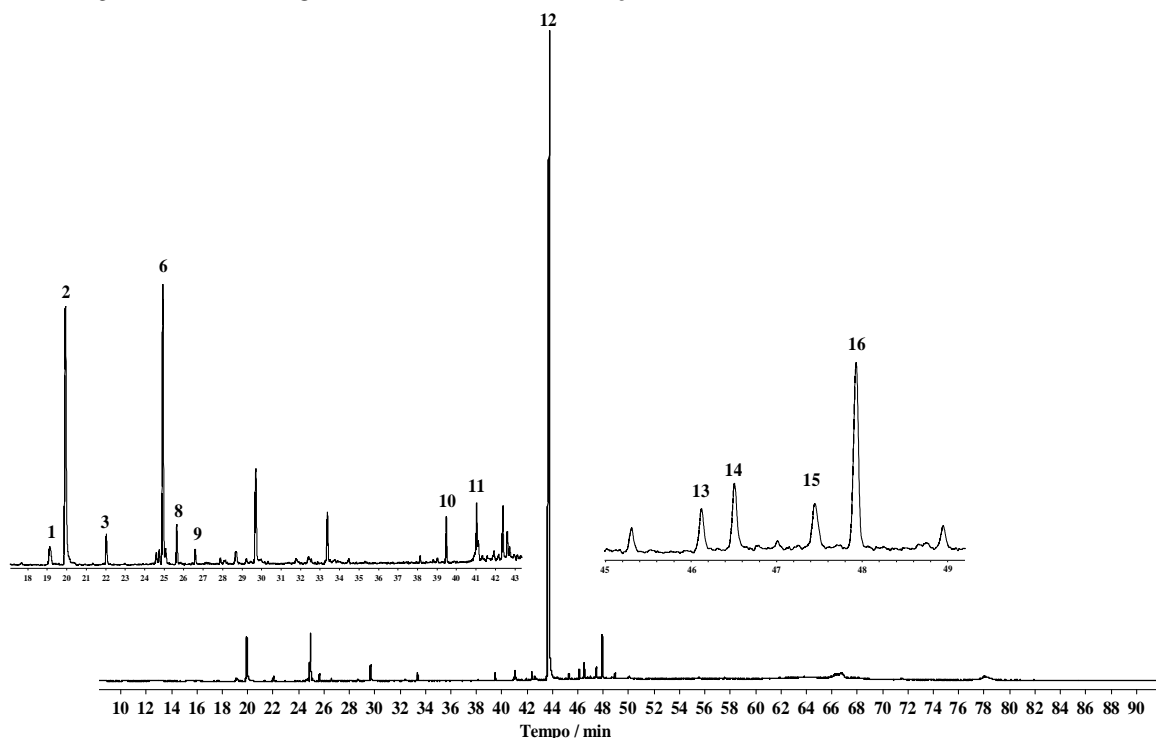


Tabela 01: Constituintes químicos (%) de fração do bacuri.

Pico	Constituintes	Tr (min)	Área (%)
1	Éster metílico do ácido palmitoléico C16:1 <i>cis</i> 9	19,131	0,44
2	Éster metílico do ácido palmítico C16:0	19,934	4,66
3	Éster etílico do ácido palmítico C16:0	22,033	0,42
4	Éster metílico do ácido linolênico C18:3 <i>cis,cis,cis</i> 9,12,15	24,596	0,13
5	Éster metílico do ácido linoléico C18:2 <i>cis,cis</i> 9,12	24,747	0,17
6	Éster metílico do ácido oléico C18:1 <i>cis</i> 9	24,93	3,57
8	Éster metílico do ácido esteárico C18:0	25,647	0,49
9	Éster metílico do ácido gadoléico C20:1 <i>cis</i> 9	26,599	0,18
10	Esqualeno	39,48	0,52
11	GFC (garcinialiptona FC)	41,037	0,5
12	Xantona (γ -mangostina)	43,754	77,35
13	Campesterol	46,122	0,74
14	Estigmasterol	46,506	1,14
15	Sitosterol	47,447	1,06
16	Lanosterol	47,93	3,45

Teor de GFC no extrato hexânico

Determinou-se o teor de GFC no EHSB utilizando a curva analítica da GFC (substância de referência) e a equação da reta ($A = 0,0214C + 0,1385$) da Garcinaliptona. Esta substância apresenta atividades farmacológicas já comprovadas (COSTA JUNIOR et al., 2011a, COSTA JUNIOR et al., 2011b; LUSTOSA, 2012).

O método utilizado determinou que a concentração de GFC no extrato hexânico foi de $7,71\% \pm 0,47$, valor superior ao encontrado por Lustosa (2012), que em estudos anteriores comprovou atividade anti-inflamatória superior ao medicamento de referência por via tópica no modelo de edema de pata induzido por carragenina. Portanto, a metodologia mostrou-se eficiente na determinação da concentração nas amostras.

Obtenção e rendimento dos complexos de inclusão obtido por pulverização a seco

Os complexos de inclusão podem ser produzidos por diferentes métodos. A seleção do método apropriado depende das propriedades do composto ativo e cinética de formação dos complexos. Entre os vários métodos de preparação, a técnica de suspensão é a mais utilizada. Suspensão de ciclodextrina (frio e quente, neutras ou ácidas), em conjunto diretamente com a molécula hóspede ou a sua solução concentrada é agitada intensamente. Isto pode ser feito usando um só solvente comum, solventes diferentes misturados, ou diferentes solventes não misturados. Após atingir o equilíbrio, a água é removida ou por filtração e evaporação ou por outras técnicas convenientes, como liofilização ou secagem por pulverização (COELHO, 2001).

A β -CD (beta-ciclodextrina) é amplamente utilizada para melhorar a solubilidade, a estabilidade e biodisponibilidade de fármacos e é o agente preferido para o encapsulamento de drogas na indústria farmacêutica (SERAFINI et al., 2012; MENEZES et al., 2012). Além disso, alguns trabalhos têm relatado que a formação do complexo de inclusão pode prolongar e aumentar a duração e a intensidade dos fármacos (KEMELBEKOV et al., 2010; FRANCO DE LIMA et al., 2012).

A formação do complexo de inclusão é facilitada pela remoção das moléculas de água do interior da cavidade da CD, parcialmente hidrofóbica, e sua substituição por moléculas apolares de forma espontânea, sendo, portanto, um processo energeticamente viável. Este processo é facilitado pela ação de diversas forças de interações, como a formação de pontes

de hidrogênio, interação de Van der Waals, pela própria mudança da tensão superficial do meio e pela redução da tensão do anel da ciclodextrina, que combinadas, influenciam fortemente a formação do complexo de inclusão (SZEJTLI, 1998; VEIGA; PERCORELLI; RIBEIRO, 2006; GUEDES et al., 2008; LYRA et al., 2010; DE OLIVEIRA et al., 2011; WANG et al., 2011).

Realizou-se o processo de complexação do extrato hexânico com a CD em diferentes proporções, para que fosse avaliado o complexo com melhor rendimento e que apresentasse melhores características frente aos métodos de caracterização espectroscópicos utilizados, para estudos farmacológicos posteriores (Tabela 02).

Tabela 02: Rendimento dos complexos de inclusão

Complexo de inclusão	Proporção do EHSB (massa em gramas)	Proporção da β-ciclodextrina (massa em gramas)	Rendimento de complexação
01	1	9	5,51%
02	2	8	21,46%
03	3	7	20,11%

Rendimento de complexação do extrato hexânico com a β -ciclodextrina por solubilização seguida por pulverização a seco no spray-drying.

Avaliação do teor de complexação

Cada CD apresenta capacidade própria para formar complexos de inclusão com moléculas específicas, capacidade essa que depende do ajuste adequado da molécula hóspede na cavidade hidrófoba da CD. A formação dos complexos de inclusão é determinada pelas características das moléculas hóspedes, como a polaridade, o tamanho e a geometria, e devem ser adequadas às características hidrófobas e ao tamanho da cavidade da CD. A formação de complexos é possível com toda a molécula de fármaco ou apenas com parte dela (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009).

Ocorre que, no processo de complexação, nem todas as moléculas conseguem penetrar na cavidade da ciclodextrina, seja pelo tamanho, seja pela afinidade fraca ou mesmo pela quantidade excessiva de fármaco comparada à quantidade de ciclodextrinas para complexação. Num processo de complexação irão existir fármaco livre, fármaco complexado

e ciclodextrina livre, em equilíbrio (BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004; JULLIAN et al., 2008).

De acordo com VEIGA; PERCORELLI; RIBEIRO (2006), nem todas as moléculas apresentam características adequadas para serem complexadas. Apenas moléculas apolares (ou grupos funcionais de moléculas), cujas dimensões sejam inferiores às da cavidade da CD, podem ser incluídas nessa cavidade. A inclusão de moléculas na cavidade das CDs é influenciada por diversos fatores como tamanho da cavidade, substituição molar dos derivados, solubilidade intrínseca e ionização do fármaco, entre outros. O equilíbrio dinâmico existente entre as moléculas de fármaco livre e as moléculas de fármaco complexada é quantitativamente descrito pela constante de estabilidade ou associação, onde há a existência de fármaco complexado, fármaco livre e CD livre (OLIVEIRA; SANTOS; COELHO, 2009; MEIRELLES, 2012).

Para avaliar o teor do extrato hexânico complexado, determinou-se o teor de GFC por UV/Vis nos complexos após a “lavagem”, para a retirada do extrato não complexado. De acordo com os teores de GFC no EHSB e nos complexos, obteve-se o teor de extrato complexado (Tabela 03).

Proporção EHSB: β CD m/m (g)	Teor de GFC no EHSB	Teor de GFC no complexo lavado	Eficiência de complexação
1:9	7,71% + 0,47	1,26 \pm 0,01	16,34%
2:8	7,71% + 0,47	1,05 \pm 0,01	13,62%
3:7	7,71% + 0,47	5,14 \pm 0,01	66,7%

Tabela 03: Rendimento ou teor de EHSB complexado com β CD.

Rendimento de complexação do EHSB com a molécula de β -ciclodextrina, através da determinação do teor da substância marcadora, GFC, no extrato e nos complexos formados nas proporções (1:9; 2:8, 3:7 m/m (g)) através da espectroscopia de UV/Vis.

Caracterização do EHSB, complexo formado (EHSB: β CD) e β -ciclodextrina

As caracterizações ocorreram por: espectroscopia no infravermelho, difração de raios-x e diagrama de solubilidade de fases.

✓ Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Dentre as técnicas utilizadas para caracterizar os complexos de inclusão (CI), os métodos espectroscópicos oferecem vantagens importantes nas análises (CANNAVÀ et al., 2008).

É possível detectar as modificações significantes na forma e na posição das bandas de absorvância através do espectro vibracional dos diferentes grupos funcionais do complexo ou das moléculas livres (SPRICIGO et al, 2008).

As técnicas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) são bastante utilizadas na avaliação da ocorrência de interações entre diferentes moléculas no estado sólido com CDs, por serem determinações rápidas e precisas, ainda que a informação conseguida por este ensaio apresente limitações. A débil natureza dos fenômenos envolvidos na complexação torna os desvios e mudanças de intensidade das bandas correspondentes aos grupos químicos do fármaco ou da ciclodextrina bastante sutis, requerendo uma cuidadosa interpretação dos dados (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2007). A formação dos CIs na fase sólida pode ser avaliada pela comparação de espectros de infravermelho do fármaco puro, da ciclodextrina e dos complexos sólidos obtidos por diferentes métodos de preparação (SPRICIGO et al., 2008). Para isso, são verificadas interações em nível molecular, detectando as mudanças significativas na forma e na posição das faixas de absorvância, através do espectro vibracional dos diferentes grupos funcionais das moléculas de fármacos complexados ou livres (CORTI et al, 2007; CANNAVÀ et al., 2008; AALTONEN et al., 2008; ARRAIS, 2012).

Geralmente, o espectro da mistura física ou CIs corresponde à sobreposição dos espectros da molécula hóspede e da CD, porém com as bandas da molécula hóspede menos evidente, devido a sua menor concentração. Quando ocorre a complexação, as bandas podem mudar de posição, diminuir ou até mesmo desaparecer (CORTI et al, 2007).

Apesar das interações no complexo de inclusão entre a β -ciclodextrina e a molécula hóspede (extrato hexânico da semente do bacuri) não serem muito fortes, uma vez que são

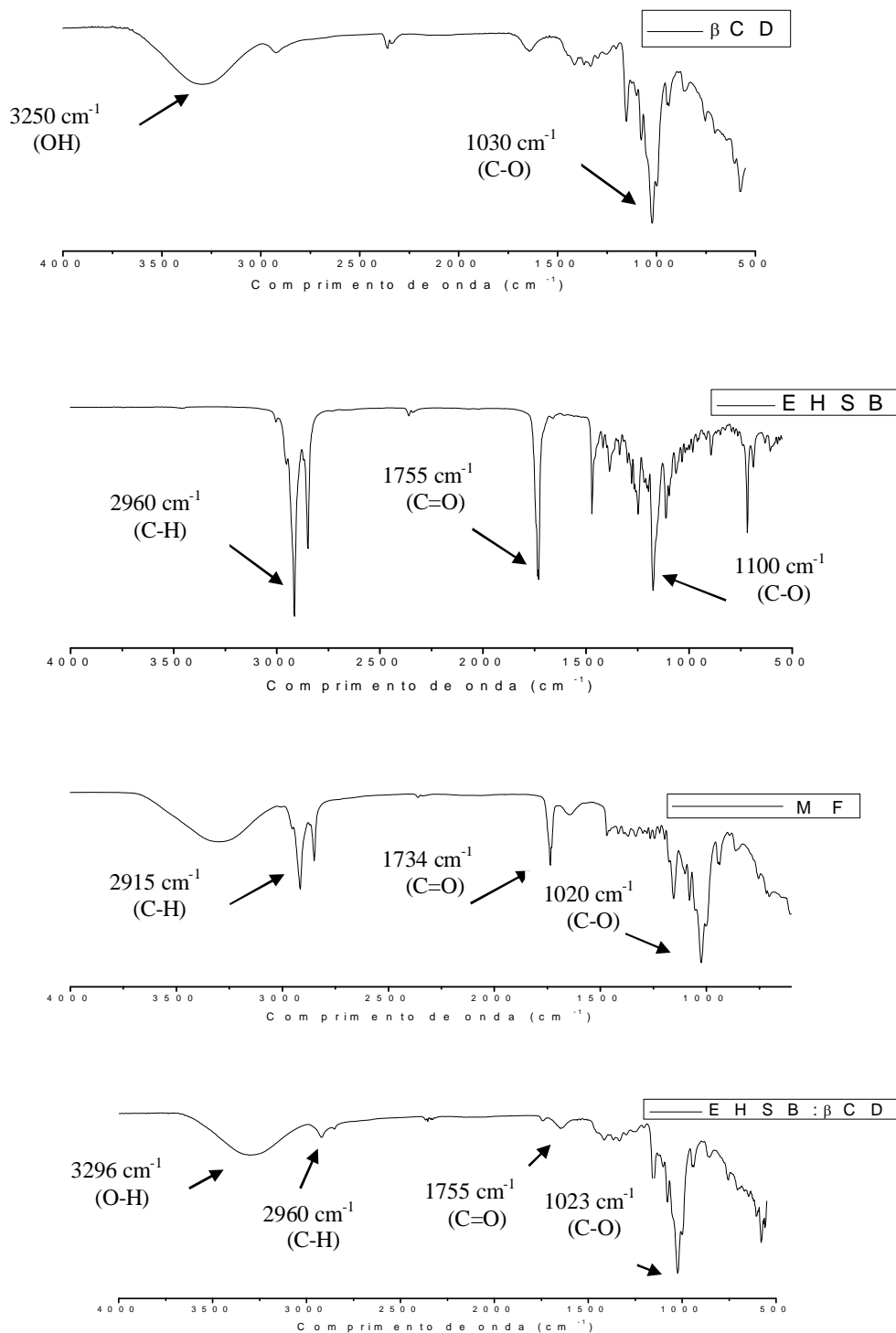
ligações eletrostáticas não-covalentes (Van der Waals, interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio) (LYRA et al., 2010), observa-se desvios e mudanças de intensidade de várias bandas, quando comparamos o complexo e o extrato hexânico. O EHSB é constituído de triacilglicerol, ácidos graxos livres e benzofenonas preniladas (HILDITCH; PATHAK, 1949; ROBERTS, 1961; FERREIRA; GOTTLIEB; MESQUITA, 1972; SILVA BENTES et al., 1986; PICCINELLI et al., 2009; CHEN et al., 2010; COSTA JUNIOR, 2011a). Por isso, o espectro de IV do EHSB mostra como principais bandas a absorção forte em 2960 cm^{-1} atribuída ao estiramento assimétrica C-H de alcanos; em 1755 cm^{-1} apresenta também uma banda forte atribuída ao estiramento da ligação C=O de ésteres e/ou cetona e em 1100 cm^{-1} mais uma banda de absorção forte, atribuída ao estiramento de ligação simples C-O de ésteres (Ilustração 06).

No espectro da β -ciclodextrina, observa-se principalmente uma banda larga de média intensidade em 3250 cm^{-1} atribuída ao estiramento das ligações O-H e uma banda forte em 1030 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação simples C-O (Ilustração 07).

Na mistura física, observou-se uma sobreposição dos padrões de IV das espécies isoladas (EHSB e ciclodextrina), com todas as bandas características do extrato e da ciclodextrina presentes, apenas em menor intensidade (deslocamentos nas bandas em 2915 cm^{-1} , 1734 cm^{-1} e 1020 cm^{-1}), demonstrando que houve fraca interação entre o extrato e a ciclodextrina.

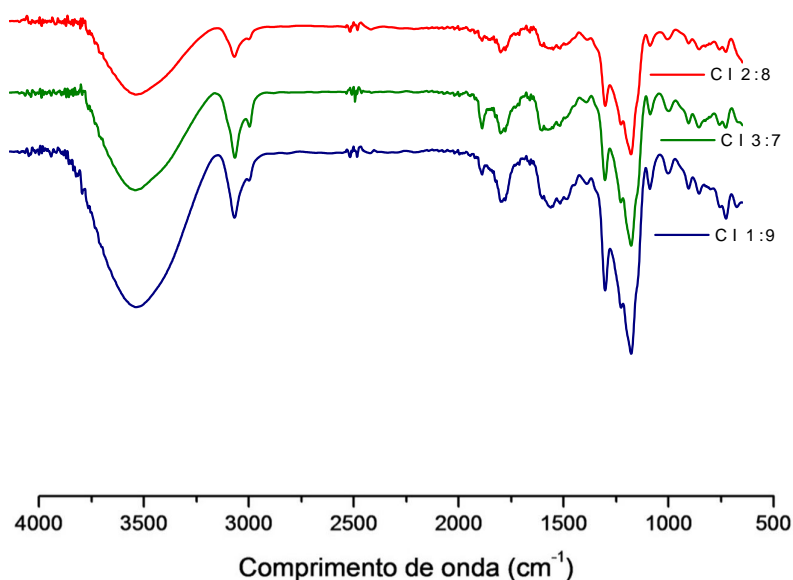
No complexo de inclusão observa-se que as bandas em 2960 cm^{-1} e em 1755 cm^{-1} diminuíram bastante de intensidade, chegando quase ao desaparecimento, uma vez que, a inserção de uma molécula no interior da cavidade da ciclodextrina provoca uma restrição conformacional, reduzindo a livre movimentação das moléculas encapsuladas contribuindo para a redução da intensidade dos seus sinais. Já a banda 1030 cm^{-1} , sofreu deslocamento para 1023 cm^{-1} e aumento de intensidade, indicando uma convolução de picos, ou seja, no complexo formado essas ligações foram envolvidas.

Ilustração 07: Espectro FTIR da molécula de β -ciclodextrina, do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB), mistura física entre EHSB e ciclodextrina e complexo de inclusão do extrato com β -ciclodextrina (EHSB: β CD).



A ilustração 08 mostra o comparativo dos espectros dos complexos de inclusão em diferentes proporções extrato hexânico: ciclodextrina. As três proporções de EHSB: β CD demonstram ter havido uma boa complexação entre a molécula complexante e a hóspede, pois houve intensa diminuição dos picos característicos das moléculas isoladas (EHSB: 2960 cm^{-1} , 1755 cm^{-1} e 1100 cm^{-1}), sem diferenças significativas entre os complexos.

Ilustração 08: Comparativo dos espectros FTIR dos complexos de inclusão nas proporções 2:8, 3:7 e 1:9 m/m (g).



Sugere-se, portanto, a partir das análises de FTIR dos compostos isolados e após a complexação, que houve formação efetiva do complexo de inclusão entre o extrato hexânico da semente do bacuri e a molécula de β -ciclodextrina, nas proporções avaliadas.

✓ *Difração de Raios X*

A difração de Raios X (DRX) determina a natureza cristalina de sólidos e é uma das melhores técnicas para caracterização dos complexos de inclusão, por sua simplicidade e rapidez (VEIGA; PERCORELLI; RIBEIRO, 2006; MEIRELLES, 2012). Baseia-se no espalhamento coerente da radiação X por estruturas organizadas (cristais), possibilitando um estudo morfológico das substâncias, ou seja, sua estrutura cristalina e/ou sua fração cristalina.

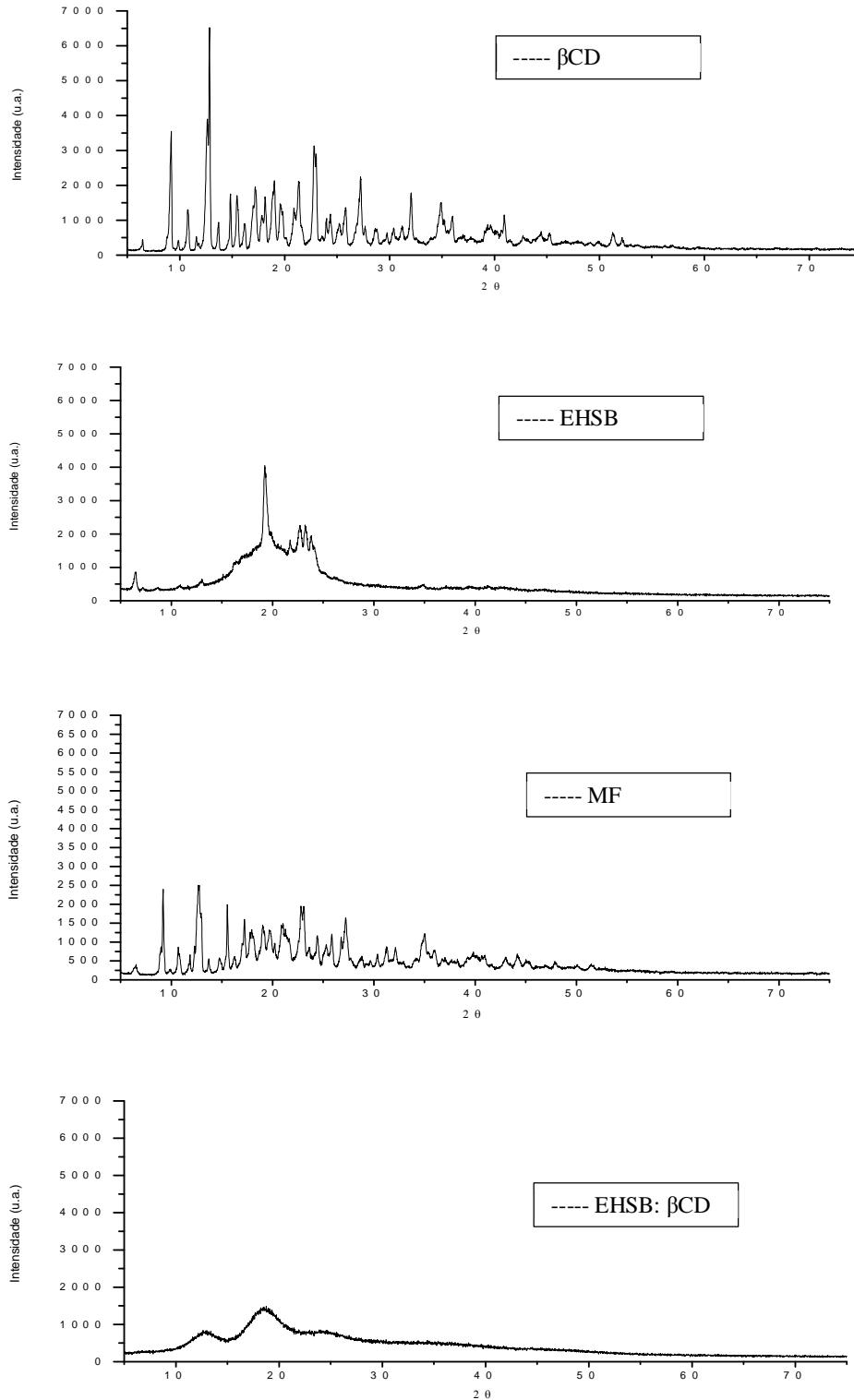
Dependendo da forma cristalina da molécula hóspede, haverá formação de picos característicos no difratograma. Assim, a complexação será avaliada por alterações nos picos característicos da molécula hóspede e da ciclodextrina com o complexo (JUNIOR, 2004; TAKAHASHI, 2009; VEIGA; PERCORELLI; RIBEIRO, 2006).

Por outro lado, o padrão de difração da mistura física é, em geral, a sobreposição dos padrões da molécula hóspede e da CD com picos de menor intensidade, porém, quando comparado ao padrão dos complexos, apresentam maior cristalinidade (MURA et al., 2005). Além das alterações nos picos característicos da molécula hóspede, quando ocorre a formação de complexos de inclusão, pode-se observar a formação de novos picos, que indicam uma nova fase sólida, que corresponde ao complexo fármaco-CD (TOROPAINEN et al., 2006).

Na análise da molécula de ciclodextrina por DRX, devido sua estrutura geométrica, não há uma direção preferencial desta molécula, ocorrendo formação de diversos picos de difração, como pode ser observado no gráfico do oligossacarídeo, apresentando-se como um composto de alta cristalinidade. O difratograma da β -ciclodextrina apresentou picos característicos em $2\theta = 9,30^\circ$; $10,72^\circ$; $12,88^\circ$; $15,50^\circ$; $17,20^\circ$; $22,81^\circ$; $27,23^\circ$ e $32,01^\circ$. O extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) apresenta-se com característica amorfa, com alguns picos característicos em $2\theta = 19,24^\circ$; $22,70^\circ$; $23,22^\circ$. Na MF observa-se um padrão de difração semelhante ao da β -ciclodextrina, mas com algumas alterações na linha base, como se pode observar pela diminuição e/ou deslocamentos de picos bem característicos da CD em $2\theta = 9,19^\circ$; $10,71^\circ$; $12,70^\circ$; $15,50^\circ$; $17,21^\circ$, indicando a presença de extrato (pela diminuição dos picos) e uma pequena interação entre o extrato e CD (Ilustração 09).

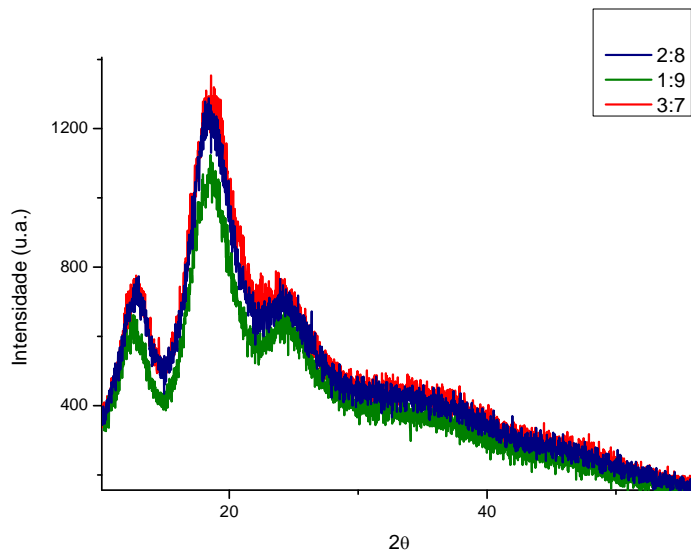
No complexo de inclusão (EHSB: β CD) observou-se alteração dos padrões de difração referentes à β CD e ao EHSB isolados; apresentando intensa amorfização, tendo em vista que o número e a intensidade dos sinais foram reduzidos, caracterizando perda de cristalinidade (Ilustração 08). Observa-se apenas duas bandas largas de pouca intensidade, em $2\theta = 12,84^\circ$ e $18,49^\circ$. A obtenção de um difratograma com características de um material amorfo, ou seja, sem picos finos bem definidos, pode ser um indicativo da ocorrência de complexação (CORTI et al, 2007).

Ilustração 09: Difratoograma da molécula de β -ciclodextrina (β CD), extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB), mistura física entre o extrato do bacuri e β -ciclodextrina (MF) e complexo de inclusão do bacuri com β -ciclodextrina (EHSB:BCD).



A ilustração 10 mostra o difratograma dos complexos formados em diferentes proporções de extrato hexânico: ciclodextrina, apresentando o mesmo perfil de difração de um pó amorfo. Não houve diferenças significativas entre os complexos formados.

Ilustração 10: Difratograma do complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com β -ciclodextrina em diferentes proporções extrato hexânico: ciclodextrina (2:8; 1:9; 3:7) m/m (g).

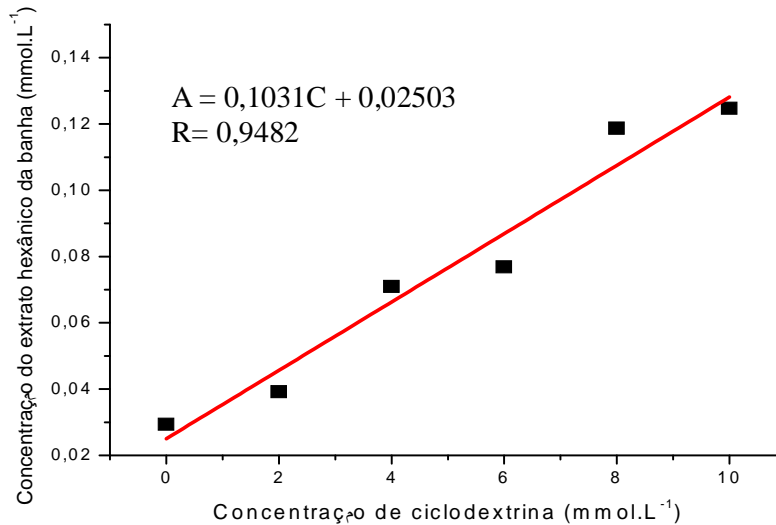


✓ Diagrama de solubilidade de fases

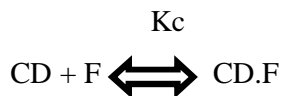
A abordagem mais utilizada para o estudo de complexação é o método descrito por Higuchi e Connors (1965), sendo considerada a primeira verificação de complexos de inclusão em solução. Esse estudo analisa os resultados de solubilidade da molécula hóspede em soluções com concentrações crescentes de CDs, permitindo obter a constante de estabilidade (K_c) e a estequiometria de formação do complexo, a partir da solubilidade intrínseca do substrato (S_0) e a inclinação da reta resultante do diagrama de solubilidade (VEIGA; PERCORELLI; RIBEIRO, 2006).

A partir da análise dos constituintes químicos do extrato hexânico e seus respectivos teores, obtidos através do cromatograma de íons totais da fração desse extrato, conforme mostrado na Ilustração 06 na página 72; pôde-se obter a massa molar média do EHSB, necessária para a realização do diagrama. O gráfico gerado corresponde à concentração do EHSB (molaridade) versus concentração de ciclodextrina (molaridade).

Ilustração 11: Diagrama de solubilidade do extrato hexânico em β-ciclodextrina.



O diagrama obtido a partir da β-ciclodextrina é do tipo linear crescente (A_L), ou seja, possui aumento da solubilidade diretamente proporcional ao incremento das concentrações do agente complexante (HIGUCHI; CONNORS, 1965). A partir do diagrama, obteve-se o coeficiente angular, com resultado inferior a 1, indicando a estequiometria do complexo 1:1, característico de complexos do tipo A_L (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; LYRA et al., 2010) (Ilustração 11). A partir da equação da reta obtida do diagrama de solubilidade da β-ciclodextrina, calculou-se a Constante de estabilidade (K_c), parâmetro que avalia a razão na qual a solução contendo ciclodextrina (CD) e fármaco (F), forma o complexo (CD.F); e a Eficiência de complexação (E_c), a partir das equações formuladas por Higuchi e Connors (1965), descritas abaixo (Equações 1 e 2):



$$K_{C1:1} = \frac{\text{Coeficiente angular}}{S_0 (1 - \text{coeficiente angular})} \quad \text{Equação (1)}$$

$$E_c = \frac{\text{Coeficiente angular}}{(1 - \text{coeficiente angular})} \quad \text{Equação (2)}$$

Quanto maior o valor de (Kc) obtido, maior facilidade de formação de complexo de inclusão. No complexo de inclusão formado entre o extrato hexânico das sementes do bacuri e a molécula de β -ciclodextrina, obteve-se um valor da constante (Kc) de 416 mol L⁻¹. Em termos farmacêuticos, é desejável usar complexos de formação cuja constante se situe entre 100 e 1000 M⁻¹. Fármacos com constante de formação menor formam complexos instáveis, enquanto que aqueles que têm constante de formação elevada são estáveis demais para liberação do fármaco no organismo (RAMA et al., 2005) (Tabela 04).

Tabela 04: Valores da solubilidade intrínseca (S₀) do extrato hexânico da semente de *Platonia insignis* Mart., coeficiente angular, coeficiente de correlação, constante de estabilidade (Kc) e eficiência de complexação obtidos a partir do diagrama de solubilidade do complexo de inclusão entre o extrato hexânico e a molécula de β -ciclodextrina.

Ciclodextrina	S ₀ (mol.L ⁻¹)	Coeficiente angular	Coeficiente de correlação	Kc (mol.L ⁻¹)	EC
β -C	0,02503	0,01031	0,9482	416	0,010

Conclusão

Diante dos resultados, é possível sugerir a efetiva formação do complexo de inclusão entre o extrato hexânico da semente de bacuri e β -ciclodextrina (EHSB: β CD). Através da análise no infravermelho, observou-se envolvimento das ligações C=O de carbonilas e C-O, indicando que na complexação, constituintes com estas ligações, ésteres e benzofenonas preniladas, estão envolvidos no processo. Pelo diagrama de solubilidade, constata-se que a constante de estabilidade (Kc) apresentou um valor relativamente alto, indicando boa estabilidade e um aumento de solubilidade diretamente proporcional ao incremento das concentrações do agente complexante.

REFERÊNCIAS

AALTONEN, J.; GORDON, K. C.; STRACHAN, C. J.; RADES, T. Perspectives in the use of spectroscopy to characterise pharmaceutical solids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 159-169, 2008.

AGRA, M. D. F.; FREITAS, P. F. D.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ARRAIS, M. A. S. **Obtenção e caracterização físico-química do complexo de inclusão dapsona: β cd e dapsona: sb β cd para incremento de solubilidade em forma farmacêutica.** 2012. 93 f. Dissertação (Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí. Teresina - Piauí, 2012.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced drug delivery reviews**, v. 59, n. 7, p. 645-666, 2007.

BRITTO, M. A. F. O.; NASCIMENTO JR, C. S.; SANTOS, H. F. D. Structural analysis of cyclodextrins: a comparative study of classical and quantum mechanical methods. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 882-888, 2004.

CANNAVÀ, C.; CRUPI, V.; FICARRA, P.; GUARDO, M.; MAJOLINO, D.; STANCANELLI, R.; VENUTI, V. Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV-vis and FTIR-ATR spectroscopies. **Vibrational Spectroscopy**, v. 48, n. 2, p. 172-178, 2008.

CHECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, p. 99-105, 1998.

CHEN, X.Q., LI, Y., CHENG, X., WANG, K., H. E, J., PAN, Z.H., LI, M. M., PENG, L.Y., XU, G., ZHAO, Q. S. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols and chromone O-glucosides from *Hypericum henryi* subsp. *uraloides*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 1, p. 196-204, 2010.

CHEN, L-G.; YANG, L-L; WANG, C-C. Anti-inflammatory activity of mangostins from *Garcinia mangostana*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 688-693, 2008.

COELHO, L. N. **Estudo da inclusão de filtros solares em ciclodextrinas e suas aplicações em dermatocósmética.** 2001. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

CORTI, G.; CAPASSO, G., MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MURA, P. Physical-chemical characterization of binary systems of metformin hydrochloride with triacetyl- β -cyclodextrin. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 45, n. 3, p. 480-486, 2007.

COSTA JÚNIOR, J. S. ; ALMEIDA, A. A. C. ; TOMÉ, A. R. ; CITÓ, A. M. G. L. ; SAFFI, J. ; FREITAS, R. M. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart. (Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 4, p. 678-684, 2011a.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; FILHO, B. A. B.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; FREITAS, R. M.; SAFFI, J. Evaluation of antioxidant effects in vitro of *Garcinielliptona* FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 2, p. 293-299, 2011b.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; Citó A. M. G. L.; Cavalcante, A. A. C. M.; FREITAS, R. M.; SPEROTTO, A. R. M.; PERES, V. F.; MOURA, D. J.; SAFFI, J. Investigation of Biological Activities of Dichloromethane and Ethyl Acetate Fractions of *Platonia insignis* Mart. seed. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 112, n. 1, p. 34-41, 2013.

CUI, J.; HU, W.; CAI, Z.; LIU, Y.; LI, S.; TAO, W.; ZIANG, H. New medicinal properties of mangostins: Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L., v. 95, p. 166-172, 2010.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2009.

DE OLIVEIRA, V. E.; ALMEIDA, E. W. C.; CASTRO, H. V.; EDWARDS, H. G. M.; DOS SANTOS, H. L. F.; DE OLIVEIRA, L. F. C. Carotenoids and β -cyclodextrin inclusion complexes: Raman spectroscopy and theoretical investigation. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, n. 30, p. 8511-8519, 2011.

FERREIRA, F. R.; FERREIRA, S. A. N.; CARVALHO, J. D. U. **Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil**, 1987.

FERREIRA, G. A. L., GOTTLIEB, O. R., MESQUITA, A. A. Xanthonenes from a *Kielmeyera* species. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1512-1513, 1972.

FRACETO, L. F.; GONCALVES, M. M.; MORAES, C. M.; ARAÚJO, D. R.; ZANELLA, L.; PAULA, E.; PERTINHEZ, T. A. Caracterização do complexo de inclusão ropivacaína: β -ciclodextrina. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1203-1207, 2007.

FRANCO DE LIMA, R. A.; DE JESUS, M. B.; SAIA CEREDA, C. M.; TOFOLI, G. R.; CABEÇA, L. F.; MAZZARO, I.; FRACETO, L. F.; DE PAULA, E. Improvement of tetracaine antinociceptive effect by inclusion in cyclodextrins. **Journal of drug targeting**, v. 20, n. 1, p. 85-96, 2012.

GUEDES, F. L.; ALVES, G. M. C.; SANTOS, F. L. A.; LIMA, L. F.; ROLIM, L. A.; ROLIM NETO, P. J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 3, p. 220-225, 2008.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. **Advanced Analytical Chemistry Instrumental.**, v. 4, n. 2 p. 207-212, 1965.

HILDITCH, T. P., PATHAK, S. P. S 17. The component glycerides of Bacury (*Platonia insignis*, mart.) seed fat. **Journal of the Chemical Society**, n. 0, p. S87-S90, 1949.

JULLIAN, C.; MORALES-MONTECINOS, J.; ZAPATA-TORRES, G.; AGUILERA, B.; RODRIGUEZ, J.; ARANC, V.; OLEA-AZARB, C. Characterization, phase-solubility, and molecular modeling of inclusion complex of 5-nitroindazole derivative with cyclodextrins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 5078-5084, 2008.

JUNIOR, S. V. C. **Técnicas de caracterização de polímeros**. Editora Artiber, 2004.

KEMELBEKOV, U. S.; HAGENBACH, A.; LENTZ, D.; IMACHOVA, S. O.; PICHKHADZE, G. M.; RUSTEMBEKOV, Z. I.; BEKETOV, K. M.; PRALIEV, K. D.; GABDULKHAKOV, A.; GUSKOV, A.; SAENGER, W. Pharmacology and structures of the free base of the anaesthetic kazcaine and its complex with β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 68, n. 3-4, p. 323-330, 2010.

LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e obtenção tecnológica de forma farmacêutica de uso tópico.** 2012. 125 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI, 2012.

LYRA, M. A.; MARQUES, D. E.; ALVES, L. D. S.; FONTES, D. A. F.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM-NETO, P. J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 117-124, 2010.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MEIRELLES, L. M. A. **Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida.** 2012. 80 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI, 2012.

MENEZES, P. P.; SERAFINI, M. R.; SANTANA, B. V.; NUNES, R. S.; QUINTANS JR, L. J.; SILVA, G. F.; MEDEIROS, I. A.; MARCHIORO, M.; FRAGA, B. P.; SANTOS, M. R. V.; ARAÚJO, A. A. S. Solid-state β -cyclodextrin complexes containing geraniol. **Thermochimica Acta**, v. 548, n. 0, p. 45-50, 2012.

MURA, P.; BETTINETTI, G. P.; CIRRI, M.; MAESTRELLI, F.; SORRENTI, M.; CATENACCI, L. Solid-state characterization and dissolution properties of naproxen–arginine–hydroxypropyl- β -cyclodextrin ternary system. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**, v. 59, n. 1, p. 99-106, 2005.

OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, P. Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 6, p. 70-83, 2009.

PICCINELLI, A. L., CAMPONE, L., DAL PIAZ, F., CUESTA-RUBIO, O., RASTRELLI, L. Fragmentation pathways of polycyclic polyisoprenylated benzophenones and degradation profile of nemorosone by multiple-stage tandem mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 20, n. 9, p. 1688-1698, 2009.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos. Fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo**, v. 41, n. 3, 2005.

ROBERTS, J. C. Naturally Occurring Xanthenes. **Chemical reviews**, v. 61, n. 6, p. 591-605, 1961.

ROCHA, M. S. **Estudo do encapsulamento do óleo essencial de *Lantana camara* L. em β -ciclodextrina por métodos espectroscópicos e cromatográficos**, 2012. 95 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, 2012.

SERAFINI, M. R., MENEZES, P. P., COSTA, L. P., LIMA, C. M., QUINTANS-JÚNIOR, L. J., CARDOSO, J. C., MATOS, J. R., SOARES-SOBRINHO, J. L., GRANGEIRO JR., S., NUNES, P. S., BONJARDIM, L. R., ARAÚJO, A. A. S. Interaction of p-cymene with cyclodextrin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 109, n. 2, p. 951-955, 2012.

SILVA BENTES, M. H.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.; GODOY, R. L. O.; SILVA CABRAL, J. A.; SOARES MAIA, J. G. Estudo químico das sementes de bacuri. **Acta Amazônica**, v. 16, p. 363-368, 1986.

SINGH, R.; BHARTI, N.; MADAN, J.; HIREMATH, S. N. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 3, p. 171-183, 2010.

SINIMBÚ NETO, F. A.; MARTINS, A. B. G.; BARBOSA, J. C. Viabilidade in vitro de grãos de pólen de bacurizeiro – Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 593-600, 2011.

SOUZA, V. A. B. D.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; LIMA, P. S. D. C. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da Região Meio-Norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 677-683, 2001.

SPRICIGO, R.; BOTELHO, K.; CONSIGLIERI, V.; SERRA, C. H. R. Obtenção e Avaliação de Complexos de Inclusão de Furosemida com β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina: Efeitos sobre as Propriedades de Dissolução do Fármaco. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 5, p. 645-653, 2008.

SZEJTLI, J. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. **Chemical reviews**, v. 98, n. 5, p. 1743-1754, 1998.

TAKAHASHI, A.I. **Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de sinvastatina e ciclodextrinas**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

TCHAMADEU, M. C.; DZEUFUET, P. D. D.; NOUGA, C. C.; AZEBAZE, A. G. B.; ALLARD, J.; GIROLAMI, J. P.; TACK, I.; KAMTCHOUING, P.; DIMO, T. Hypoglycaemic effects of *Mammea africana* (Guttiferae) in diabetic rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 368-372, 2010.

TOROPAINEN, T.; VELAGA, S.; HEIKKILÄ, T.; MATILAINEN, L.; JARHO, P.; CARLFORS, J.; LEHTO, V.P.; JÄRVINEM, K. Preparation of budesonide/ γ -cyclodextrin complexes in supercritical fluids with a novel SEDS method. Emulsion based formulations. **J. Pharm. Sci.**, v. 95, p. 2235-2245, 2006.

VEIGA, F.; PECORELLI, C.; RIBEIRO, L. As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica. **Edições Minerva Coimbra. Coimbra. 1ª edição, 2006.**

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1680-1685, 2011.

WANG, J. J.; SANDERSON, B. J. S.; ZHANG, W. Cytotoxic effect of xanthenes from Cpericarp of the tropical fruit mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) on human melanoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2385-2391, 2011.

CAPÍTULO II: Efeito gastroprotetor do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart. e complexo de inclusão extrato hexânico: β -ciclodextrina em diferentes modelos experimentais

Efeito gastroprotetor do extrato hexânico de *Platonia insignis* Mart. e complexo de inclusão extrato hexânico:β-ciclodextrina em diferentes modelos experimentais

NASCIMENTO, JL¹; BARROS, YSO², ARCANJO, DDR³; ROCHA, MS⁴, COSTA JÚNIOR, JS⁵; OLIVEIRA, IS³; SILVA, FV³; VIANA, AFSC³; OLIVEIRA, RCM³; CITÓ, AMGL^{1,6}

¹Curso de Farmácia, Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

²Bolsista PIBITI/CNPQ-UFPI

³Departamento de Biofísica e Fisiologia, Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁴Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁵Departamento de Química, Instituto Federal do Piauí, CEP 64000-040, Teresina, Piauí, Brasil.

⁶Departamento de Química, Universidade federal do Piauí, CEP 64.049-550, Teresina, Piauí, Brazil.

RESUMO

A família Clusiaceae engloba diversas espécies empregadas usualmente na medicina popular para tratamento de inúmeros danos. *Platonia insignis* Mart., pertencente a essa família é uma espécie nativa da região amazônica do Brasil, conhecida comumente como bacurizeiro. É bastante utilizada na população para tratamento de diarreia e processos inflamatórios. Este trabalho avaliou a atividade gastroprotetora do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) e do complexo de inclusão do extrato e a molécula de β-ciclodextrina (EHSB: βCD) nos modelos de indução de lesão gástrica por etanol em camundongos Swiss e indução de lesão gástrica por isquemia e reperfusão (I/R) em ratos Wistar, como também realizou-se a dosagem de MDA nos estômagos lesionados pela administração do etanol. No modelo de lesão gástrica induzida por etanol, os compostos foram avaliados nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg, utilizando a carbenoxolona (100 mg kg⁻¹) como controle positivo. Em todas as doses, o extrato hexânico e o complexo de inclusão apresentaram redução na área de lesão comparada ao controle negativo; na dose de 100 mg kg⁻¹, o complexo de inclusão apresentou proteção gástrica semelhante à carbenoxolona (100 mg kg⁻¹). No modelo de lesão gástrica

induzida por isquemia e reperfusão (I/R), o EHSB e o complexo de inclusão EHSB: β CD nas doses de 25, 50 e 100 mg kg⁻¹ apresentaram proteção da mucosa gástrica em relação ao controle negativo. *N*-acetilcisteína (100 mg kg⁻¹) foi utilizado como medicamento de referência. O EHSB, o complexo de inclusão e o controle positivo, não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Avaliou-se a dosagem de malonaldeído (MDA) nos estômagos dos animais tratados com EHSB ou EHSB: β CD utilizados no protocolo de indução de úlcera por etanol (50 mg kg⁻¹). Houve diminuição das concentrações de MDA, quando comparado ao controle negativo. Carbenoxolona (100 mg kg⁻¹) foi utilizado como droga de referência. Os resultados deste estudo demonstram que os compostos utilizados apresentaram uma inibição significativa na formação de lesões gástricas evidenciada nos dois modelos utilizados, sugerindo a utilização do extrato e com melhores características, o complexo, como uma excelente alternativa no desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos para o tratamento da úlcera gástrica.

PALAVRAS-CHAVE: *Platonia insignis*, úlcera, complexo de inclusão, extrato hexânico, isquemia.

ABSTRACT

The Clusiaceae family comprises several species commonly used in folk medicine to treat numerous injuries. *Platonia insignis* Mart. belonging to this family is a species native to the Amazon region of Brazil, commonly known as “bacurizeiro”. It is widely used in the population for the treatment of diarrhea and inflammatory processes. This study evaluated the gastroprotective activity of the hexane seed extract bacuri (EHSB) and inclusion complex extract and the β -cyclodextrin molecule (EHSB: β CD) in models of gastric damage induced by ethanol in Swiss mice and induction of injury gastric ischemia- reperfusion (IR) in rats Wistar as well as the dosage of MDA in the stomachs injured by the administration of ethanol. In the ethanol-induced gastric lesion model, compounds were evaluated at doses of 25, 50 and 100 mg kg⁻¹ using carbenoxolone (100 mg kg⁻¹) as a positive control. At all doses, the hexane extract and the inclusion complex showed a reduction in lesion area compared to the negative control, at the 100 mg kg⁻¹, the inclusion complex had similar gastric protection to carbenoxolone (100 mg kg⁻¹). In the gastric damage induced by ischemia and reperfusion model, the EHSB inclusion complex and EHSB : β CD at doses of 25, 50 and 100 mg kg⁻¹ showed protection of gastric mucosa compared to the negative control. *N*-acetylcysteine (100 mg kg⁻¹) was used as reference drug. The EHSB, the inclusion complex and the positive

control, showed no statistical differences. We assessed the dosage of malonaldehyde (MDA) in the stomachs used in induction protocol by ulcer ethanol (50 mg kg⁻¹). Decreased concentrations of MDA when compared to the negative control. Carbenoxolone (100 mg kg⁻¹) was used as reference. The results of this study demonstrate that the compounds used showed a significant inhibition of the formation shown in the two models used gastric lesions, suggesting the use of the extract with improved characteristics, the complex as an excellent alternative to develop herbal medicines for the treatment of gastric ulcer.

KEYWORDS: *Platonia insignis*, ulcer, inclusion complex, hexane extract, ischemia.

INTRODUÇÃO

A úlcera e hiperacidez gástrica são os transtornos globais mais comuns do trato gastrointestinal, com o aumento de sua incidência e prevalência (LIMA et al., 2006; SANTIN et al., 2010). Normalmente são provocadas por um desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores do estômago, tais como, secreção de ácido-pepsina, barreira mucosa, secreção de muco, fluxo sanguíneo, regeneração celular, prostaglandinas e fatores de crescimento epidérmico (ANDRADE et al., 2006; LIMA et al., 2006; ISHIKAWA et al., 2008; KLEIN et al., 2010). Estresse, tabagismo, deficiências nutricionais, ingestão de fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINE), predisposição hereditária e infecção por *Helicobacter pylori* são fatores que podem aumentar a incidência de úlcera gástrica (BARROS et al., 2008). Estima-se que 14,5 milhões da população mundial são afetados por esta patologia com taxa de mortalidade de 4,08 milhões (PELLIZZON; ROZZA, 2012).

O grau de dano gástrico após estímulo nocivo induzindo úlceras depende de um equilíbrio entre os fatores que promovem este dano e ativação de mecanismos de defesa naturais. A cura da úlcera é um processo complexo, que envolve a migração celular, a proliferação, a replicação de células endoteliais nas margens da úlcera para reestabelecer a arquitetura glandular, angiogênese no tecido de granulação na base da úlcera e deposição de matriz, em última análise conduzindo à formação da cicatriz (TARNAWSKI, 2005; WALLACE, 2005).

O estômago pode ativar muitos mecanismos gastroprotetores para prevenir lesões causadas por agentes nocivos. Entre os fatores defensivos, vários estudos tem demonstrado recentemente que o muco gástrico oferece intensa proteção. A segunda linha de defesa inclui a neutralização do ácido intracelular, a rápida reparação epitelial, a manutenção e redistribuição da vasculatura na estrutura gástrica (PELLIZZON; ROZZA, 2012).

Os radicais livres são responsáveis por grande parte dos danos que ocasionam o surgimento de úlceras e processos inflamatórios no TGI. Diversos compostos antioxidantes controlam a produção de radicais livres, podendo ter origem endógena ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Os antioxidantes possuem a capacidade de estabilizar ou mesmo desativar tais radicais antes que os alvos biológicos nas células sejam atingidos (SOUSA et al., 2007).

Importantes antioxidantes circulam no sangue, bem como biomarcadores da peroxidação lipídica das membranas celulares. Atualmente, o malonaldeído (MDA) é

considerado como um biomarcador geral de dano oxidativo plasmático (PIRES et al., 2013). Os radicais livres formados induzem à peroxidação lipídica e à subsequente produção de quantidades aumentadas de malonaldeído (MDA) (ELIAS, 2009).

Os medicamentos sintéticos atualmente utilizados para o tratamento e prevenção de úlcera gástrica podem ser divididos em duas classes, dentre eles: antiácidos, anticolinérgicos, inibidores da bomba de prótons e antagonistas dos receptores H₂ (BIGHETTI et al., 2005; PELLIZZON; ROZZA, 2012). No entanto, há inúmeros efeitos adversos causados por estes medicamentos alopáticos, como hipersensibilidade, ginecomastia, impotência, arritmia e alterações hematopoiéticas. De acordo com o Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas (BRASIL, 2009), no Brasil, como na maioria dos países, os medicamentos se apresentam como o principal agente tóxico, respondendo por, aproximadamente, 27% dos casos de intoxicação humana registrados anualmente (COSTA, 2012). No Brasil, o consumo de fármacos para o tratamento de úlceras é significativo. De acordo com estudo realizado por Arrais et al., (1997), a classe de medicamentos mais procurada na automedicação pela população brasileira, é a de medicamentos para o aparelho digestório (24%), seguido de sistema nervoso central (18,2%) e sistema respiratório (17,7%).

Deste modo, existe uma urgente necessidade de investigação de novos fármacos que permitam o desenvolvimento de terapias alternativas para o tratamento de úlceras gástricas. Os extratos vegetais encontram-se entre as mais promissoras fontes de novos tratamentos, podendo ser mais seguros, menos onerosos e por possuírem melhor tolerabilidade, mesmo em maiores doses (GOEL; SAIRAM, 2002; JAINU; DEVI, 2006; BONACORSI et al., 2009; PELLIZZON; ROZZA, 2012).

Dentre as plantas medicinais, a Família Clusiaceae destaca-se pelo interesse crescente dos pesquisadores da saúde em desvendar suas atividades biológicas pronunciadas e importantes (MACIEL et al., 2002; COSTA JÚNIOR, 2011). *Platonia insignis* Mart., espécie pertencente a esta família representa uma planta com alto valor medicinal e econômico. Seu fruto pode ser utilizado tanto cru, quanto na preparação de sorvetes, geléias, cremes, refrescos, como para a agroindústria; na área medicinal, o óleo extraído das sementes do bacuri é utilizado para tratar diversas doenças, tais como problemas de pele: queimaduras, feridas, ação antimicrobiana, antitumoral, citotóxica, antioxidante e de forma sistemática, como anti-inflamatório (LIMA; VIEIRA; COSTA JÚNIOR, 2007; SANTOS JÚNIOR et al., 2010). Investigações sobre a composição química das plantas da família Clusiaceae mostraram que estas são ricas em xantonas e benzofenonas poliisopreniladas, que foram isolados não só nas resinas, mas também em outras partes das plantas (PICCINELLI et al.,

2009; CHEN et al., 2010; COSTA JUNIOR, 2011). Apresenta um fruto com polpa rica em constituintes químicos com propriedades antioxidantes como, as vitaminas C e E (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995; COSTA JÚNIOR, 2011) e uma semente rica em ácidos graxos, oléico, palmítico, éster metílico do ácido linoleico, ácido erúcido, mirístico, linoléico, esteárico e palmitoléico, além da presença de tripalmitina (SILVA BENTES et al., 1986; LUSTOSA, 2012).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito gastroprotetor exercido pelo extrato hexânico da semente do bacuri, como também do seu complexo de inclusão com a molécula de β -ciclodextrina, através dos protocolos de lesão gástrica induzida por etanol e lesão gástrica induzida por isquemia e reperfusão; e a realização da dosagem do malonaldeído (MDA) nos estômagos dos camundongos utilizados no protocolo de indução de úlcera por etanol.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As sementes de *Platonia insignis* Mart. (bacuri) foram obtidas na Central de Abastecimento do Piauí- CEAPI, em março de 2012. O extrato hexânico das sementes do bacuri (EHSB) foi obtido através de extração contínua em Soxhlet durante 8 horas. Realizou-se a complexação do extrato hexânico obtido das sementes com a molécula de β -ciclodextrina (EHSB: β CD) pelo método de solubilização seguida por pulverização a seco no aparelho de spray-drying (COELHO, 2001).

Fármacos e reagentes

Os seguintes fármacos e reagentes foram utilizados: extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB), complexo de inclusão do extrato hexânico com β -ciclodextrina (EHSB: β CD), carbenoxolona, *N*-acetilcisteína (Eurofarma), Tween 80 (SIGMA, EUA), etanol absoluto, tiopental sódico (Cristália, Brasil), cloridato de cetamina 10% (Syntec), cloridato de xylasina 2% (Syntec), ácido acético, ácido tiobarbitúrico (TBA) e duodecil sulfato de sódio (SDS). As soluções com as substâncias para os experimentos gástricos (etanol e isquemia) foram preparadas imediatamente antes de cada experimento, utilizando-se como veículo Tween 80

1% em solução salina 0,9% ou água destilada. As concentrações das drogas foram ajustados para o tratamento para obter um volume de 1 mL/100g.

Equipamentos

Foram utilizados: agitador de soluções (AP56 Phoenix), balança analítica (Shimadzu); homogeneizador (MA 102 Marconi), ultra-som (Marconi), vortex (QL-901 Biomixer), triturador de tecido, centrifugador, banho-maria (Quimis), espectrofotômetro.

Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*, variedade Swiss), com peso variando entre 25 a 30 g e ratos (*Ratus norvegicus*, linhagem Wistar), pesando de 180 a 220 g, fornecidos pelo Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais - NPPM da Universidade Federal do Piauí. Os animais foram mantidos em gaiolas-padrão, em temperatura controlada (24 ± 1 °C) com ciclo de 12 h claro/escuro, tendo livre acesso à água e ração. Eles foram mantidos em jejum por um período de 18 h e foram aclimatizados ao ambiente de teste por 2 h antes de cada experimentação. Em todas as experiências, os animais foram mantidos em gaiolas com relevo, piso de malha larga para evitar a coprofagia. Após os procedimentos experimentais, os animais foram eutanasiados com sobredose de tiopental sódico (100 mg kg⁻¹, i.p.). Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (CEEA-PI 008/12).

Protocolos experimentais

Lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos

Depois de 18 h de jejum, os camundongos foram aleatoriamente divididos em grupos de 06 (seis) animais cada. Lesões gástricas agudas foram induzidas em camundongos pela administração intragástrica de etanol absoluto (ROBERT et al., 1979) em um volume de 0,2 mL por animal. Nos grupos administrou-se por via oral, o EHSB (25; 50 e 100 mg kg⁻¹), o complexo de inclusão EHSB:βCD na proporção 3:7 (25; 50 e 100 mg kg⁻¹), salina ou carbenoxolona (100 mg kg⁻¹) 1 h antes da aplicação do agente ulcerogênico. Após 30 min da administração de etanol absoluto, os animais foram eutanasiados e seus estômagos removidos. Posteriormente, cada estômago foi aberto ao longo da curvatura maior, lavados

cuidadosamente com solução salina (NaCl 0,9%) para remover o conteúdo gástrico e coágulos sanguíneos, e comprimido entre dois vidros de relógio. O contorno das lesões no corpo do estômago foi traçado em película transparente através de um marcador de ponta de feltro, como descrito por IWATA et al. (1997). As áreas totais das lesões foram medidas usando um programa de planimetria computadorizada (Image J) e expressas em termos de percentagem de área de lesão (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973).

Lesões gástricas induzidas por isquemia e reperfusão em ratos

Ratos Wistar (n = 6/grupo) foram tratados por via oral com salina, *N*-acetilcisteína (200 mg/kg), EHSB (25; 50 e 100 mg kg⁻¹) ou o complexo de inclusão EHSB:βCD na proporção 3:7 (25; 50 e 100 mg kg⁻¹). Depois de 30 minutos, os animais foram anestesiados (cetamina - 30 mg kg⁻¹/ xylazina - 0,3 mg kg⁻¹) por injeção intraperitoneal. Realizou-se uma incisão no abdômen, e após a localização da artéria celíaca, os animais foram submetidos a 30 min de isquemia induzida pela oclusão da artéria por um “clamp” microvascular e seguido por uma reperfusão de 1 h de acordo com o método adaptado de Ueda e Okada (1989). A seguir, os animais foram eutanasiados, seus estômagos foram removidos e abertos ao longo da curvatura maior, lavados com salina para remoção do conteúdo gástrico e coágulos de sangue, sendo a área de lesões gástricas medida por planimetria como descrito anteriormente (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973).

Dosagem de Malonaldeído (MDA)

Realizou-se a dosagem do malonaldeído (MDA) de acordo com o protocolo proposto por Onkawa, Ohishi e Yagi (1979), com adaptação. Inicialmente pesou-se 100 mg da parte glandular do estômago, cortado em pequenos pedaços, utilizado no protocolo de indução de úlcera por etanol e armazenado a - 70 °C. Em seguida, foi adicionado 1 mL de tampão fosfato e homogeneizado em um triturador de tecido. Centrifugou-se a 10.000 rpm, a 4 °C, durante 5 minutos. Pipetou-se 300 uL do sobrenadante e adicionou-se 350 uL de ácido acético (pH 3,5) e 600 uL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (diluído em ácido acético). Os tubos foram levados para o banho-maria a 85 °C durante uma hora, agitando-se os tubos a cada 15 minutos. Posteriormente, os tubos foram levados ao banho de gelo por 15 minutos.

Adicionou-se 50 uL de duodecil sulfato de sódio (SDS) a 8,1% em cada tubo. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm, a 25 °C, durante 15 minutos. Após a retirada do sobrenadante, foi realizada a leitura no espectrofotômetro em 510, 532 e 560 nm,

Análise Estatística

Todos os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os dados obtidos foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism (versão 5.0) e os grupos experimentais foram comparados com o grupo salina (controle negativo). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para valores de $p < 0,001$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do extrato hexânico das sementes do bacuri e do complexo de inclusão sobre as lesões gástricas induzidas por etanol

Existem inúmeros fatores agressivos que promovem lesão na mucosa gástrica, incluindo o ácido clorídrico (HCl), hipoperfusão da mucosa (HAM; KAUNITZ, 2007), os radicais livres de oxigênio e etanol, etc. (LIU et al., 2012; DA SILVA et al., 2013; AMARAL et al., 2013).

O abuso de etanol afeta a saúde humana e tornou-se um sério problema em todo o mundo (TAPIERO, 2004) podendo causar danos para vários órgãos, incluindo o fígado, cérebro, coração, músculos esqueléticos, pâncreas, sistemas endócrino, hematológico e imunológico (WANG et al., 2012).

O consumo excessivo de álcool é o maior contribuinte para a ulceração (FRANKE; TEYSSEN; SINGER, 2005), elevando os riscos de danos à mucosa gástrica (SANTOS; RAO, 2001), produzindo erosões gástricas hemorrágicas agudas, podendo resultar em gastrite caracterizada por edema da mucosa, hemorragias subepiteliais, esfoliação celular e infiltração de células inflamatórias (GUSLANDI, 1987; KO; CHO; LAM, 2004), que é essencialmente uma reação inflamatória aguda.

O etanol é capaz de alcançar a mucosa gástrica através da ruptura da barreira muco/bicarbonato, e suas ações celulares refletem uma diminuição do fluxo sanguíneo com ruptura da parede de vasos e a diminuição da produção de muco (MINCIS et al., 1995; INEU et al., 2008; CHOI et al., 2009). Além disso, a lesão gástrica provocada pelo etanol pode ser

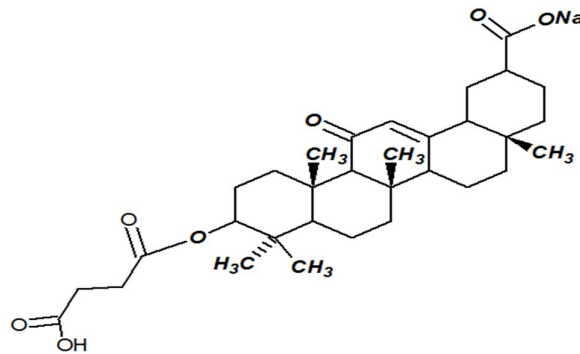
devido à geração de espécies reativas (ERs), provocando um stress oxidativo, seguido do esgotamento de antioxidantes (WANG et al., 2012). A perturbação do equilíbrio redox pela administração de etanol pode ativar o sistema imunológico inato, resultando em secreção de citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL-6, que aumentam os efeitos do stress oxidativo. Níveis elevados de IL-6 ativam neutrófilos, linfócitos e monócitos/macrófagos no local da inflamação, que por sua vez inicia diversas reações oxidativas, tóxicas, metabólitos e liberação de enzimas lisossomais responsáveis pelos danos no tecido local, provocando úlcera péptica (MEI et al., 2012).

Ocorre também a diminuição da proliferação celular, alterações na permeabilidade e despolarização da membrana mitocondrial, as quais precedem a morte (BAGCHI et al., 1998; HIROKAWA et al., 1998; REPETTO; LLESUY, 2002; INEU et al, 2008; CHOI et al, 2009). O ataque das ERs em constituintes celulares essenciais, tais como proteínas, lípidos e ácidos nucleicos, acabam provocando a formação de compostos tóxicos (KAHARAMAN et al.,2003; AMARAL et al., 2013).

A carbenoxolona (sal sódico do hemisuccinato do ácido glicirretínico), obtida a partir das raízes e rizomas do alcaçuz, é um fármaco de origem natural com ação anti-ulcerogênica (Ilustração 01). Seu mecanismo de ação compreende o aumento dos níveis de prostaglandinas na mucosa gástrica por inibir as enzimas que promovem o catabolismo das prostaglandinas na mucosa gástrica (15-hidroxi-PG-dehidrogenase e Δ^{13} – PG- redutase). Níveis elevados de prostaglandinas aumentam a secreção de muco e bicarbonato e consequentemente, os mecanismos de proteção da mucosa contra o ácido clorídrico e a pepsina. Além deste mecanismo, a carbenoxolona age aumentando os níveis de AMPc por inibição das fosfodiesterases da mucosa e também por inibição da secreção de pepsina (BIGUETTI; ANTONIO; CARVALHO, 2002). Constitui no fármaco de escolha no protocolo de indução de úlcera pelo etanol.

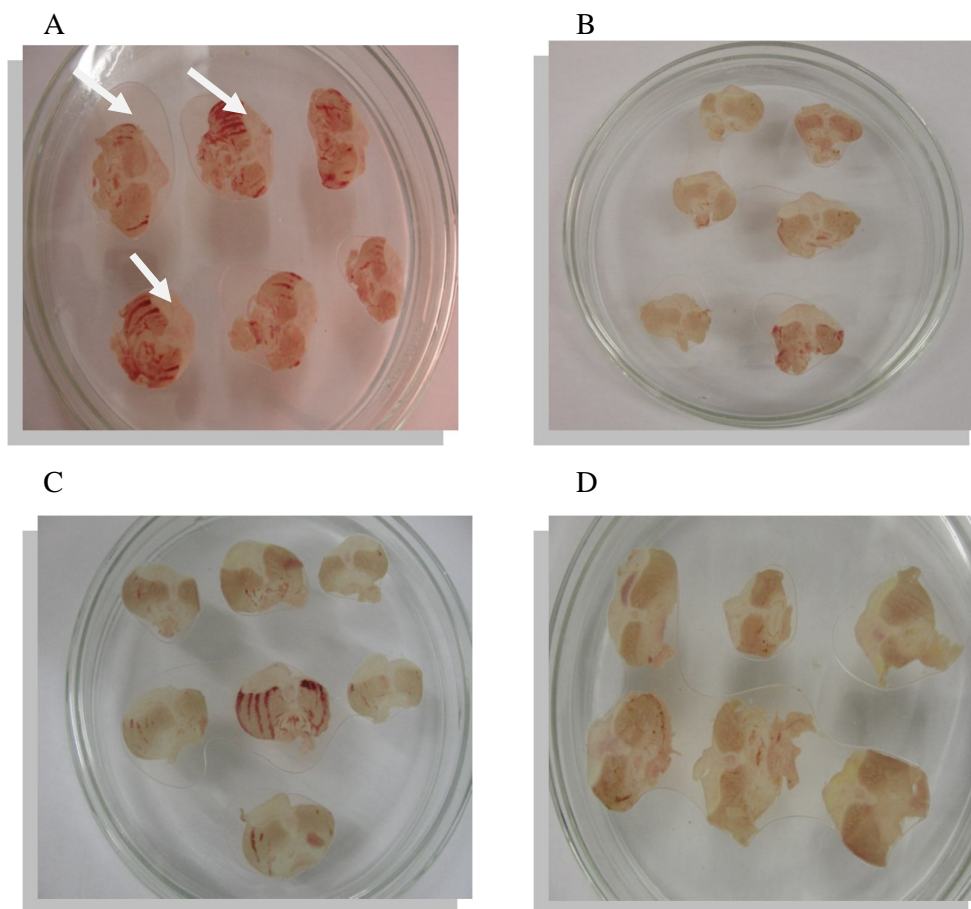
Danos na mucosa gástrica de animais induzido por altas concentrações de etanol tem sido amplamente utilizados para investigar efeito da gastroproteção de plantas medicinais (ZHU; LEW, LUK., 1997; AL-QARAWI et al., 2005).

Ilustração 01: Estrutura química da carbenoxolona. Fonte: BONAMIN, 2010.



A administração de etanol por via oral (96%, 0,2 mL/animal) aos camundongos tratados com salina (controle negativo) causaram danos graves à mucosa gástrica, produzindo claramente a zona característica esperada de lesões necrotizantes da mucosa, geralmente paralelas ao longo do eixo do corpo do estômago (SANTIN et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012) (**Ilustração 02**).

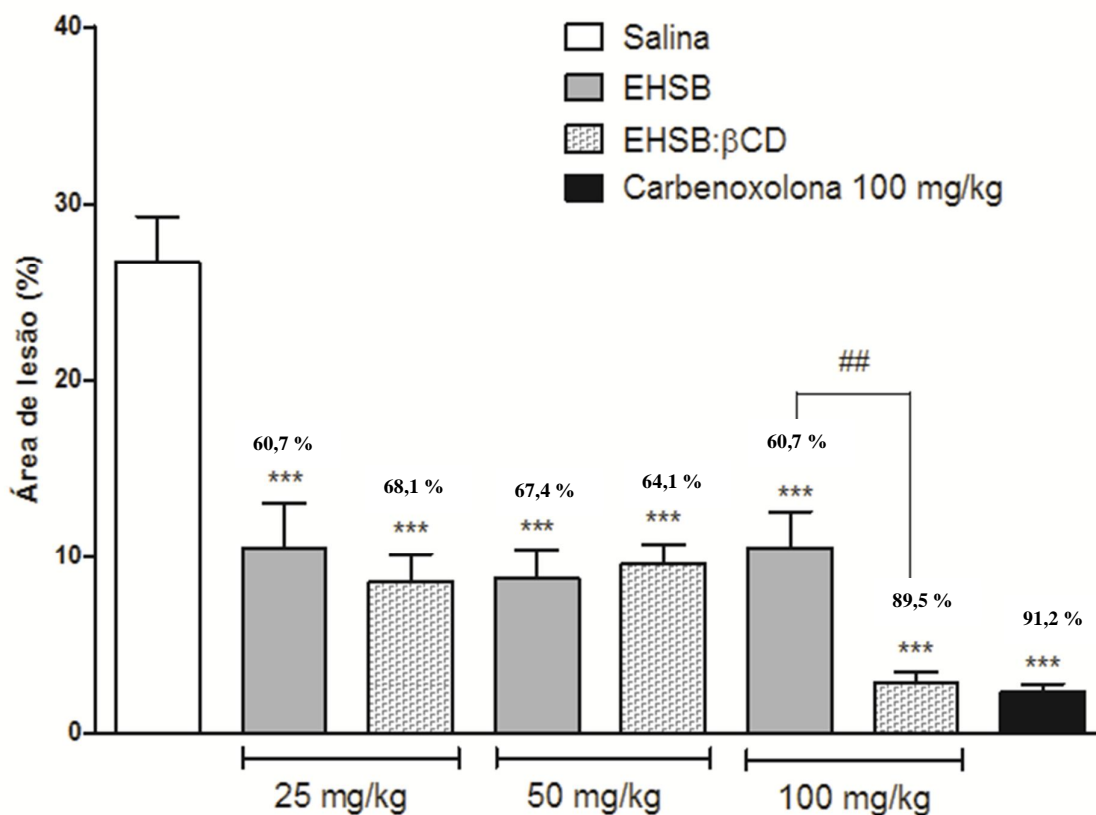
Ilustração 2: Área de lesão da mucosa gástrica dos estômagos: **A-** Salina: inúmeras lesões (estrias) **B-** EHSB (100 mg kg⁻¹): redução das lesões comparada ao controle (salina) **C-** EHSB: βCD (100mg kg⁻¹): redução das lesões comparada ao controle (salina) **D-** Carbenoxolona (100 mg kg⁻¹) - controle positivo.



O resultado da lesão corresponde à comparação da área da lesão, expressa em porcentagem em relação à área total do corpo gástrico, apresentando um resultado de área lesionada de 26,70 mm² no grupo controle (salina). Os grupos experimentais em que foi administrado extrato hexânico (EHSB) isoladamente apresentaram uma redução significativa na área da lesão gástrica, nas doses de 25 (10,50), 50 (8,72) e 100 (10,5), mg/kg (mm²), obtendo-se gastroproteção de 60,7%, 67,4% e 60,7%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle. O complexo do extrato hexânico das sementes do bacuri com a molécula de β-ciclodextrina (EHSB: βCD) apresentou também, redução significativa nas áreas lesionadas nas doses de 25 (8,53), 50 (9,59) e 100 (2,8), mg kg⁻¹ (mm²), obtendo-se gastroproteção de 68,1%, 64,1%, 89,5%, respectivamente, comparando-se ao grupo controle. Carbenoxolona (100 mg kg⁻¹), controle positivo, apresentou uma redução na lesão gástrica de 2,34 mm²,

promovendo 91,2% de inibição da lesão ulcerativa. Observa-se que a gastroproteção exercida pelo EHSB e pelo EHSB: β CD foi mantida nas três doses administradas, não sendo observadas diferenças significativas entre as substâncias e o controle negativo. Evidencia-se a gastroproteção do complexo de inclusão EHSB: β CD na dose de 100 mg kg⁻¹, que apresentou redução das lesões gástricas induzidas pela administração do etanol com diferença estatística comparativamente ao EHSB (100 mg kg⁻¹), e equivalente ao controle positivo (Ilustração 03).

Ilustração 03: Efeito do extrato hexânico das sementes do bacuri (EHSB), do complexo de inclusão do extrato hexânico da semente do bacuri com β -ciclodextrina (EHSB: β CD) nas doses de 25, 50 e 100 mg kg⁻¹ e da carbenoxolona (100 mg kg⁻¹), em lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em camundongos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M., ***p<0,001, comparados ao controle (ANOVA, seguida do teste de Tukey), ##p<0,01 comparando-se o EHSB com EHSB: β CD 100 mg kg⁻¹. Os números sobre as colunas indicam a porcentagem de inibição das lesões quando comparados ao controle (salina).



Estes resultados corroboram o efeito gastroprotetor do EHSB protegendo a mucosa gástrica de lesões, e de forma mais significativa, o complexo de inclusão deste extrato com a molécula de β -ciclodextrina (EHSB: β CD), uma vez que, no complexo de inclusão formado (proporção 3:7 do extrato hexânico: β CD), têm-se apenas 30% do extrato. Justificando-se a complexação na obtenção de melhores efeitos de um possível fitomedicamento obtido a partir do extrato das sementes de *Platonia insignis*.

Diversos estudos demonstram que a presença de terpenos e flavonóides apresenta atividade inibitória sobre a ulceração gástrica induzida por diferentes agentes (MATSUNAGA et al., 2000; SILVA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012; SANTIN et al., 2010; AMARAL et al., 2013). Barros et al., (2008), relata que os compostos fenólicos têm um efeito antiulcerogênico relacionado à atividade citoprotetora, podendo justificar, em parte, os resultados gastroprotetores aqui encontrados. De acordo com Costa Júnior (2011), classes de compostos como flavonóides e sesquiterpenos foram isolados da Família Clusiaceae e o extrato de *P. insignis* apresenta um elevado teor de flavonóides.

Efeito do extrato hexânico da semente do bacuri e do complexo de inclusão sobre as lesões gástricas induzidas por isquemia e reperfusão

Isquemia, seguida de reperfusão, é conhecida por induzir lesões gástricas predominantemente devido à formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), ativação de neutrófilos às células do endotélio, disfunção microvascular, secreção de ácido gástrico, histamina endógena e gastrina (ITOH; GUTH, 1985; YOSHIKAWA. et al., 1992; BRZOZOWSKI et al., 2000). O modelo de úlcera por isquemia e reperfusão (I/R) é utilizado para avaliar resposta de fármacos em um processo de ulcerogênese sem utilização de agentes químicos, patógenos ou estresse somático, como nos modelos de etanol, *H. pylori* e estresse por contenção e frio, isolando os fatores ulcerativos relacionados a radicais livres formados por processos inflamatórios e vasculares (CABEZA et al., 2001; ZIMMERMAN; GRANGER, 1994).

Sabe-se que a perfusão da mucosa gástrica é um fator essencial na capacidade da mucosa para se proteger contra lesões (CHEUNG, 1984) e que sua defesa é diminuída em condições isquêmicas, resultando em morte celular e danos à mucosa (RENE MENGUY, 1981; ANDREWS et. al., 1994; WADA et al, 1996). A isquemia por si só é capaz de provocar lesões no tecido gástrico; entretanto, é após a reperfusão que ocorre os principais eventos

lesivos. Após o restabelecimento do fluxo sanguíneo com a consequente reintrodução do oxigênio no tecido, paradoxalmente, as lesões são aumentadas em cerca de três vezes em relação às aquelas ocasionadas no período da isquemia (CAMPOS; YOSHIDA, 2004; KITANO et al., 2005).

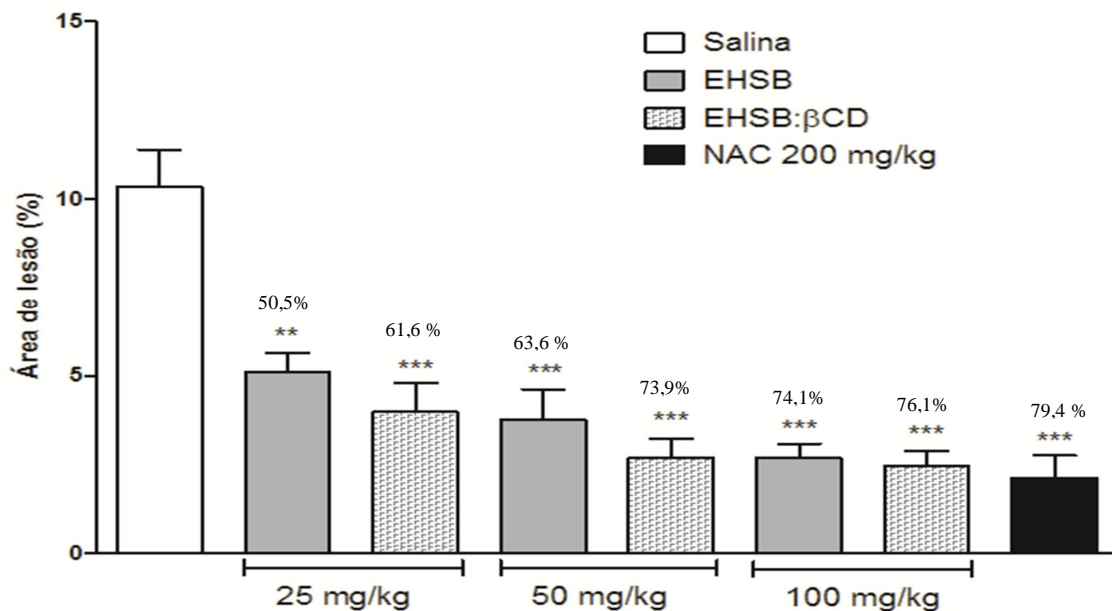
Dependendo do tempo de exposição à isquemia e hipóxia, as lesões teciduais podem ser reversíveis ou irreversíveis (CAMPOS; YOSHIDA, 2004). A falta de energia celular causa a falência da bomba de sódio/potássio (Na^+/K^+ -ATPase) e, devido à falência da bomba, pode haver maior acúmulo de Na^+ intracelular e perda de canais para fora da célula, com consequente edema celular. Acarretando também um aumento no nível de cálcio citosólico, levando a várias disfunções celulares, como a conversão de xantina desidrogenase à xantina oxidase (que necessita de oxigênio para realizar a conversão da hipoxantina em xantina), e a catabolização de ATP à hipoxantina. Assim, na fase de isquemia, ocorrerá acúmulo de hipoxantina e xantina oxidase (RIBEIRO; YOSHIDA, 2005; OLIVEIRA et al., 2012; PIMENTEL, 2006). Com a reperfusão, a hipoxantina é metabolizada pela xantina oxidase à xantina, e esta, em ácido úrico, tendo como subproduto dessa reação a formação de ânion superóxido (O_2^-). O radical superóxido promove a liberação do íon ferroso da ferritina, o qual reage com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formando radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$), que é altamente tóxico (DERIN et al., 2004; RIBEIRO; YOSHIDA, 2005). Outras fontes de geração de radicais livres no processo de IR são os neutrófilos que liberam O_2^- , através da enzima NADPH oxidase, além de proteases e colagenases (ANDREWS et al., 1994; NAITO et al., 1998; ERKASAP et al., 2003; DERIN et al., 2004).

O extrato (EHSB) e o complexo de inclusão (EHSB: β CD) diminuíram significativamente as lesões ocasionadas por IR, quando comparados com a salina, apresentando resultados estatisticamente semelhantes à *N*-acetilcisteína (NAC). O grupo salina apresentou lesão de 10,34 mm^2 . O EHSB apresentou redução nas lesões gástricas nas doses de 25 (5,12), 50 (3,76) e 100 (2,68) mg/kg (mm^2), apresentando gastroproteção de 50, 5%, 63,6% e 74,1%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo. Já o EHSB: β CD apresentou redução nas lesões nas doses de 25 (3,97), 50 (2,70) e 100 (2,47) mg/kg (mm^2), apresentando inibição nas lesões de 61,6%, 73,9% e 76,1%. O NAC reduziu as lesões para 2,13 (inibição de 79,4% (Ilustração 04)). Estes resultados demonstram que o EHSB, e em melhor proporção, o EHSB: β CD, apresentam excelente atividade gastroprotetora, com uma inibição semelhante estatisticamente ao controle positivo (NAC).

De acordo com os resultados obtidos, evidencia-se a importância da complexação na melhora das propriedades do extrato comparativamente à sua utilização isolada.

Primeiramente nas propriedades farmacêuticas, uma vez que a utilização de fármacos na forma complexada (pó) facilita a produção de possíveis fármacos, o que seria dificultado com a utilização do extrato (oleoso), sem contar no incremento nas características do fármaco, como diminuição de efeitos adversos, aumento da biodisponibilidade, vetorização do fármaco, proteção de mucosas. Em segundo lugar, quantidades bem inferiores do extrato após a complexação, apresentaram atividade farmacológica igual ou superior ao extrato isolado, como se pode perceber nos resultados apresentados, uma vez que a proporção de fármaco: ciclodextrina no complexo é de 3:7.

Ilustração 04: Efeito do extrato hexânico das sementes do bacuri (EHSB) e do complexo de inclusão do extrato hexânico com a β -ciclodextrina (EHSB: β CD) nas doses de 25, 50 e 100 mg kg⁻¹ e da N-acetilcisteína (200 mg kg⁻¹) em lesões gástricas induzidas por I/R em ratos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M., ***p<0,001, comparados à salina (ANOVA seguida do teste de Tukey). Os números sobre as colunas indicam a porcentagem de inibição das lesões quando comparados ao grupo salina.

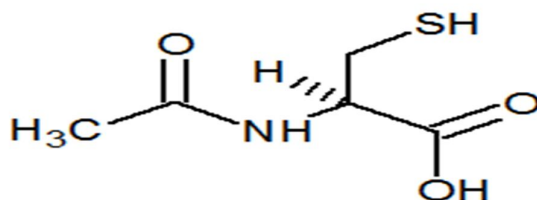


A utilização de compostos antioxidantes sequestradores de radicais livres têm mostrado benefícios em animais expostos a este processo (DERIN et al., 2004; NAITO et al., 1999; SAKURAI et al., 1994). O composto utilizado como referência, a N-acetilcisteína (Ilustração 05), é um derivado do aminoácido natural cisteína e age como precursor do agente redutor glutathiona, uma molécula endógena com papel crucial no mecanismo de defesa dos

agentes tóxicos, que tem demonstrado ser essencial no controle de várias condições patológicas onde está relacionado ao estresse oxidativo, de ação, portanto, antioxidante (ANVISA).

Com esse resultado, sugere-se que a proteção das lesões possa estar relacionada com atividade antioxidante do extrato do bacuri. Segundo COSTA JÚNIOR (2011), as sementes do bacuri possuem componentes químicos (provavelmente as xantonas e benzofenonas) com boa atividade antioxidante, semelhante às atividades catalisadas pela superóxido dismutase.

Ilustração 05: Estrutura química da *N*-acetilcisteína.

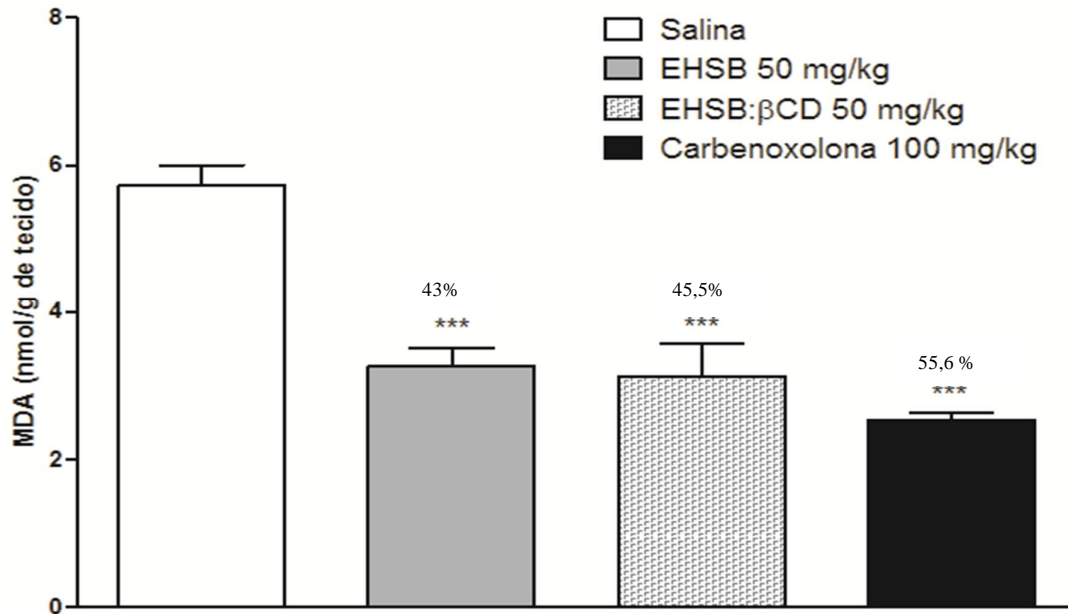


Dosagem do malonaldeído (MDA)

A peroxidação lipídica é uma das mais importantes expressões orgânicas ocasionadas pelo estresse oxidativo induzido pela reatividade dos radicais livres de oxigênio. O malonaldeído (MDA) representa um biomarcador do dano causado pelas Espécies reativas de oxigênio e Nitrogênio (EROs e ERNs), derivado da peroxidação lipídica das membranas celulares. No presente estudo, utilizou-se a metodologia de determinação do MDA em amostras biológicas através de sua reação com ácido tiobarbitúrico (TBA). Nesta reação, duas moléculas de TBA reagem estequiometricamente com uma molécula de MDA para formar um cromóforo róseo (VASCONCELOS et al., 2007; ELIAS, 2009).

Realizou-se a dosagem de MDA a partir do tecido (com úlceras) retirado dos estômagos utilizados no protocolo de indução de úlcera por etanol, apresentado anteriormente. Foi utilizado como controle positivo, o medicamento carbenoxolona (100 mg Kg⁻¹) (Ilustração 06).

Ilustração 06: Dosagem de MDA nos estômagos, com úlceras, utilizados no protocolo de indução de úlcera por etanol. Extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) 50 mg kg⁻¹, complexo do extrato hexânico da semente do bacuri com a ciclodextrina (EHSB: βCD) 50 mg kg⁻¹, controle positivo (carbenoxolona 100 mg kg⁻¹). Os números sobre as colunas indicam a porcentagem de diminuição da concentração de MDA quando comparados ao grupo salina.



Diante dos resultados, nota-se que houve redução dos níveis de malonaldeído nas áreas com úlcera, retiradas para análise. O EHSB apresentou uma diminuição nos níveis de malonaldeído em 43%; O EHSB: βCD em 45,50%, comparativamente ao controle positivo, 55,6%. Evidencia-se a importância de tal dosagem para justificar um suposto mecanismo de ação responsável pelos resultados obtidos pelo EHSB e EHSB: βCD na gastroproteção contra os danos causados pela administração do etanol, de acordo com o protocolo anteriormente realizado. Tais resultados correlacionam-se com os dados obtidos em estudo *in vitro* realizado (trabalho ainda não publicado), confirmando a atividade antioxidante do EHSB e EHSB: βCD através das metodologias de inibição da peroxidação lipídica na inibição de formação de TBARS e remoção do radical $\cdot\text{OH}$ e $\cdot\text{NO}$.

Embora a atividade do extrato hexânico da semente do bacuri tenha apresentado bons resultados, evidencia-se a importância da utilização de novos sistemas visando melhorias de incorporação de ativos nas formas farmacêuticas. A complexação com ciclodextrinas além de reforçar as aplicações farmacêuticas dos fármacos e aumentar a biodisponibilidade; no presente estudo, demonstrou atividade superior ao extrato isolado.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato hexânico da semente do bacuri tanto na sua forma isolada, como complexada à molécula de β -ciclodextrina, fornece subsídio para o desenvolvimento de possíveis fármacos com atividade gastroprotetora. Os resultados obtidos na dosagem do malonaldeído corroboram a hipótese de que a atividade gastroprotetora do EHSB e do EHSB: β CD deve estar relacionada à atividade antioxidante de tais compostos, comprovada no estudo *in vitro*.

REFERÊNCIAS

AL-QARAWI, A. A.; ABDEL-RAHMAN, H.; ALI, B. H.; MOUSA, H. M.; EL-MOUGY, S. A. The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 98, n. 3, p. 313-317, 2005.

AMARAL, G. P.; DE CARVALHO, N. R.; BARCELOS, R. P.; DOBRACHINSKI, F.; PORTELLA, R. D. L.; DA SILVA, M. H.; LUGOKENSKI, T. H.; DIAS, G. R. M.; DA LUZ, S. C. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; VILLETTI, M. A.; ANTUNES SOARES, F. A.; FACHINETTO, R. Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, n. 0, p. 48-55, 2013.

ANDRADE, S. F., ANTONIOLLI, D., COMUNELLO, E., CARDOSO, L. G. V., CARVALHO, J. C. T., BASTOS, J. K. Antiulcerogenic activity of crude extract, fractions and populnic acid isolated from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 61, n. 5/6, p. 329, 2006.

ANDREWS, F. J.; MALCONTENTI-WILSON, C.; O'BRIEN, P. E. Polymorphonuclear leukocyte infiltration into gastric mucosa after ischemia-reperfusion. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 266, n. 1, p. G48-G54, 1994.

ANVISA. Consulta de Produtos – Medicamentos. Disponível em: <http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos/frmConsultaMedicamentos.asp> Acesso em: 03 de jun. 2013.

ARRAIS, P. S. D., COELHO, H. L. L., BATISTA, M. C. D. S., CARVALHO, M. L., RIGHI, R. E., ARNAU, J. M. Perfil da automedicação no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 1, p. 71-77, 1997.

BAGCHI, D.; CARRYL, O. R.; TRAN, M. X.; KROHN, R. L.; BAGCHI, D. J.; GARG, A.; BAGCHI, M.; MITRA, S.; STOHS, S. J. Stress, diet and alcohol-induced oxidative gastro intestinal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate. **Journal of Applied Toxicology**, v. 18, n. 1, p. 3-13, 1998.

BARROS, M. P. D.; LEMOS, M.; MAISTRO, E. L.; LEITE, M. F.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. D. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 120, n. 3, p. 372-377, 2008.

BIGHETTI, A. E.; ANTONIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Regulação e modulação da secreção gástrica. **Revista de Ciências Médicas**, v. 11, n. 1, p. 55-60, 2002.

BIGHETTI, A. E., ANTÔNIO, M. A., KOHN, L. K., REHDER, V. L. G., FOGGIO, M. A., POSSENTI, A., VILELA, L., CARVALHO, J. E. Antiulcerogenic activity of a crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. **Phytomedicine**, v. 12, n. 1, p. 72-77, 2005.

BHARGAVA, K. P.; GUPTA, M. B.; TANGRI, K. K. Mechanism of ulcerogenic activity of indomethacin and oxyphenbutazone. **European Journal of Pharmacology**, v. 22, n. 2, p. 191-195, 1973.

BONACORSI, C.; RADDI, M. S. G.; CARLOS, I. Z.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W. Anti-*Helicobacter pylori* activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa* Nied.(Malpighiaceae). **BMC complementary and alternative medicine**, v. 9, n. 1, p. 2, 2009.

BONAMIN, F. **Atividade anti-ulcerogênica e avaliação dos mecanismos de ação antiulcerogênicos do β -mirceno**. 2010. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Departamento de Farmacologia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Fundação Oswaldo Cruz / Centro de Informação Científica e Tecnológica / Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas. **Estatística Anual de Casos de Intoxicação e Envenenamento**. Rio de Janeiro, Brasil, 2009.

BRZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK, S. J.; DROZDOWICZ, D.; KWIECIEŃ, S.; PAJDO, R.; BIELANSKI, W.; HAHN, E. G. Role of gastric acid secretion in progression of acute gastric erosions induced by ischemia-reperfusion into gastric ulcers. **European journal of pharmacology**, v. 398, n. 1, p. 147-158, 2000.

CABEZA, J.; MOTILVA, V.; MARTÍN, M. J.; ALARCON DE LA LASTRA, C. Mechanisms involved in gastric protection of melatonin against oxidant stress by ischemia-reperfusion in rats. **Life Sciences**, v. 68, n. 12, p. 1405-1415, 2001.

CAMPOS, E. B. P. D.; YOSHIDA, W. B. O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento. **J Vasc Br**, v. 3, n. 4, p. 357-66, 2004.

CHEN, X. Q., LI, Y. CHENG, X., WANG, K., HE, J., PAN, Z. H., LI, M. M., PENG, L. Y., XU, G., ZHAO, Q. S. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols and chromone O-

glucosides from *Hypericum henryi* subsp. *uraloides*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 1, p. 196-204, 2010.

CHEUNG, L. Y. Gastric mucosal blood flow: its measurement and importance in mucosal defense mechanisms. **Journal of Surgical Research**, v. 36, n. 3, p. 282-288, 1984.

CHOI, E.; HWANG, H.; KIM, I.; NAM, T. Protective effects of a polysaccharide from *Hizikia fusiformis* against ethanol toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 1, p. 134-139, 2009.

COSTA JÚNIOR, J. S. ; ALMEIDA, A. A. C. ; TOMÉ, A. R. ; CITÓ, A. M. G. L. ; SAFFI, J. ; FREITAS, R. M. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart. (Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 4, p. 678-684, 2011.

COSTA, P.J. **Estudo dos efeitos neurofarmacológicos e toxicológicos do fitol visando o planejamento de novos psicofármacos**. 2012. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Piauí, 2012.

DERIN N.; IZGUT-UYSAL V. N.; AGAC, A.; ALICIGUZEL, Y.; DEMIR, N. L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia-reperfusion induced lipid peroxidation. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 55, n. 3, p. 595-606, 2004.

ELIAS, D. B. D. ARAÚJO, E. S. **Avaliação dos níveis séricos de malonaldeído (MDA), óxido nítrico (NO) e lactato desidrogenase láctica (LDH) na anemia falciforme e suas correlações com o uso de hidroxiuréia**. 2009. 88 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2009.

ERKASAP, N.; UZUNER, K.; SERTESER, M.; KÖKEN, T.; AYDIN, Y. Gastroprotective effect of leptin on gastric mucosal injury induced by ischemia–reperfusion is related to gastric histamine content in rats. **Peptides**, v. 24, n. 8, p. 1181-1187, 2003.

FRANKE, A.; TEYSSEN, S.; SINGER, M. V. Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 23, n. 3-4, p. 204–213, 2005.

GOEL, R. K., SAIRAM, K. Antiulcer drugs from indigenous sources with emphasis on *Musa sapientum*, *Tamrabbhasna*, *Asparagus racemosus* and *Zingiber officinale*. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 34, p. 100–110, 2002.

GUSLANDI, M. Effects of ethanol on the gastric mucosa. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 5, n. 1, p. 21–32, 1987.

HAM, M.; KAUNITZ, J. Gastroduodenal defense. **Current Opinion Gastroenterol.** v. 23, n. 6, p. 607–616, 2007.

HIROKAWA, M.; MIURA, S.; YOSHIDA, H.; KUROSE, I.; SHIGEMATSU, T.; HOKARI, R.; HIGUCHI, H.; WATANABE, N.; YOKOYAMA, Y.; KIMURA, H. Oxidative stress and mitochondrial damage precedes gastric mucosal cell death induced by ethanol administration. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 22, n. 3, p. 111S-114S, 1998.

INEU, R. P.; PEREIRA, M. E.; ASCHNER, M.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Diphenyl diselenide reverses gastric lesions in rats: involvement of oxidative stress. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 9, p. 3023-3029, 2008.

ISHIKAWA, T.; DONATINI, R. D. S.; DIAZ, I. E. C.; YOSHIDA, M.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Mytaceae) leaves in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 118, n. 3, p. 527-529, 2008.

ITOH, M.; GUTH, P. H. Role of oxygen free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, n. 1, p. 1162-1167, 1985.

IWATA, F.; KOO, A.; ITOH, M.; LAM, K.; LEUNG, J. W.; LEUNG, F. W. Functional evidence linking potassium channels and afferent nerve-mediated mucosal protection in rat stomach. **Life Science**, v. 61, n. 17, p. 1713-1720, 1997.

JAINU, M., DEVI, C. S. S. Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: possible mechanism for the inhibition of acid formation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, n. 1, p. 156-163, 2006.

KAHARAMAN, A.; ERKASAP, N.; KOKEN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v. 183, n. 1, p. 133-142, 2003.

KITANO, M.; BERNSSAND, M.; KISHIMOTO, Y.; NORLÉN, P.; HÅKANSON, R.; HAENUKI, Y.; KUDO, M.; HASEGAWA, J. Ischemia of rat stomach mobilizes ECL cell histamine. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 288, n. 5, p. G1084-G1090, 2005.

KLEIN JR., L. C., GANDOLFI, R. B., SANTIN, J. R., LEMOS, M., CECHINEL FILHO, V., ANDRADE, S. F. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire & Moquin (Poligalaceae). **Naunym-Schmiedbergis Archives of Pharmacology**, v. 381, p. 121-126, 2010.

KO, J. K. S.; CHO, C., H.; LAM, S. K. Adaptive cytoprotection through modulation of nitric oxide in ethanol-evoked gastritis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 10, n. 17, p. 2503-2508, 2004.

LIMA, Z. P.; SEVERI, J. A.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A.; SOLIS, P. N.; CÁCERES, A.; GIRÓN, L. M.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Can the aqueous decoction of mango flowers be used as an antiulcer agent? **Journal of ethnopharmacology**, v. 106, n. 1, p. 29-37, 2006.

LIMA, M. M. O.; VIEIRA, L. F.; COSTA JÚNIOR, J. S. Avaliação da atividade antioxidante de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae). In: **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, João Pessoa, 2007.

LIU, Y.; TIAN, X.; GOU, L.; FU, X.; LI, S.; LAN, N.; YIN, X. Protective effect of l-citrulline against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 280-287, 2012.

LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e obtenção tecnológica de forma farmacêutica de uso tópico.** 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MATSUNAGA, T.; HASEGAWA, C.; KAWASUJI, T.; SUZUKI, H.; SAITO, H.; SAGIOKA, T.; TAKAHASHI, R.; TSUKAMOTO, H.; MORIKAWA, T.; AKIYAMA, T. Isolation of the antiulcer compound in essential oil from the leaves of *Cryptomeria japonica*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 23, n. 5, p. 595-598, 2000.

MEI, X.; XU, D.; XU, S.; ZHENG, Y.; XU, S. Novel role of Zn (II)-curcumin in enhancing cell proliferation and adjusting proinflammatory cytokine-mediated oxidative damage of ethanol-induced acute gastric ulcers. **Chemico-Biological Interactions**, v. 197, n. 1, p. 31-39, 2012.

MINCIS, M.; CHEBLI, J. M. F.; KHOURI, S. T.; MINCIS, R. Etanol e o trato gastrointestinal. **Archive of gastroenterology**, v. 32, n. 3, p. 131-139, 1995.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T.; MATSUYAAMA, K.; YAGI, N.; ARAI, M.; NAKAMURA, KANEKO, T.; YOSHIDA, N.; KONDO, M. Neutrophils, lipid peroxidation, and nitric oxide in gastric reperfusion injury in rats. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 24, n. 3, p. 494-502, 1998.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T.; MATSUYAMA, K.; YAGI, N.; KASAI, K.; SUGIMOTO, N.; MASUI, Y.; YOSHIDA, N.; KONDO, M. Effect of vitamin E in gastric mucosal injury induced by ischaemia-reperfusion in nitric oxide-depleted rats. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 13, n. 4, p. 553-560, 1999.

OLIVEIRA, I. S.; DA SILVA, F. V.; VIANA, A. F. S. C.; DOS SANTOS, M. R. V.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; MARIA DO CARMO, C. M.; NUNES, P. H. M.; OLIVEIRA, F. D. A.; DE CM OLIVEIRA, R. Gastroprotective activity of carvacrol on experimentally induced gastric lesions in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 385, n. 9, p. 899-908, 2012.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

PELLIZZON, C. H.; ROZZA, A. L. Essential oils from medicinal and aromatic plants: a review of the gastroprotective and ulcer-healing activities. **Fundamentals & clinical Pharmacology**. v. 27, n. 1, p. 51-63, 2012.

PICCINELLI, A. L.; CAMPONE, L.; DAL PIAZ, F.; CUESTA-RUBIO, O.; RASTRELLI, L. Fragmentation pathways of polycyclic polyisoprenylated benzophenones and degradation profile of nemorosone by multiple-stage tandem mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 20, n. 9, p. 1688-1698, 2009.

- PIMENTEL, F. O. **Atividade antioxidante de *Byrsonima crassa* Nied. e *Byrsonima fagifolia* Nied. em modelos de indução de úlcera gástrica.** 2006. 111 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Departamento de Farmacologia. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.
- PIRES, L. F.; DO NASCIMENTO, J. L.; MENDES, R. M. F.; PINHEIRO, R. G. Determinação dos níveis de malonaldeído e nitrito em indivíduos portadores de traço falciforme. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 1, p. 65-69, 2013.
- RIBEIRO, M. E.; YOSHIDAW, B. Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models. **Brasilian Vascular Journal**, v. 4, p. 183-194, 2005.
- RENE MENGUY, M. D. Role of gastric mucosal energy metabolism in the etiology of stress ulceration. **World Journal of Surgery**, v. 5, n. 2, p. 175-179, 1981.
- REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 5, p. 523-534, 2002.
- ROBERT, A.; NEZAMIS, J. E.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A. J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. **Gastroenterology**, v. 77, n. 3, p. 433-443, 1979.
- SAKURAI, T.; SUGAWARA, H.; SAITO, K.; KANO, Y. Effects of the acetylene compound from *Atractylodes* rhizome on experimental gastric ulcers induced by active oxygen species. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, n. 10, p. 1364-1368, 1994.
- SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN JÚNIOR, L. C.; NIERO, R.; ANDRADE, S. F. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 334-339, 2010.
- SANTOS JÚNIOR, R. Q.; SOARES, L. C.; MAIA-FILHO, A. L. M.; ARAÚJO, K. S.; SANTOS, I. M. S. P.; COSTA JÚNIOR, J. S.; SAFFI, J. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **Conscientiae Saúde**, v. 9, n. 4, p. 575-581, 2010.
- SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. 1, 8-cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 46, n. 2, p. 331-337, 2001.
- DA SILVA, L. M.; ALLEMAND, A.; MENDES, D. A. G. B.; DOS SANTOS, A. C.; ANDRÉ, E.; DE SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; DARTORA, N.; MARQUES, M. C. A.; BAGGIO, C. H.; WERNER, M. F. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, n. 0, p. 179-187, 2013.
- SILVA, M. I. G.; MOURA, B. A.; DE AQUINO NETO, M. R.; DA ROCHA TOMÉ, A.; ROCHA, N. F. M.; DE CARVALHO, A. M. R.; MACÊDO, D. S.; VASCONCELOS, S. M. M.; DE SOUSA, D. P.; DE BARROS VIANA, G. S. Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 380, n. 3, p. 233-245, 2009.

SILVA BENTES, M. H.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.; GODOY, R. L. O.; SILVA CABRAL, J. A.; SOARES MAIA, J. G. Estudo químico das sementes de bacuri. **Acta Amazônica**, v. 16, p. 363-368, 1986.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. D. M.; BRANDÃO, M. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TAPIERO, H. Influence of alcohol consumption and smoking habits on human health. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 58, n. 2, p. 75-76, 2004.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive diseases and sciences**, v. 50, n. 1, p. S24-S33, 2005.

UEDA, S.; OKADA, Y. Acid secretagogues induce Ca^{++} mobilization coupled to K^{+} conductance activation in rat parietal cells in tissue culture. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1012, n. 3, p. 254-260, 1989.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; BENFATO, M. S.; MANFREDINI, V.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

WADA, K.; KAMISAKI, Y.; KITANO, M.; KISHIMOTO, Y.; NAKAMOTO, K.; ITOH, T. A new gastric ulcer model induced by ischemia-reperfusion in the rat: role of leukocytes on ulceration in rat stomach. **Life Science**, v. 59, n. 19, p. PL295-PL301, 1996.

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

WANG, Y.; SU, W.; ZHANG, C.; XUE, C.; CHANG, Y.; WU, X.; TANG, Q.; WANG, J. Protective effect of sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan against ethanol-induced gastric damage. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1414-1419, 2012.

YEOMANS, N. D.; NAESDAL, J. Systematic review: ulcer definition in NSAID ulcer prevention trials. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 27, n. 6, p. 465-472, 2008.

YOSHIKAWA, T.; NAITO, Y.; UEDA, S.; ICHIKAWA, H.; TAKAHASHI, S.; YASUDA, M.; KONDO, M. Ischemia-reperfusion injury and free radical involvement in gastric mucosal disorders. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 316, p. 231-238, 1992.

ZHU, M.; LEW, T. H.; LUK, C. T. Gastric protective effect of *Lentinus edodes* against ethanol-induced ulceration. **Fitoterapia**, v. 68, p. 537-542, 1997.

ZIMMERMAN B. J.; GRANGER D. N. Oxygen free radicals and the gastrointestinal tract: role in ischemia-reperfusion injury. **Hepato-Gastroenterology**, v. 41, n. 4, p. 337-342, 1994.

CAPÍTULO III: Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato hexânico da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de seu complexo de inclusão com β -ciclodextrina

Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato hexânico da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de seu complexo de inclusão com β -ciclodextrina

NASCIMENTO, J. L.¹; BARROS, Y. S. O.¹; ARCANJO, D. D. R.¹; SILVA, O. A.¹; FREITAS; R. M.¹; ROCHA, M. S.¹; COSTA JÚNIOR, J. S.²; OLIVEIRA, I. S.; OLIVEIRA¹; J. M. DAVID³; R. C. M.¹; CITÓ, A. M. G. L.¹

¹Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil.

²Instituto Federal do Piauí (IFPI), Teresina, Piauí, Brasil.

³Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

RESUMO

Neste estudo, foram avaliados os efeitos antioxidantes do extrato hexânico das sementes do bacuri (EHSB) e do complexo de inclusão formado entre o extrato hexânico e a molécula de β -ciclodextrina (EHSB: β CD) em testes *in vitro* (ensaio de inibição da formação de TBARS e remoção dos radicais hidroxila e óxido nítrico). Os resultados obtidos demonstraram que tanto o EHSB quanto o complexo de inclusão formado foram capazes de prevenir a peroxidação lipídica, reduzindo a formação de TBARS; como também diminuíram significativamente a formação dos radicais hidroxila e óxido nítrico; sugerindo o grande potencial antioxidante destas substâncias por meio das metodologias utilizadas.

PALAVRAS-CHAVE: antioxidante, *in vitro*, *P. insignis*, radicais livres.

ABSTRACT

In vitro tests (inhibition assay TBARS formation and removal of hydroxyl radicals and nitric oxide), antioxidant effects of bacuri seed extract hexane (EHSB) and inclusion complex formed between the molecule and the hexane extract of β -cyclodextrin (β CD EHSB) were evaluated. The results showed that both EHSB and inclusion complex were able to prevent lipid peroxidation, reducing TBARS formation. They also showed a significant decrease in the formation of hydroxyl radicals and nitric oxide, suggesting the great potential of these antioxidant substances by the methodologies used.

KEYWORDS: antioxidant, *in vitro*, *P. insignis*, free radicals.

INTRODUÇÃO

Oxidação, perda de um ou mais elétrons para outra substância, é um dos procedimentos químicos essenciais para a sobrevivência das células, fornecendo energia para os organismos vivos em vários processos metabólicos, tais como a produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e a sinalização intercelular (BOKHARI et al., 2012; SILVA et al., 2012; ALVES et al., 2010; SILVA et al., 2012). O efeito colateral dessa dependência é a produção de radicais livres e outras Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (ALVES et al., 2010), que podem ser gerados por células vivas, como resultado de processos fisiopatológicos e bioquímicos; bem como devido a poluentes ambientais, radiação, produtos químicos, toxinas, alimentos fritos e apimentados e estresse físico (AGRAWAL; KULKARNI; SHARMA, 2011). O estresse oxidativo é resultante de um desequilíbrio entre a formação de antioxidantes e de radicais livres produzidos pelo organismo, que buscam estabilidade através de emparelhamento do elétron com macromoléculas biológicas tais como proteínas, lípidos e DNA; ocasionando danos ao DNA e proteínas, juntamente com a peroxidação de lípidos em células humanas de indivíduos saudáveis. Eventualmente, estas mudanças levam ao surgimento de diversas doenças crônicas, como diabetes mellitus, câncer, aterosclerose, inflamação, envelhecimento precoce, Alzheimer e Parkinson (BOKHARI et al., 2012; ALVES et al., 2010; AGRAWAL; KULKARNI; SHARMA, 2011; NAGMOTI et al., 2012; BAGHIANI et al., 2011; SASIKUMAR et al., 2012).

O corpo humano tem desenvolvido muitos mecanismos tanto enzimático quanto não enzimático para eliminar as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), no entanto, para combater o estresse oxidativo em condições severas, atenção considerável já foi concentrada no isolamento, caracterização e utilização de agentes antioxidantes naturais na prevenção de doenças (BOKHARI et al., 2012). Ao longo das últimas décadas, há um interesse crescente em estudos epidemiológicos indicando o papel do consumo de frutas e verduras como antioxidantes na prevenção de doenças degenerativas crônicas. Esses efeitos protetores dos frutos estão, sobretudo, relacionados com os componentes antioxidantes, ou seja, as vitaminas, flavonóides e os carotenóides. Assim, compostos principalmente de fontes naturais capazes de proteger contra danos mediados por EROs têm potencial aplicação na prevenção e/ou cura de doenças (NAGMOTI et al., 2012; SASIKUMAR et al., 2012; AGRAWAL; KULKARNI; SHARMA, 2011), possuindo certas vantagens, como poucos efeitos colaterais e baixa toxicidade quando comparados a outros antioxidantes sintéticos (SILVA et al., 2012).

As plantas produzem uma grande variedade de antioxidantes que agem contra o dano celular através da remoção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs). Devido à grande variedade da flora medicinal, especialmente a biodiversidade brasileira, muitos estudos estão sendo produzidos sobre a atividade antioxidante exercida pelos compostos naturais em sistemas biológicos (SILVA et al., 2012; AGRA et al., 2008).

Platonia insignis Mart., mais conhecida como bacurizeiro, espécie frutífera da família Clusiaceae, é uma planta arbórea tipicamente de clima tropical, cujas áreas de ocorrência abrangem os Estados do Pará, Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso, alcançando também o Paraguai (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987; SOUZA et al., 2001). Apresenta um fruto com polpa rica em constituintes químicos com propriedades antioxidantes como, a vitamina C (ácido ascórbico) e E (tocoferóis) e o óleo extraído das sementes rico em ácidos graxos insaturados (oléico e linoléico), diterpenos, e benzofenonas preniladas, como a Garcinialiptona, utilizada como substância marcadora no presente estudo (LUSTOSA, 2012; COSTA JUNIOR et al., 2011a, COSTA JUNIOR et al., 2011b. A complexação de substâncias com moléculas de ciclodextrinas, especialmente as lipofílicas, tende a promover inúmeras vantagens em possíveis fármacos, pelo incremento de solubilidade, diminuição de interações com alimentos e outros fármacos, efeitos adversos e aumento da biodisponibilidade (OLIVEIRA, SANTOS, COELHO, 2009; ROCHA, 2012).

Diante de tais considerações, e da relevância na utilização de metodologias que proporcionam a melhora da biodisponibilidade dos fármacos, o objetivo do estudo foi avaliar a capacidade antioxidante in vitro do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) e do complexo de inclusão formado entre o extrato hexânico e a molécula de β -ciclodextrina (EHSB: β CD) em diferentes metodologias.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O material botânico, semente do bacuri, foi obtido na Central de Abastecimento do Piauí - CEAPI, localizada em Teresina, Piauí - Brasil (latitude -05° 05' 21" e longitude -42° 48' 07") no período de março de 2012, e a exsicata foi depositada no Herbário Graziella Barroso da Universidade Federal do Piauí, Brasil, (Nº: ICNTEPB27164).

Extração das sementes de *Platonia insignis* Mart.

As sementes dos frutos foram extraídas e secas a temperatura de 55 °C e moídas em moinho. Duzentos e vinte e nove gramas (229 g) do pó seco foram extraídos com hexano (Tédia) em Soxhlet durante 8 horas. O extrato foi concentrado a vácuo em rotaevaporador, com rendimento total de 42,98%.

Doseamento da Garcinialiptona (GFC) por UV-Vis

Para padronização do teor de GFC no extrato hexânico, utilizou-se a curva analítica de Garcinialiptona (GFC), substância marcadora. Inicialmente foi realizado o espectro de varredura da substância padrão, GFC isolada, dissolvendo-a em metanol, na faixa de 200 a 400 nm, em células de quartzo com percurso ótico de 1 cm, volume equivalente a 4 mL a temperatura ambiente, para a determinação do (λ máx). Comparou-se com o espectro de varredura do extrato hexânico, obtendo-se em ambas, um comprimento de onda aproximado de (λ máx) 280 nm, comprovando-se a presença da substância garcinialiptona no EHSB (Fig. 01). Para realização da curva analítica de GFC, foi preparada uma solução estoque da substância de referência garcinialiptona na concentração de 0,2 g L⁻¹ em metanol a partir da qual foi realizada uma série de diluições para obtenção das concentrações de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 e 5 mg L⁻¹, para as quais fez-se as leituras das medidas de absorvância. Utilizou-se metanol como branco. O gráfico gerado quando foram plotadas as medidas de absorvâncias versus concentrações, por regressão linear apresentou a equação $A = 0,0214C + 0,1385$, onde A é a absorvância em 280 nm e C a concentração. O coeficiente de correlação linear $R = 0,9999$ (Fig. 02).

O teor de GFC no extrato foi determinado por interpolação direta da absorvância da amostra na curva padrão utilizando-se como referência a substância GFC. As análises foram realizadas em triplicata, em espectrofotômetro Varian Cary 300 de duplo feixe na região do ultravioleta visível (UV-Vis) em 280 nm.

Figura 01: Espectro de absorção da substância marcadora, Garcinialiptona.

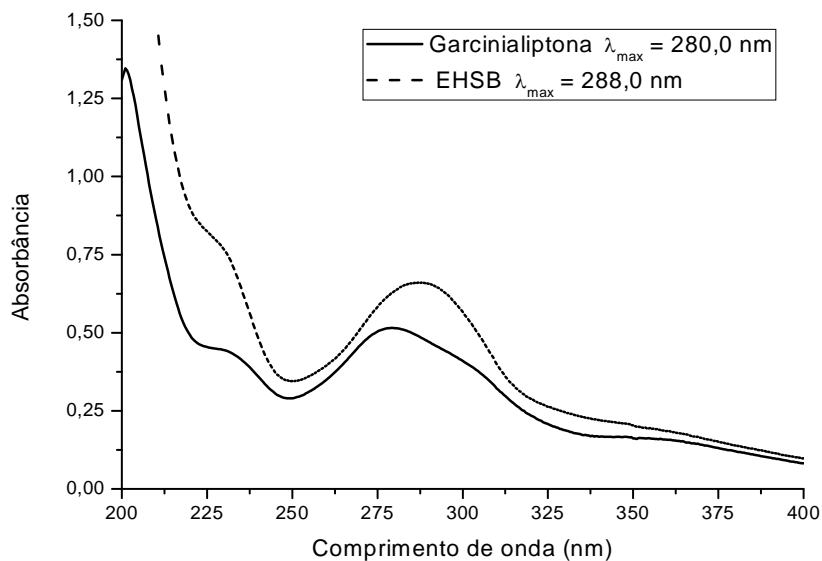
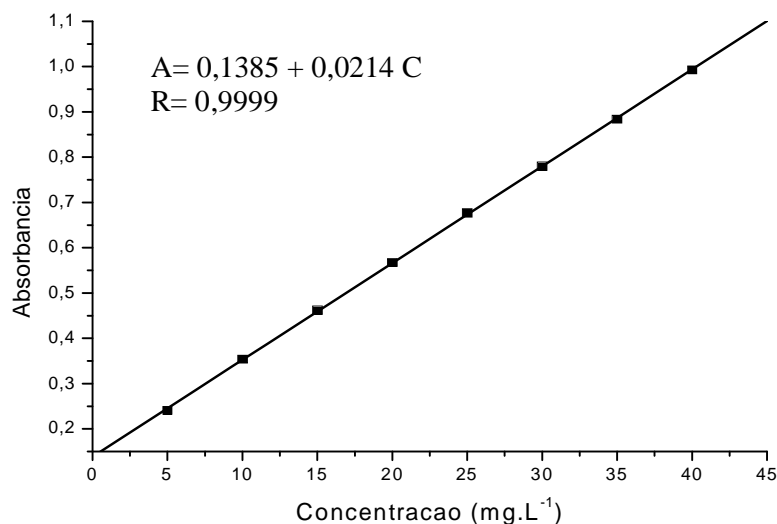


Figura 02: Curva analítica padrão com a substância de referência Garcinialiptona.



Formação do complexo de inclusão EHSB: β CD

O complexo de inclusão entre o extrato hexânico e β -CD foi preparado por solubilização seguido por pulverização a seco no aparelho de spray-drying, de acordo com o método descrito por COELHO (2001), com algumas modificações. A proporção realizada na preparação do complexo de inclusão foi 3:7 de extrato: β -CD m/m em grama. Para preparar o

complexo de inclusão, a massa referente ao extrato (3 g) foi solubilizado em 20 mL de etanol PA, sob aquecimento e agitação contínua. A massa referente à molécula de β -CD (7 g) foi solubilizada em 250 mL de uma mistura etanol: água (1:4), sob aquecimento e agitação. Misturaram-se as duas soluções, que permaneceram sob agitação e aquecimento de 70 °C durante 35 a 40 minutos. Injetou-se a solução no aparelho spray- dryer de bancada, B-290 BUCHI; com uma pressão de entrada de 0,9 Bar, com um fluxo da amostra de 7 mL min⁻¹, temperatura de entrada de 105 °C, temperatura de saída 62 °C e temperatura da amostra de 60 °C.

Avaliação do potencial antioxidante in vitro do EHSB e do complexo EHSB: β CD contra a peroxidação lipídica (inibição da formação de TBARS)

Utilizou-se a metodologia da determinação das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico formando TBARS. Foi avaliado o potencial antioxidante do extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) e seu complexo de inclusão com a ciclodextrina (EHSB: β CD) contra a peroxidação lipídica num meio rico em lipídios. Tal método usou o homogenato da gema de ovo (1% p/v) em 50 mM de tampão fosfato (pH 7,4) como substrato rico em lipídios. Uma alíquota de 0,5 mL do substrato foi sonicado e então homogeneizado com 0,1 mL do EHSB e do EHSB: β CD, em diferentes concentrações (0,9 – 1,8 – 3,6 – 5,4 – 7,2 μ g mL⁻¹). A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1 mL de solução de AAPH (dihidrocloridrato de 2,2'-azobis 2-metilpropinamida 0,12 M). No controle foi testado apenas o veículo (Tween 80 0,05% dissolvido em salina 0,9%). As reações foram realizadas durante 30 minutos a 37° C (ROSA et al., 2011).

As amostras (0,5 mL) foram centrifugadas com 0,5 mL de ácido tricloroacético (15%) a 1200 rpm por 10 minutos, após o resfriamento. Uma alíquota de 0,5 mL do sobrenadante foi misturada com 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico (0,67%) e aquecida a 95° C por 30 minutos. Após resfriamento, a absorbância das amostras foi medida usando um espectrofotômetro a 532 nm. Os resultados foram expressos como percentagem de TBARS formada a partir do AAPH apenas (controle induzido). Foi utilizado como droga-padrão o Trolox.

Avaliação dos efeitos in vitro do EHSB e do EHSB: β CD na remoção do radical hidroxila (\bullet OH)

A formação de $\bullet\text{OH}$ (radical hidroxila) na reação de Fenton foi quantificada utilizando a degradação oxidativa de 2- desoxirribose (ZARENA; UDAYA SANKAR, 2009). O princípio do teste é a quantificação do produto de degradação de 2-desoxirribose, malonaldeído (MDA), pela sua condensação com ácido 2- tiobarbitúrico (TBA). A reação foi iniciada pela adição de Fe^{2+} (FeSO_4 6 mM) à solução contendo 5 mM de 2-desoxirribose, 100 mM de H_2O_2 e 20 mM de tampão fosfato (pH 7,4). Para medir a atividade antioxidante do EHSB e do EHSB: βCD na remoção do radical hidroxila, diferentes concentrações do EHSB e do EHSB: βCD (0,9 – 1,8 – 3,6 – 5,4 – 7,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram adicionadas ao sistema antes da adição de Fe^{2+} . As reações foram realizadas durante 15 minutos em temperatura ambiente, e foram estacionadas pela adição de ácido fosfórico a 4% (v/v) seguido por 1% de TBA (w/v, em 50 mM NaOH).

As soluções foram submetidas a aquecimento por 15 minutos a 95°C , e então resfriados em temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 532 nm e os resultados foram expressos como equivalentes de MDA formados pelo Fe^{2+} e H_2O_2 .

Avaliação dos efeitos in vitro do EHSB e do EHSB: βCD na remoção do radical nítrico ($\text{NO}_2\bullet$)

Radicais de óxido nítrico foram gerados a partir de solução de nitroprussiato de sódio (NPS) em 20 mM de tampão fosfato (pH 7,4). Por sua vez, o NO interage com o oxigênio para produzir radicais nitritos, os quais foram medidos pela reação de Griess (FENG et al., 2013).

A mistura da reação (1 mL) contendo 10 mM de NPS em padrão fosfato e EHSB e do do EHSB: βCD nas diferentes concentrações (0,9 – 1,8 – 3,6 – 5,4 – 7,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi incubada a 37°C por 1h. Uma alíquota de 0,5 mL foi retirada e homogeneizada com 0,5 mL do reagente de Griess. A absorbância do cromóforo foi medida a 540 nm. O percentual de inibição da produção de $\text{NO}_2\bullet$ foi determinado por comparação dos valores de absorbância do controle negativo (apenas NPS 10 mM e veículo) e as preparações da substância utilizada no teste. Os resultados foram expressos como percentagem de radical nítrico formado pelo meio reacional.

Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (SEM) e a significância estatística foi determinada pela análise de variância (ANOVA), seguida de t-Student-Neuman-Keuls como *post hoc test*. Os valores foram considerados estatisticamente significativos a $p < 0,001$. A porcentagem de inibição foi determinada a partir da seguinte fórmula: % de inibição = $100 \times (\text{controle} - \text{experimental} / \text{controle})$.

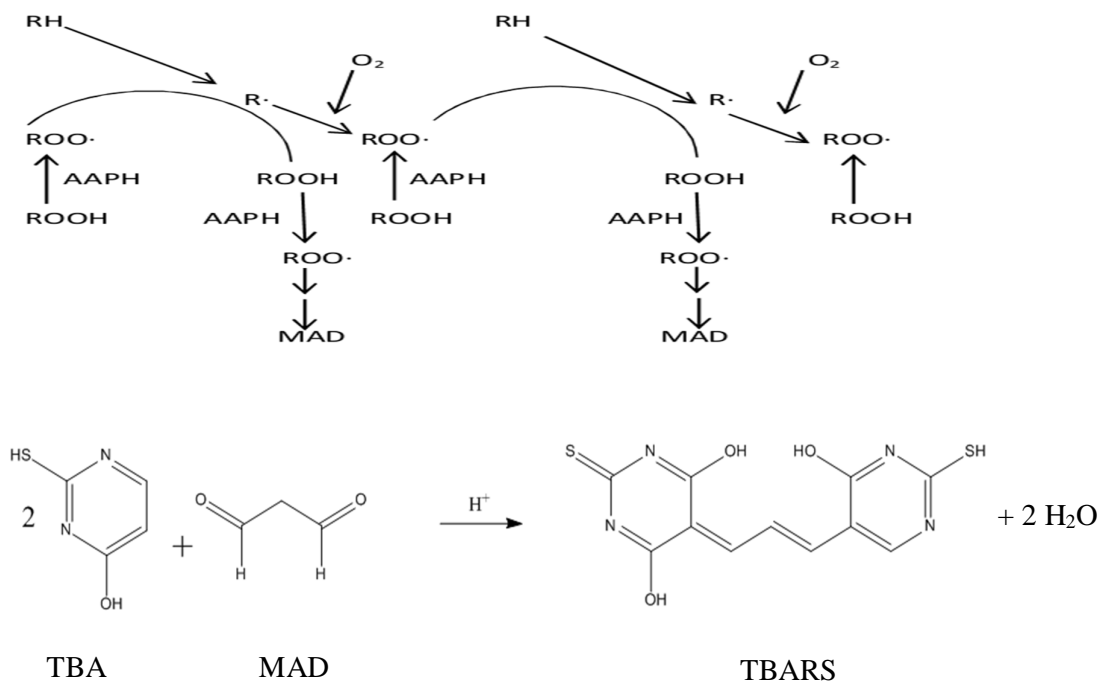
RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antioxidante do extrato hexânico da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e do complexo de inclusão do extrato hexânico e a ciclodextrina pode ser justificada pela presença de substâncias com esta atividade nas suas sementes. Investigações sobre a composição química das plantas da família Clusiaceae mostraram que estas são ricas em xantonas, benzofenonas poliisopreniladas, flavonóides, ácidos fenólicos e lactonas, (ROBERTS, 1961; GOTTLIEB; STEFANI, 1970; FERREIRA; GOTTLIEB; MESQUITA, 1972; MONACHE et al., 1988; GUSTAFSON et al., 1992; CUESTA-RUBIO et al., 2002; MENNINI; GOBBI, 2004; BAGGETT et al., 2005; PICCINELLI et al., 2009; CHEN et al., 2010), substâncias naturais que despertam grande interesse devido às atividades farmacológicas que apresentam. Xantonas têm sido relatadas por inibir a peroxidação de lipídios (atividade antioxidante), propriedades neuroprotetoras, e também por inibir a síntese de prostaglandina E2, e a protease do HIV 1 (ZARENA; UDAYA SANKAR, 2009).

A atividade antioxidante no presente estudo foi analisada pela metodologia de inibição da produção de TBARS, utilizada para quantificar a peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica é definida como os danos biológicos causados por radicais livres, que são formados sob stress oxidativo (SILVA et al., 2012). A atividade antioxidante de fontes naturais é devida aos compostos ativos presentes nas plantas. De acordo com Pratt e Hudson (1992), os antioxidantes naturais podem ser encontrados em madeira, casca, caule, folhas, frutos, raízes, flores e sementes. A maioria destes compostos são, normalmente, compostos fenólicos ou polifenólicos na natureza, por exemplo, tocoferóis, flavonóides e derivados de ácido cinâmico, ácidos orgânicos fosfatídicos e outros (HUANG; OU; PRIOR, 2005). O AAPH, composto azo hidrossolúvel, é usado como gerador de radicais livres, como por exemplo,

peroxila. A formação de TBARS ocorre da reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com produtos da decomposição dos hidroperóxidos, de ácidos graxos insaturados, o malonaldeído, quando se utiliza um gerador de radicais livres como o AAPH (ANTOLOVICH et al., 2002) (Fig. 03).

Figura 03: Formação do TBARS a partir do malonaldeído (Adaptado de ARAÚJO, 1999; ANTOLOVICH et al., 2002).



O extrato hexânico da semente do bacuri e seu complexo de inclusão com a β -ciclodextrina em todas as concentrações testadas, foram capazes de inibir a peroxidação lipídica reduzindo a quantidade de TBARS formado. As concentrações utilizadas de EHSB e EHSB: β CD (0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) reduziram a produção de TBARS em (83,50%; 85,99%; 86,29%; 86,58%; 87,38%) e (86,5%; 86,63%; 86,65%; 86,83%; 88,84%), respectivamente. Comparativamente ao controle positivo utilizado, o Trolox, análogo sintético do α -tocoferol, produziu uma inibição de 44,64% na produção de TBARS na concentração de 140 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figuras 04 e 05).

Figura 04. Efeitos do **EHSB** contra a produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico. O trolox 0,45 nM foi usado como padrão antioxidante. Os valores representam a média \pm E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. ^ap<0,001 versus AAPH em relação ao meio AAPH (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus AAPH em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).

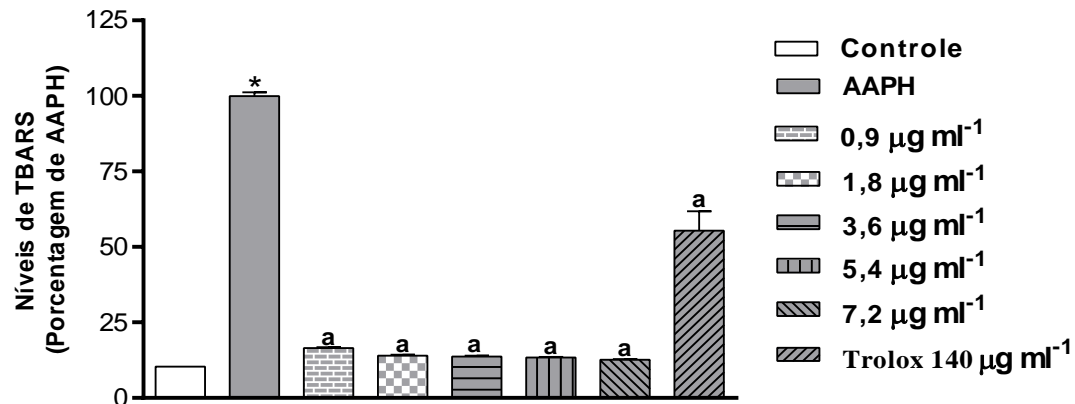
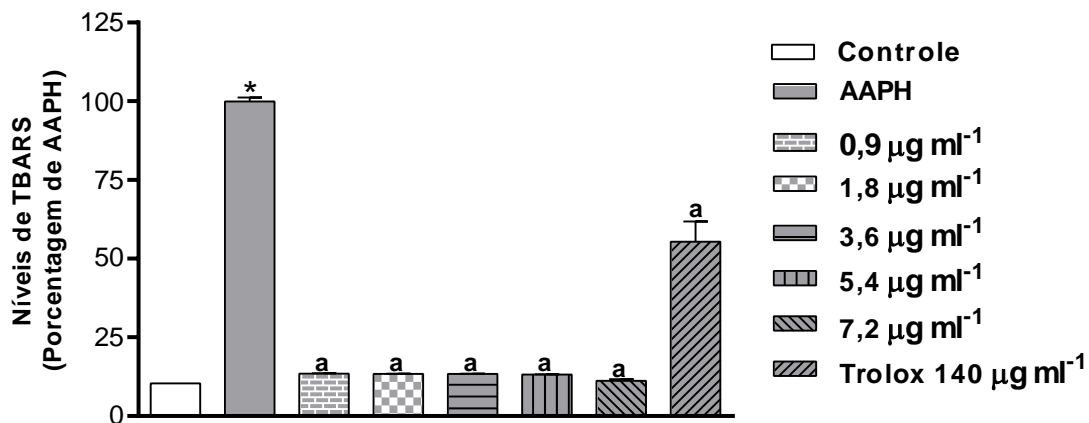


Figura 05. Efeitos do **EHSB: β CD** contra a produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico. O trolox 0,45nM foi usado como padrão antioxidante. Os valores representam a média \pm E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. ^ap<0,001 versus AAPH em relação ao meio AAPH (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus AAPH em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).

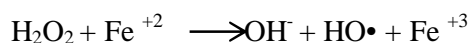
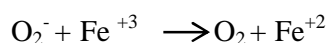


Outra metodologia utilizada para avaliar a capacidade antioxidante do EHSB e do EHSB: β CD foi a avaliação da capacidade de remoção de radicais hidroxila. Os radicais hidroxilas são gerados sob condições fisiológicas e patológicas e mantêm a homeostase a nível celular em

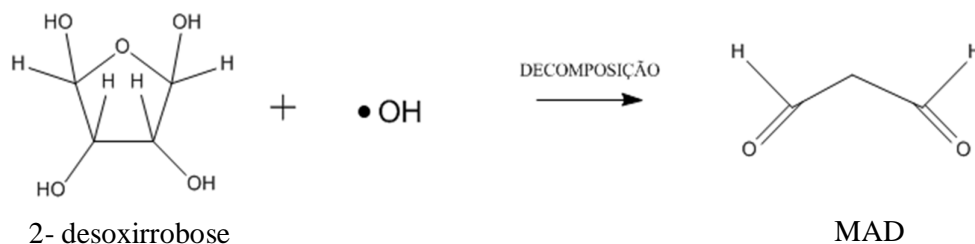
tecidos normais e saudáveis, estando intimamente ligados a vários modelos de patologia, supostamente implicando estresse oxidativo (CHENG; JEN; TSAI, 2002; OGUNRO et al., 2013). O radical hidroxila é gerado pela reação de Fenton. Na presença do radical hidroxila, a 2-desoxirribose é degradada à malonaldeído, posteriormente sendo quantificado, cujo processo reacional está descrito abaixo (Fig. 06) (HUANG; OU; PRIOR, 2005; PAYÁ, HALLIWELL, HOULT, 1992; SERAFINI et al., 2011).

Figura 06: Processo reacional de quantificação do malonaldeído (MDA) (CHENG; JEN; TSAI, 2002; SILVA et al., 2012):

I. Reação de Fenton:



II. Reação de degradação da 2-desoxirribose produzindo malonaldeído (MAD):



III. Por último, o MAD reage com o ácido tiobarbitúrico, formando também TBARS, como ilustrado na Fig. 03.

O extrato hexânico da semente do bacuri e seu complexo de inclusão com a β-ciclodextrina, em todas as concentrações testadas, foram capazes de inibir a produção do radical hidroxila. As concentrações utilizadas de EHSB e EHSB: βCD (0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 μg/mL) reduziram a produção de hidroxila em (68,69%; 70,97%; 72,35%; 74,62%; 76,02%) e (75,38%; 77,09%; 78,78%; 80,64%; 83,00%), respectivamente. Comparativamente ao controle positivo utilizado, o Trolox produziu uma inibição de 78,06% na remoção do radical hidroxila (Figuras 07 e 08).

Figura 07. Efeitos do **EHSB** na remoção de radical hidroxila. Os valores representam a média ± E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. O trolox foi usado como padrão antioxidante. ^ap<0,001 versus controle em relação ao sistema (meio reacional) (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus sistema em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).

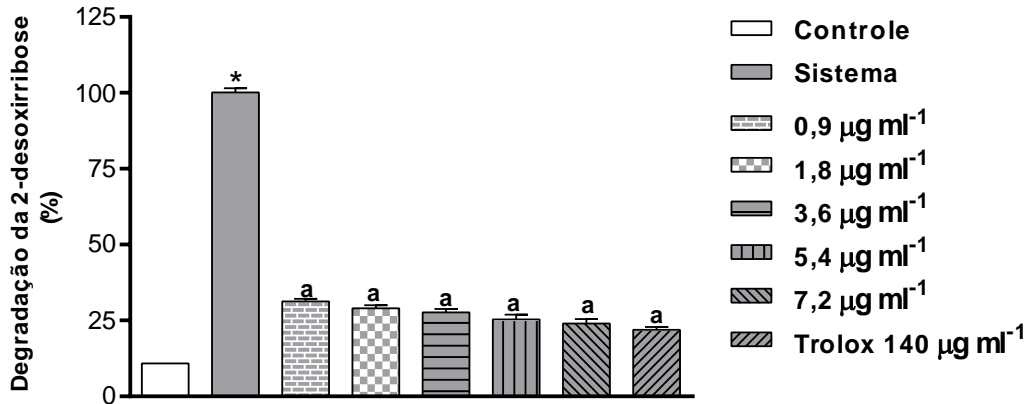
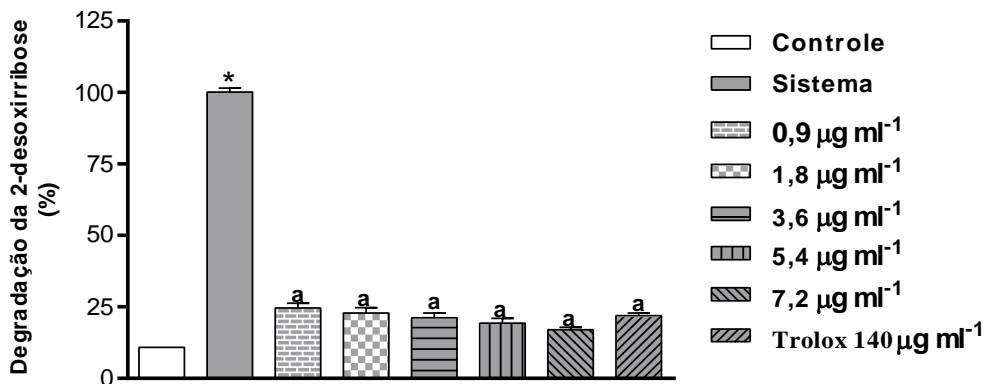


Figura 08. Efeitos do **EHSB: βCD** na remoção de radical hidroxila. Os valores representam a média ± E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. O trolox foi usado como padrão antioxidante. ^ap<0,001 versus controle em relação ao sistema (meio reacional) (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus sistema em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).



O método de remoção do metabólito nitrito para avaliação da atividade antioxidante também foi utilizado, baseado na produção de NO• a partir da decomposição de nitroprussiato de sódio em solução aquosa, como mostra a reação: (Figura 09).

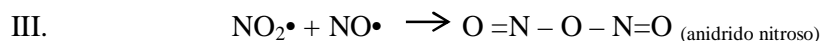
Figura 09: Mecanismo de reação para determinação do nitrito, segundo método de Griess (Adaptado de RAMOS; CAVALHEIRO; CAVALHEIRO, 2006).



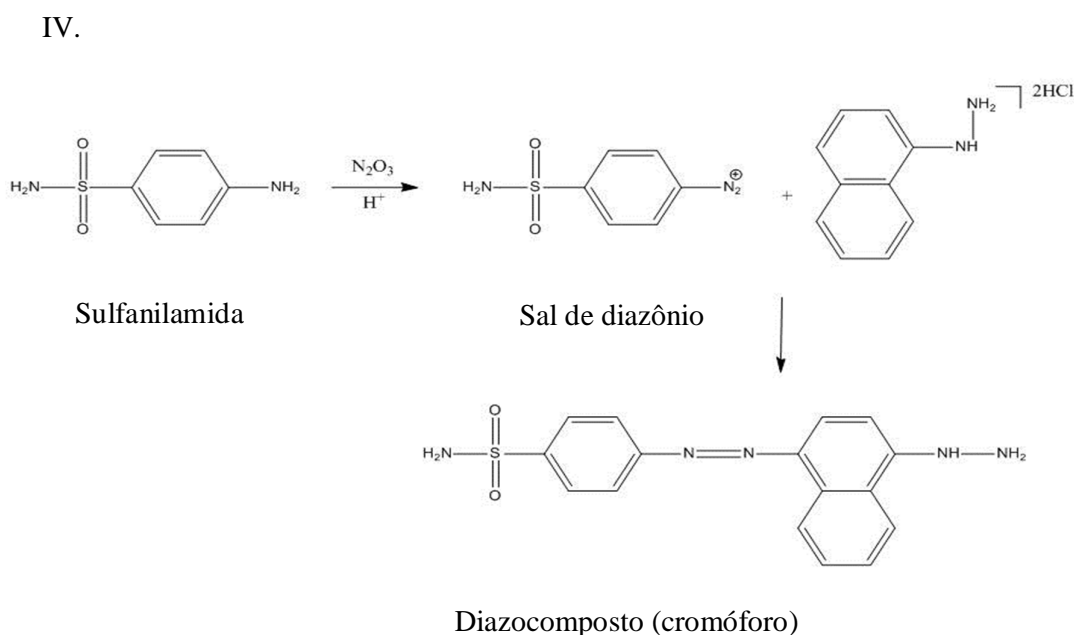
Por sua vez, este radical reage com o oxigênio gerando o radical nitrito:



O radical nitrito reage com o radical óxido de nítrico e forma-se o anidrido nitroso, um reagente nitrosante (SYKES, 1991):



O anidrido nitroso, ao reagir com a sulfanilamida do reagente de Griess (1% de sulfanilamida em 5% de ácido fosfórico e dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina) a 1% em água, forma o sal de diazônio, que em seguida, realiza acoplamento diazo com o N-(1-naftil)-etilenodiamina para produzir o diazo composto de cor violeta, um cromóforo de absorção máxima em 546 nm. Se no meio reacional houver substâncias antioxidantes, estas vão competir com o oxigênio, e a produção do radical nitrito $\text{NO}_2\cdot$ será reduzida. As reações a seguir mostram a produção do cromóforo:



O EHSB e o EHSB: β CD, reduziram significamente a produção de nitrito, quando comparados ao grupo controle, na maior concentração utilizada. As concentrações utilizadas de EHSB e EHSB: β CD (0,9; 1,8; 3,6; 5,4 e 7,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$) reduziram a produção de nitrito em (12,08%; 34,62%; 42,77%; 49,47%; 55,01%) e (78,11%; 80,42%; 82,99%; 83,52%; 85,16%), respectivamente. Comparativamente ao controle positivo utilizado, o Trolox produziu uma inibição de 59,76% na produção do metabólito nitrito (Figuras 10 e 11).

Figura 10. Efeitos do EHSB na remoção do metabólito nitrito. Os valores representam a média \pm E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. O trolox foi usado como padrão antioxidante.^a p<0,001 versus controle em relação ao sistema (meio reacional) (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus sistema em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).

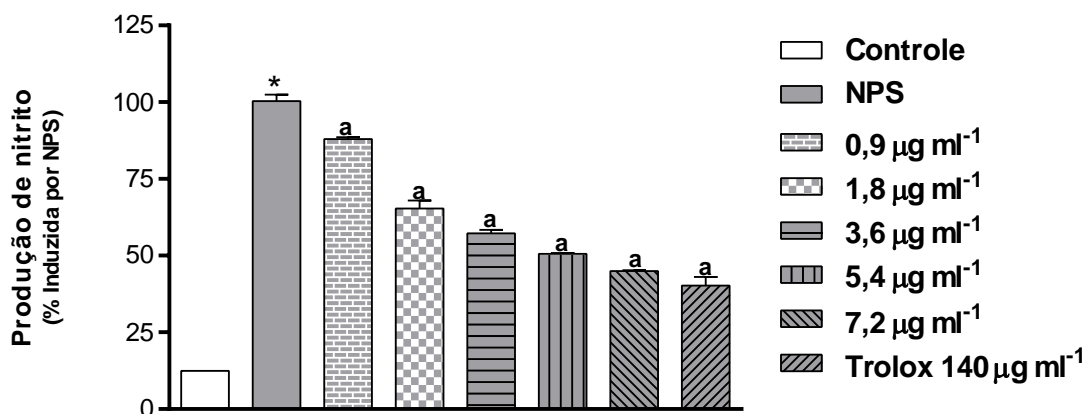
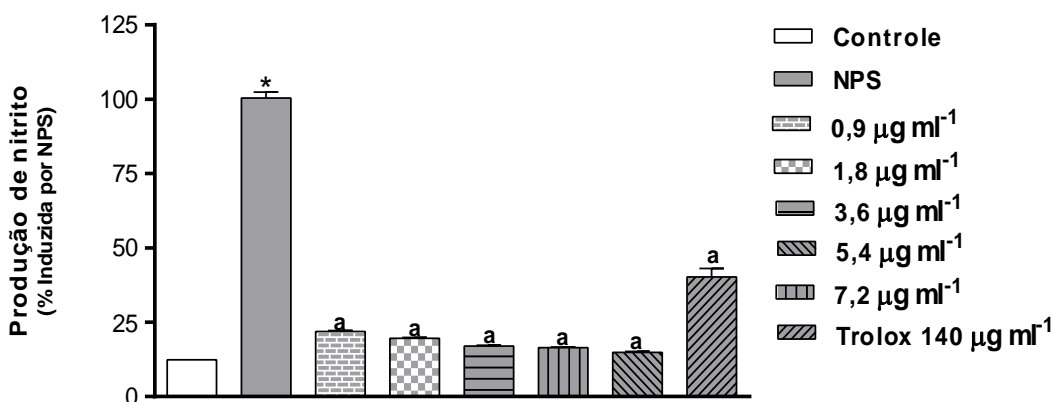


Figura 11. Efeitos do EHSB: β CD na remoção do metabólito nitrito. Os valores representam a média \pm E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 5, experimentos em duplicata. O trolox foi usado como padrão antioxidante.^a p<0,001 versus controle em relação ao sistema (meio reacional) (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste); *p<0,001 versus sistema em relação ao controle (ANOVA e *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).



Conclusão

Os testes *in vitro* realizados neste estudo demonstram que tanto o extrato hexânico isolado das sementes do bacuri quanto o extrato hexânico complexado à molécula de β -ciclodextrina apresentam atividade antioxidante de acordo com as metodologias utilizadas. Embora a atividade do extrato da semente do bacuri tenha apresentado bons resultados, evidencia-se a importância da utilização de novos sistemas visando melhorias de incorporação de ativos nas formas farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F. D.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

AGRAWAL, S.; KULKARNI, G. T.; SHARMA, V. N. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts of *Terminalia paniculata* and *Madhuca longifolia*. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 1, n. 4, p. 62-68, 2011.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P. D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, v. 127, n. 1, p. 183-198, 2002.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. Ed.. Viçosa: UFV, 1999.

BAGGETT, S.; PROTIVA, P.; MAZZOLA, E. P.; YANG, H.; RESSLER, E. T.; BASILE, M. J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E. J. Bioactive Benzophenones from *Garcinia xanthochymus* Fruits. **Journal of natural products**, v. 68, n. 3, p. 354-360, 2005.

BAGHIANI, A.; BOUMERFEG, S.; ADJADJ, M.; AMENI, D.; DJERMOUNI, M.; KHELIFI-TOUHAMI, F.; CHAREF, N.; KHENNOUF, S.; ARRAR, L. Antioxidants, Free Radicals Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Potentials of *Ajuga reptans* L. Extracts. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 1, n. 4, p. 21-30, 2011.

BOKHARI, J.; KHAN, M. R.; SHABBIR, M.; RASHID, U.; JAN, S.; ZA, J. A. Evaluation of diverse antioxidant activities of *Galium aparine*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 102, p. 24-29, 2012.

CHEN, X. Q.; LI, Y.; CHENG, X.; WANG, K.; HE, J.; PAN, Z. H.; LI, M. M.; PENG, L. Y.; XU, G.; ZHAO, Q. S. Polycyclic Polyphenylated Acylphloroglucinols and Chromone O-Glucosides from *Hypericum henryi* subsp. *uraloides*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 1, p. 196-204, 2010.

CHENG, F. C.; JEN, J.; TSAI, T. H. Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. **Journal of chromatography B**, v. 781, n. 1, p. 481-496, 2002.

COELHO, L.N. **Estudo da inclusão de filtros solares em ciclodextrinas e suas aplicações em dermocosmética**. 2001. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001.

COSTA JÚNIOR, J. S.; DE ALMEIDA, A. A. C.; TOMÉ, A. D. R.; CITÓ, A. M. D. G. L.; SAFFI, J.; DE FREITAS, R. M. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart.(Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 4, p. 678-684, 2011a.

COSTA JÚNIOR, J. S. D.; FERRAZ, A. D. B. F.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. D. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. D. Evaluation of effects of dichloromethane fraction from *Platonia insignis* on pilocarpine-induced seizures. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 1104-1110, 2011b.

CUESTA-RUBIO, O.; FRONTANA-URIBE, B. A.; RAMIREZ-APAN, T.; CARDENAS, J. Polyisoprenylated benzophenones in Cuban propolis; biological activity of nemorosone. **ZEITSCHRIFT FUR NATURFORSCHUNG C**, v. 57, n. 3/4, p. 372-378, 2002.

FENG, S.; ZHANG, M.; HUANG, Y.; YUAN, D.; ZHU, Y. Simultaneous determination of nanomolar nitrite and nitrate in seawater using reverse flow injection analysis coupled with a long path length liquid waveguide capillary cell. **Talanta**, v. 117, p. 456-462, 2013.

FERREIRA, F.R.; FERREIRA, S.A.N.; CARVALHO, J.D.U. **Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil**, 1987.

FERREIRA, G.A.L., GOTTLIEB, O.R., MESQUITA, A. A. Xanthonenes from a *Kielmeyera* species. **Phytochemistry**, v. 11, p. 1512-1513, 1972.

FILIK, H.; GIRAY, D.; CEYLAN, B.; APAK, R. A novel fiber optic spectrophotometric determination of nitrite using Safranin O and cloud point extraction. **Talanta**, v. 85, n. 4, p. 1818-1824, 2011.

GOTTLIEB, O. R.; STEFANI, G. M. Xanthonenes from *Kielmeyera excels* **Phytochemistry**, v. 9, n. 2, p. 453-454, 1970.

GUSTAFSON, K. R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. G.; FULLER, R. W.; MCKEE, T. C.; CARDELLINA II, J. H.; MCMAHON, J. B.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R. The guttiferones, HIV-inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusiarsea*. **Tetrahedron**, v. 48, n. 46, p. 10093-10102, 1992.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e obtenção tecnológica de forma farmacêutica de uso tópico**. 2012. 125 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí - Teresina, 2012.

MENNINI, T.; GOBBI, M. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*. **Life Science**, v. 75, n. 9, p. 1021-1027, 2004.

MONACHE, F. D.; MONACHE, G. D.; MOURA PINHEIRO, R.; RADICS, L. Nemorosonol, a derivative of tricyclo-[4.3.1.0^{3,7}]-Decane-7-hydroxy-2,9-dione from *Clusia nemorosa*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 7, p. 2305-2308, 1988.

NAGMOTI, D. M.; KHATRI, D. K.; JUVEKAR, P. R.; JUVEKAR, A. R. Antioxidant activity free radical-scavenging potential of *Pithecellobium dulce* Benth seed extracts. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 2, p. 37-43, 2012.

OGUNRO, P. S.; EEGUNRANTI, B. A.; ATIBA, A. S.; OKE, O. E.; AKANDE, J. O. Status of antioxidant defense and lipid peroxidation in schizophrenics with positive, negative and cognitive symptoms. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 3, n. 2, p. 20-24, 2013.

OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; COELHO, P. Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**, v. 6, p. 70-83, 2009.

PAYÁ, M.; HALLIWELL, B.; HOULT, J. R. S. Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species: scavenging of superoxide, hypochlorous acid and hydroxyl radicals. **Biochemical pharmacology**, v. 44, n. 2, p. 205-214, 1992.

PICCINELLI, A. L.; CAMPONE, L.; DAL PIAZ, F.; CUESTA-RUBIO, O.; RASTRELLI, L. Fragmentation pathways of polycyclic polyisoprenylated benzophenones and degradation profile of nemorosone by multiple-stage tandem mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 20, n. 9, p. 1688-1698, 2009.

PRATT, D. E.; HUDSON, B. J. F. Natural antioxidants not exploited commercially. In: (Ed.). **Food antioxidants**: Springer, 1990. p.171-191.

RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1114, 2006.

ROBERTS, J. C. Naturally Occurring Xanthenes. **Chemical reviews**, v. 61, n. 6, p. 591-605, 1961.

ROCHA, M.S. **Estudo do encapsulamento do óleo essencial de *Lantana camara* L. em β -ciclodextrina por métodos espectroscópicos e cromatográficos**, 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Teresina- PI, 2012.

ROSA, S. D., BRISTOT, M. L. U, TOPANOTTI, M. F. L., TOMASI C. D., FELISBERTO F, VUOLO F. S.; PETRONILHO, F.; DAL PIZZOL, F.; RITTER C. Efeito da transfusão de concentrado de hemácias sobre parâmetros de inflamação e estresse oxidativo em pacientes criticamente enfermos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n. 1, p. 30-35, 2011.

SASIKUMAR, J. M.; PATHARAJ, J.; ADITHYA, E. S.; CHRISTABEL, P. H.; SHAMNA, R. Antioxidant capacity and phenolic content of *Elaeagnus kologa* schlecht. an underexploited fruit from India. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 3, p. 28-35, 2012.

SERAFINI, M. R.; SANTOS, R. C.; GUIMARÃES, A. G.; DOS SANTOS, J. P. A.; DA CONCEIÇÃO SANTOS, A. D.; ALVES, I. A.; GELAIN, D. P.; DE LIMA NOGUEIRA, P. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; BONJARDIM, L. R. Morinda citrifolia Linn leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 10, p. 1159-1166, 2011.

SILVA, O. A.; ALMEIDA, A. A. C.; CARVALHO, R. B. F.; NETO, J. D. N.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Potencial antioxidante *in vitro* do (-)- α -terpineol. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 08, n.03, p. 14-152, 2012.

SILVA, O. A.; DE OLIVEIRA, F. R. D. A. M.; LIMA, T. C.; DE SOUSA, D. P.; DE SOUZA, A. A.; DE FREITAS, R. M. Evaluation of the antioxidant effects in vitro of the isopulegone. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 50-55, 2012.

SYKES, P. A Guidebook to mechanism in organic chemistry, 6th. ed., **Longman Scientific & Technical**, Londres, 1991

SOUZA, V. A. B. D.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; LIMA, P. S. D. C. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da Região Meio-Norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 677-683, 2001.

ZARENA, A. S.; UDAYA SANKAR, K. Supercritical carbon dioxide extraction of xanthenes with antioxidant activity from *Garcinia mangostana*: Characterization by HPLC/LC-ESI-MS. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, n. 3, p. 330-337, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado mostrou que o extrato hexânico de *P. insignis* apresenta constituintes bioativos com propriedades farmacológicas comprovadas.

A preparação dos complexos de inclusão ocorreu com bons rendimentos, particularmente o de proporção 3:7 extrato hexânico: ciclodextrina, os quais foram caracterizados pelos métodos de FTIR e DRX. A partir do diagrama de solubilidade, foi possível avaliar a eficiência de complexação, que foi de 0,01, como também, a constante de estabilidade, que foi 416 M^{-1} , valor considerado dentro do intervalo desejável, que varia de 100 a 1000 M^{-1} .

Foram avaliadas atividades gastroprotetora e antioxidante em diferentes metodologias do EHSB e do complexo (EHSB: β CD) obtido na proporção de 3:7 (extrato: ciclodextrina), apresentando bons resultados tanto do extrato hexânico isolado quanto do complexo formado com a β - ciclodextrina, quando comparados aos padrões. Vale ressaltar que, embora os resultados das atividades tenham sido boas com o extrato, é importante a formação do complexo para a inserção do extrato bioativo em formas farmacêuticas; como também permitir a utilização de menores quantidades do fármaco, uma vez que a proporção do extrato no complexo de inclusão 3:7 (extrato: CD) é bem inferior à quantidade utilizada do extrato isolado, apresentando resultados iguais ou superiores.

Estes resultados fornecem subsídios para a utilização do extrato hexânico de *P. insignis* e, com vantagens, o complexo de inclusão com beta ciclodextrina, para a produção de fitoterápicos.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO COM ANIMAIS
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 32155734 – e-mail: ceepi@ufpi.br

Teresina, 16 de maio de 2012.

Ao (A)

Prof (a): Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira e Francisco de Assis Oliveira
Departamento: UFPI/CCS/NPPM

Sr. (a) Pesquisador (a),

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado: “**Estudo químico-farmacológico de plantas medicinais do cerrado e da caatinga do nordeste brasileiro e de produtos sintéticos e seus derivados bioativos.**”, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais – CEEA/UFPI teve parecer **APROVADO sob o nº. 008/12**. Esclarecemos que o mesmo se encontra de acordo com os requisitos exigidos para apreciação de projetos de pesquisa.


Prof.^a Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora

Atenciosamente,