



ANÁLISE FITOQUÍMICA E EFEITO GASTROPROTETOR DO EXTRATO HEXÂNICO DE *STEMODIA MARITIMA* L.

Rayane Siqueira de Sousa^{1*}, Jéssica de Andrade Gomes da Silva¹, Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba¹, Maria Gabriella Oliveira de Sousa¹, Stella de Jesus Lourenço da Silva¹, Teresinha Gonçalves da Silva¹

¹Laboratório de Prospecção Farmacotoxicológica de Produtos Bioativos - Departamento de antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

*Corresponding author. E-mail address: rayane-siqueira@hotmail.com.br

RESUMO

Stemodia maritima L. é um arbusto pertencente à família Plantaginaceae, popularmente conhecido como “mastruz-bravo” ou “melosa”. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil fitoquímico do extrato hexânico das folhas de *S. maritima* (EHSm) e analisar sua atividade gastroprotetora. O EHSm foi obtido por maceração exaustiva e submetido à caracterização fitoquímica por cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CGMs). Para análise de gastroproteção, os animais foram pré-tratados com veículo (solução aquosa contendo Tween 20 a 1%), lansoprazol e EHSm (25, 50 e 100 mg/kg). A lesão gástrica foi induzida com a administração de etanol absoluto e após a indução, os estômagos foram dissecados para análise macroscópica, histopatológica e análise de estresse oxidativo, através da quantificação de óxido nítrico (NO) e glutathiona reduzida (GSH) e de parâmetro inflamatório através da quantificação de mieloperoxidase (MPO). Na análise fitoquímica por CCD, foram encontrados flavonoides, triterpenos, esteroides, saponinas, proantocianidinas e leucoantocianidinas, mono e sesquiterpenos. Na análise por GCMs, foi encontrado majoritariamente o ácido linoleico. O pré-tratamento com EHSm reduziu de forma significativa o índice de lesão ulcerativa, quando comparado ao controle lesionado. EHSm



foi capaz de aumentar as concentrações de NO e GSH e diminuir a concentração de MPO nos tecidos analisados. Estes dados indicam que o EHSm preservou a mucosa contra danos lesivos e elucidam o efeito gastroprotetor de *S. maritima*, com possíveis mecanismos relacionados às ações antioxidante e anti-inflamatória.

Palavras-chave: Úlcera. Estresse oxidativo. Plantas medicinais.

ABSTRACT

Stemodia maritima L. is a shrub belonging to the Plantaginaceae family, popularly known as “mastruz-bravo” or “melosa”. The objective of this work was to determine the phytochemical profile of the hexanic extract of the leaves from *S. maritima* (EHSm) and to analyze its gastroprotective activity. The EHSm was obtained by exhaustive maceration and submitted to phytochemical characterization activities by thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCMs). For gastroprotection analysis, the animals were pre-treated with vehicle (aqueous solution with 1 % Tween 20), lansoprazole and EHSm (25, 50 and 100 mg / kg). The gastric injury was induced by the administration of absolute ethanol, and after the induction, stomachs were dissected for macroscopic, histopathological and oxidative stress analysis, through the quantification of nitric oxide (NO) and reduced glutathione (GSH) and inflammatory parameter through the quantification of myeloperoxidase (MPO). In the phytochemical analysis by TLC, flavonoids, triterpenes, steroids, saponins, proanthocyanidins and leucoanthocyanidins, mono and sesquiterpenes were found. On the analysis by GCMs, linoleic acid was found. Pretreatment with EHSm significantly reduced the rate of ulcerative injury when compared to the injured control. EHSm was able to increase the NO and GSH and decrease the MPO concentration in the tissues. These data indicate that EHSm preserves the mucosa against harmful damage and elucidates the gastroprotective effect of *S. maritima*, with possible mechanisms related to antioxidant and anti-inflammatory actions.

Keywords: Ulcer. Oxidative stress. Medicinal plants.



INTRODUÇÃO

Conhecida como "melosa" ou "matruz-bravo", *Stemodia maritima* L. é um arbusto pertencente à família Plantaginaceae, usado na medicina popular para tratar dores de estômago e edema. Pode ser encontrada em toda América latina e em algumas regiões do Caribe. No Brasil é comum na região Nordeste, onde pode ser encontrada em regiões alagadiças (RODRIGUES et al., 2010).

Algumas atividades biológicas já foram descritas para *S. maritima* L., como: larvicida (ARRIAGA et al., 2007), antioxidante, antimicrobiana (SILVA et al., 2014), anti-inflamatória (TEXEIRA et al., 2017). Há também relatos de atividades antiviral e citotóxica de análogos derivados dos compostos crenatosideo e estemodano, presentes em *S. maritima* (RUSSEL et al., 2011).

As plantas medicinais têm sido utilizadas para tratar diversas desordens e seu uso é uma prática milenar transferida de geração em geração, assim, são fontes cada vez mais exploradas. É comum a apresentação de pesquisas pré-clínicas de plantas medicinais ou seus metabólitos como potenciais fontes terapêuticas no tratamento de doenças, ou selecionadas como candidatos a novos medicamentos (SAFARI; SHAMS-ARDAKANI; ROROUMADI, 2014).

A úlcera gástrica se apresenta como lesões inflamatórias ou necrosantes que surgem na mucosa do estômago e atinge cerca de 10% da população em todo o mundo. Essa patologia é alvo de investigações científicas devido a essa frequência e preocupação na prática clínica mundial (LANAS; CHAN, 2017; FARRAG et al., 2019).

As úlceras podem ser acarretadas através do desequilíbrio entre alguns fatores agressivos e defensivos da mucosa gástrica. Dos fatores agressivos, temos os de origem endógena, como: secreção elevada de ácido gástrico e pepsina, inibição da proliferação celular da mucosa, redução do fluxo sanguíneo e supressão das prostaglandinas; os fatores prejudiciais de origem exógena incluem principalmente, hábitos de ingestão excessiva de álcool, estresse, infecção por *Helicobacter pylori* e prolongado uso de anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs). Para a proteção da mucosa gástrica, podemos citar a secreção de



bicarbonato e muco, biossíntese de prostaglandina gastroprotetora e microcirculação sanguínea adequada do tecido (COOK; GUYATT, 2018; KAVITT et al., 2019).

As terapias atuais contra úlcera gástrica incluem principalmente, fármacos antagonistas do receptor H₂ da histamina, inibidores da bomba de prótons e antiácidos. Porém, não são métodos totalmente eficazes, atuam no alívio de sintomas e há uma alta taxa de recidiva depois da interrupção do tratamento, podendo ainda estar relacionados com efeitos colaterais graves (KREUTER, et al., 2016; KAVITT et al., 2019).

Diante disso, a pesquisa por novas substâncias, principalmente de origem vegetal, está em crescente desenvolvimento, assim, este trabalho teve como objetivo a análise fitoquímica do extrato hexânico das folhas de *S. maritima* (EHSm) e a investigação da sua atividade gastroprotetora.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos (220-250 g), provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Campus Recife, Pernambuco, Brasil. Os animais foram mantidos em condições adequadas, obedecendo às normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram eutanasiados por sobredose de anestésico: Cetamina (0,2 mL/100g + sobredose 0,2 mL/100g) e xilazina (0,1 mL/100g + sobredose 0,1 mL/100g) por via intraperitoneal (i.p.). Este trabalho foi realizado com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, processo nº 134/2019.

Material vegetal e obtenção do extrato

As folhas de *S. maritima* foram coletadas no Município de Boqueirão (PB) e a identificação botânica foi realizada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pesquisa (IPA), com o número de catálogo 92093. O extrato hexânico (EHSm) foi obtido por maceração, com troca de solvente a cada 72 horas.



Análise por cromatografica em camada delgada (CCD)

EHSm foi pesado e dissolvido em metanol na concentração de 5 mg/mL. Foram utilizados reveladores químicos específicos para a identificação de: flavonóides, derivados cinâmicos, fenilpropanoglicosídeos (reagente NEU), triterpenos e esteróides (reagente de Lieberman & Burchard), mono e sesquiterpenos (reagente anisaldeído sulfúrico), alcaloides (reagente de Dragendorff), saponinas (reagente vanilina/ácido sulfúrico), proantocianidinas condensadas e leucoantocianidina (reagente vanilina/HCl).

Análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-Ms)

Os compostos eluídos foram identificados por comparação entre os espectros de massa dos padrões autênticos disponíveis na biblioteca de referência NIST11. A análise foi realizada usando um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas modelo Shimadzu QP 5050, equipado com coluna DB-5 (Agilent J & W; 30 m x 0,25 mm x 0,25 mm), em modo *splitless*, a temperatura inicial de 70 °C por 4 min e ajustada com taxa de 4 °C/min até 280 °C, onde foi mantida durante 15 min. O fluxo de gás de hélio foi mantido a 40 kPa, o fluxo na coluna de foi de 0.8 mL/min e fluxo total de 5.8 mL/min. A interface com MS foi a 280 °C e espectros de massa foram tomadas a 70 eV em modo de ionização por impacto de elétrons, com uma velocidade de scan/s de m/z 30 à 450.

Lesão gástrica induzida por etanol absoluto

Os ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=6), submetidos a um jejum de 18 h e posteriormente foram tratados com suas respectivas substâncias: *Sham* (controle saudável), Controle lesionado – CL (solução aquosa com Tween 20 a 1% v.o.), Lansoprazol (30 mg/kg v.o.), EHSm (25, 50 e 100 mg/kg v.o.). Após 1 hora do tratamento, os animais foram induzidos à lesão gástrica com a administração de etanol absoluto (4



mL/kg v.o.). Decorrida 1 hora dessa administração, os ratos foram eutanasiados e seus estômagos retirados, lavados com solução salina, abertos pela curvatura maior e fotografados para contagem das lesões ulcerativas e cálculos do índice de lesões ulcerativas (ILU) usando planimetria computadorizada (*Software ImageJ*) (MORIMOTO et al., 1991).

Determinação dos níveis de NO

Para a determinação da concentração de NO, foi preparado o homogenato da região glandular dos estômagos (1 mL/100 mg de tecido) em tampão fosfato 150 mM (pH 7,4) e a produção de óxido nítrico (NO) determinada através da reação de Griess (50 µL de amostra + 50 µL de solução Griess) (GREEN; TANNEMBAUN; GOLDMAN, 1981).

Determinação dos níveis de GSH

A determinação da concentração da GSH baseia-se na reação do reagente de Ellman, o 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB), com o tiol livre, originando um dissulfeto misto mais o ácido 2-nitro-5-tiobenzóico, cuja a medida do produto de reação formado é feita por leitura espectrofotométrica. Para a quantificação de GSH, a porção glandular dos estômagos foi homogeneizada em EDTA 0,02 M (1 mL/100 mg de tecido). Uma alíquota de 40 µL desse homogenato + 50 µL de água destilada + 10 µL de ácido tricloracético 50% foi agitado e centrifugado a 5000 rpm/15 min/4 °C. Em seguida, foi recolhido 60 µL do sobrenadante e acrescido 25 µL de tampão Tris 0,4 M e mais 20 µL de DTNB 0,01 M e após 1 minuto da reação, a leitura da coloração em 412 nm foi realizada em leitor de microplacas (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

Determinação dos níveis de MPO

Os estômagos (porção glandular) foram homogeneizados a 10 % (1 mL/100 mg de tecido) em solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio 0,5% (HTAB). A atividade da



mieloperoxidase (MPO) foi avaliada segundo protocolo descrito por Bradley et al., (1982), através da reação das amostras com 200 μ L de solução de reação (cloridrato de *o*-dionisidina - 0,167 mg/mL, tampão fosfato de sódio 50 mM, e peróxido de hidrogênio 0,0005%). Os resultados foram expressos como unidade de mieloperoxidase por miligrama de tecido (U/mg de tecido).

Análise histopatológica da mucosa gástrica

Amostras das porções lesionadas dos estômagos pelo etanol absoluto foram preservadas por 24 horas em formalina a 10% tamponada. Logo após, as amostras foram lavadas em água, imersas em álcool etílico 70% durante 3 - 4 dias e incluídas em parafina. Os cortes de 5 μ m foram obtidos em micrótomo e submetidos à técnica de coloração pela hematoxilina-eosina (HE). As lâminas foram analisadas em microscópio Nikon Eclipse E200 com câmera modelo HD Lite 1080P acoplada.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (*one-way* ANOVA), seguido pelo teste de *Tukey*, através do programa *GraphPad Prism*, versão 8.0 (San Diego, CA, EUA). Todos os valores numéricos foram apresentados como média \pm desvio padrão da média (d.p.) e os valores de $p < 0,05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cromatografia em Camada Delgada

A caracterização fitoquímica do EHSm possibilitou identificar a presença de flavonoides, triterpenos, esteroides, mono e sesquiterpenos, proantocianidinas e leucoantocianidinas (Tabela 1). Trabalhos já descreveram a elucidação da composição do



extrato etanólico de *S. maritima*, que inclui esteroides, flavonoides e terpenos (RODRIGUES et al., 2010; SILVA et al., 2014).

Os flavonoides são compostos fenólicos de grande importância em atividades biológicas, como atividade gastroprotetora. Estes compostos são capazes de diminuir a peroxidação lipídica através da redução de espécies reativas ao oxigênio, reduzir a secreção ácida e aumentar a produção de prostaglandinas (BOLLERI, IZZO, 2000; BALAN et al., 2015; ZAKARIA et al., 2016).

Os terpenos são outra classe de compostos secundários predominante em extratos vegetais, com uma variedade de atividades, tais como: anticancerígena, cicatrizante, antimicrobiana e anti-inflamatória, e a atividade gastroprotetora de terpenos está relacionada com a ativação de fatores protetores da mucosa (CHOUDHARY et al., 2013; CHINEDU; IBRAHIM, 2017).

Tabela 1 - Classes de metabólitos secundários encontradas no EHSm

Metabólitos secundários	EHSm
Saponinas	+
Flavonoides	+
Fenilpropanoides	-
Triterpenos e esteroides	++
Mono e sesquiterpenos	++
Proantocianidinas e leucoantocianidinas	+
Taninos hidrolisáveis	-

Fonte: Autora. **Legenda:** (-) ausente; (+) fraco; (++) médio; (+++) forte.

Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

O cromatograma e a elucidação do EHSm foram obtidos com base na similaridade entre compostos da biblioteca de espectros NIST 11 e entre os compostos disponíveis na literatura. Como mostra a Figura 1, foi possível identificar 10 picos, levando em consideração o tempo de retenção e a área (%). Os compostos identificados foram: ácido mirístico, ácido pentadecanóico, 9-Cedranona, ácido palmítico, ácido ascórbico, ácido linoleico, ácido esteárico, octadecanamida, docosenamida e esqualeno (Tabela 2).

A classe predominante foi de ácidos graxos, sendo o ácido linoleico o composto majoritário, atingindo 31 % de área. Ácidos graxos também já foram identificados em *Plantago major* L., pertencente à família Plantaginaceae, *P. major* apresenta na sua composição: ácido linoleico, palmítico, esteárico e mirístico (LIU et al. 2002).

Figura 1 - Cromatograma do EHSm por CGMs

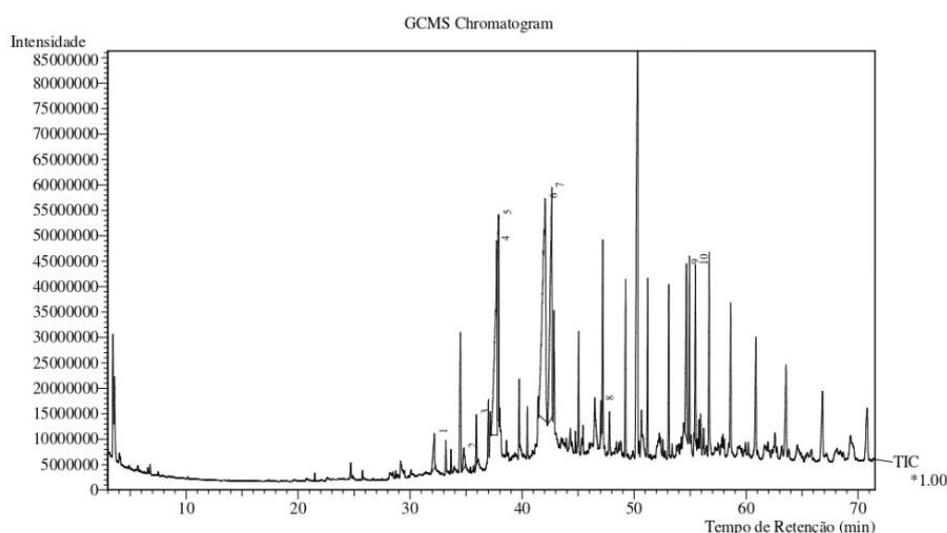




Tabela 2 - Elucidação das estruturas químicas presentes no EHSm

Pico	Fórmula molecular	Substâncias	tR	Área (%)
1	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Ácido mirístico	32.167	2.21
2	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Ácido pentadecanóico	34.800	1.25
3	C ₁₅ H ₂₄ O	9-Cedranona	35.917	1.76
4	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Ácido palmítico	37.750	19.8
5	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	Ácido ascórbico	37.892	11.3
6	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Ácido linoleico	42.058	31.0
7	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Ácido esteárico	42.650	18.7
8	C ₁₈ H ₃₇ NO	Octadecanamida	47.033	1.19
9	C ₂₂ H ₄₃ NO	Docosenamida	54.667	7.29
10	C ₃₀ H ₅₀	Esqualeno	55.475	5.29

Fonte: Autora. **Legenda:** tR = tempo de retenção em minutos.

Avaliação da atividade gastroprotetora

Um dos modelos experimentais mais utilizados para avaliação pré-clínica de agentes com atividade antiúlcera é a lesão gástrica induzida por etanol absoluto, uma vez que o etanol é considerado uma das causas de lesões gástricas em humanos e tem rápida ação aguda em roedores (SALGA et al., 2012).

Nesse modelo, os grupos tratados com EHSm foram comparados ao controle lesionado (CL), que recebeu veículo e, em seguida, etanol absoluto. O grupo CL apresentou cerca de 76,5 % de área lesionada com intensa hemorragia, corroborando com outros dados, onde o etanol foi usado como agente indutor de lesão gástrica (SIMÕES et al., 2019).

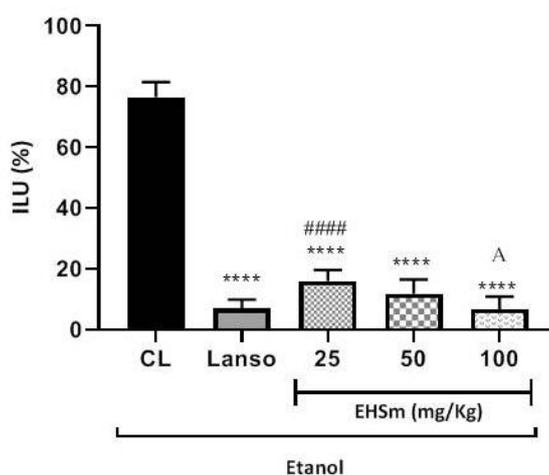
O EHSm (25, 50 e 100 mg/Kg) reduziu as lesões em 79, 85 e 91 %, respectivamente. A dose de 100 mg/Kg apresentou diferença significativa em relação a dose de 25 mg/Kg e

equiparou-se ao grupo lansoprazol (Figura 2). Na Figura 3, podemos analisar as mucosas macroscopicamente.

O efeito gastroprotetor de produtos naturais pode está relacionado com o equilíbrio de fatores protetores da mucosa, como: inibição da migração e infiltração de neutrófilos, produção de NO e/ou compostos sulfidrílicos, estímulo ao sistema antioxidante, produção de muco e bicarbonato, prostaglandinas ou regeneração das células epiteliais gástricas (ATEUFACK et al., 2015; ZHANG et al., 2019).

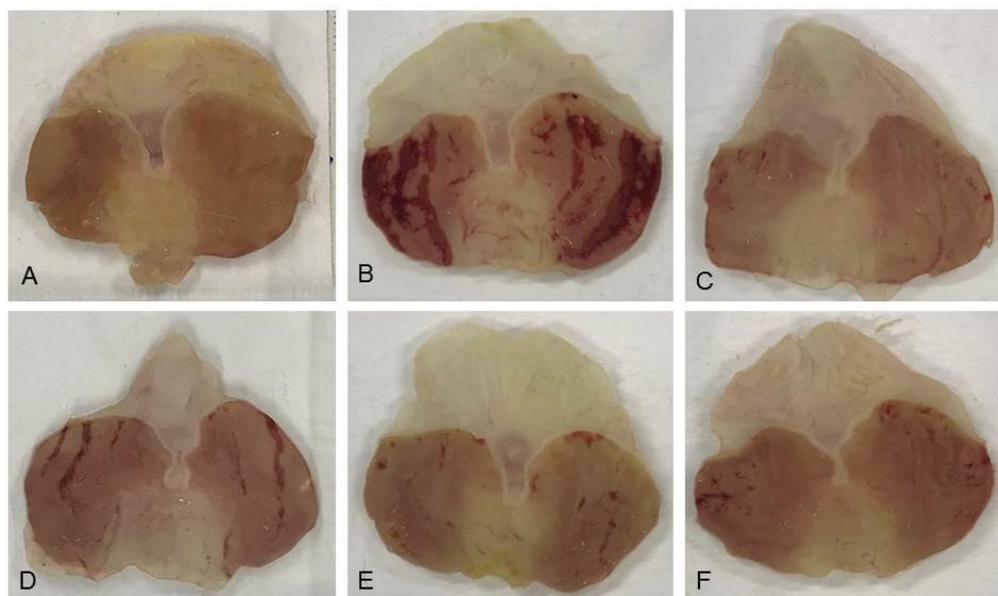
Foi observado no extrato metanólico de *P. major* L. (Plantaginaceae) uma atividade gastroprotetora (ABUD et al., 2012), e sua análise fitoquímica destaca compostos semelhantes a *S. maritima*, tais como polifenóis do tipo verbascósídeo (ZUBAIR et al. 2011) e ácidos graxos (LIU et al. 2002), corroborando com o nosso estudo.

Figura 2 - Efeito do EHSm sobre as lesões gástricas induzidas por etanol absoluto



Fonte: Autora. **Legenda:** CL - controle lesionado; Lanso - Lansoprazol 30 mg/Kg. Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão. Análise de variância *one way* ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde **** $p < 0,0001$ vs CL; #### $p < 0,0001$ vs SHAM; A $p < 0,05$ vs 25.

Figura 3 – Exame macroscópico

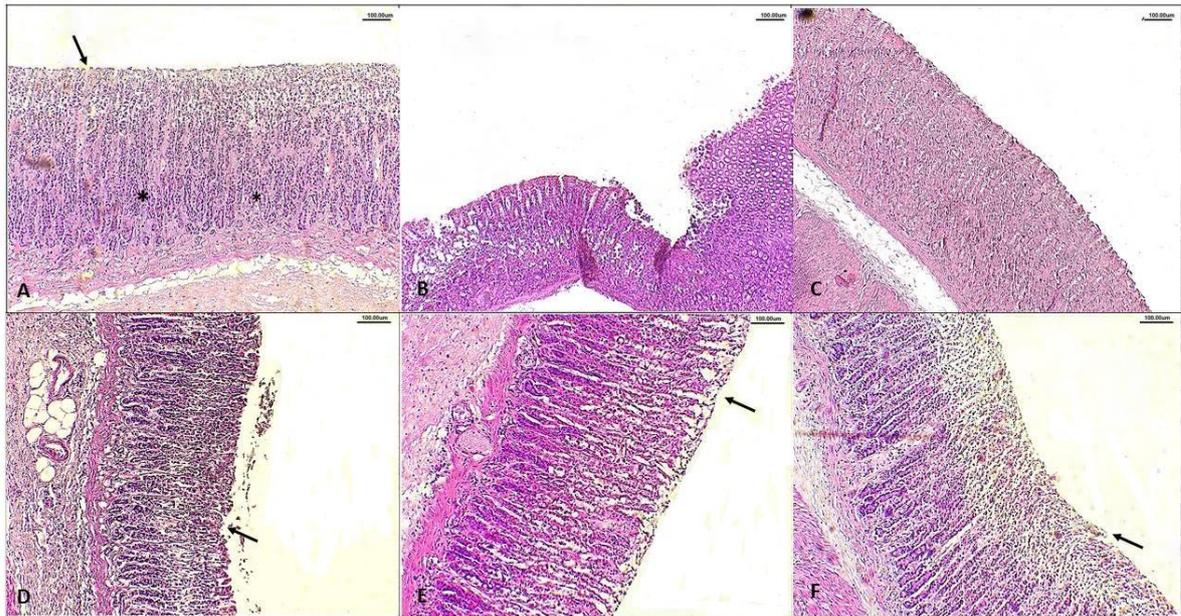


Fonte: Autora. **Legenda:** A: Grupo saudável; B: Controle lesionado; C: Lansoprazol (30 mg/Kg); D: EHSm (25 mg/Kg); E: EHSm (50 mg/Kg); F: EHSm (100 mg/Kg).

Exame histopatológico da mucosa gástrica

Para corroborar com os resultados encontrados no exame macroscópico, foi realizado foi realizada análise histopatológica da mucosa gástrica dos animais com úlceras induzidas por etanol absoluto. Na Figura 4 – A, grupo *Sham*, está representando um padrão de epitélio simples colunar conservado, com fossetas (seta) e glândulas gástricas preservadas (asteriscos). Em B, controle lesionado (CL), é possível observar uma desestruturação tecidual, com fossetas e glândulas gástricas desorganizadas. Em C, grupo Lansoprazol, notar epitélio simples colunar bem preservados. Em D, E e F (50 mg/kg EHSm, 100 mg/kg EHSm e 200 mg/kg EHSm, respectivamente), notar efeito protetor da mucosa gástrica, com presença de esfoliações discretas do epitélio (setas), acompanhada de espessamento da mucosa, o que pode indicar reparo tecidual.

Figura 4 – Exame histopatológico



Fonte: Autora. **Legenda:** Fotomicrografia das mucosas gástricas de camundongos submetidos à indução de lesão por etanol absoluto. Coloração Hematoxilina-Eosina (HE). Aumento de 100x.

Análise dos níveis de NO, GSH e MPO

Foram analisados os níveis dos marcadores de estresse oxidativo nos tecidos da mucosa, como a atividade de enzima antioxidante: glutatona reduzida, e os níveis de nitrato/nitrito, indicadores da produção de óxido nítrico; e marcadores de inflamação, como a atividade da enzima mieloperoxidase.

O modelo animal de indução de lesão gástrica com etanol absoluto pode induzir um dano oxidativo direto, através do aumento do ânion superóxido, produção de radicais hidroxila e peroxidação lipídica na mucosa gástrica (REPETTO; LLESUY, 2002). Assim, os principais fatores protetores envolvem o óxido nítrico, compostos sulfidrilas e as enzimas antioxidantes (SANCHEZ-MENDONZA et., 2019).



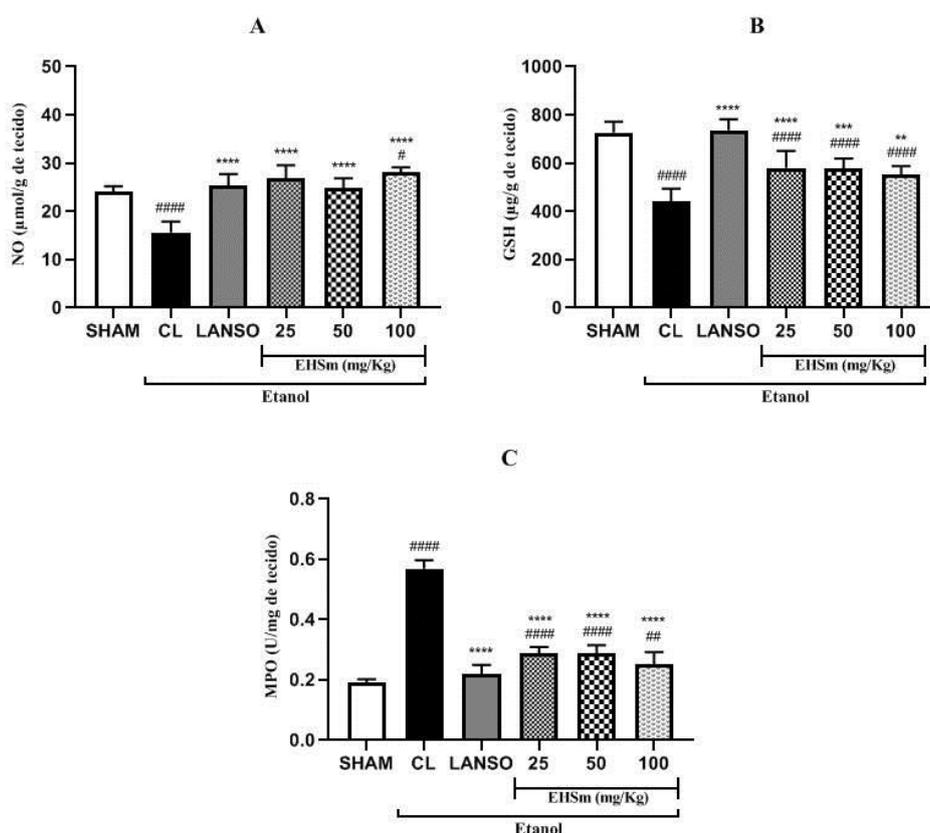
Os resultados mostram que o grupo CL reduziu os níveis de NO em 36 % ($15,58 \pm 2,25$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína) quando comparado ao grupo *Sham* ($23,97 \pm 1,23$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína). Na Figura 5 – A, os grupos pré-tratados com EHSm (25, 50 e 100 mg/kg) e lansoprazol apresentaram elevadas concentrações de NO ($26,91 \pm 2,64$; $24,88 \pm 1,96$; $28,05 \pm 1,05$ e $25,38 \pm 2,36$ $\mu\text{mol/g}$ de tecido, respectivamente), quando comparado ao grupo CL.

No ensaio de níveis de GSH, o grupo CL apresentou $440,5 \pm 52,6$ μg de GSH/g de tecido, o que representa uma redução de 39 % em relação ao *Sham* ($725,3 \pm 45,9$ μg de GSH/g de tecido) e 40 % em relação ao grupo tratado com o controle positivo (lansoprazol) ($736,1 \pm 46,1$ μg de GSH/g de tecido). O EHSm foi capaz de aumentar os níveis de GSH da mucosa gástrica dos animais tratados em comparação ao CL e apresentaram um aumento de 31, 30 e 25 % para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, respectivamente (Figura 5 – B).

A infiltração de neutrófilos no tecido da mucosa gástrica pode ser avaliada medindo a atividade da mieloperoxidase (LI et al., 2013). Assim, níveis de MPO se elevam em condições inflamatórias, como mostram os resultados da indução por etanol no grupo CL, que apresentou um nível de atividade enzimática de $0,568 \pm 0,027$ mU/mg.

Nos grupos *Sham* e lansoprazol houve uma redução de $0,189 \pm 0,012$ e $0,218 \pm 0,030$ mU/mg, respectivamente, representando aproximadamente 60% de redução de MPO. Nos animais tratados com EHSm, o nível de MPO caiu significativamente (EHSm25: $0,288 \pm 0,021$; EHSm50: $0,286 \pm 0,028$; EHSm100: $0,252 \pm 0,039$ mU/mg). As doses reduziram em média 50 % em comparação ao CL (Figura 5 – C).

Figura 5 - Efeito do EHSm nas concentrações de NO, GSH e MPO na mucosa gástrica dos animais submetidos ao modelo de indução de úlcera aguda por etanol



Fonte: Autora. **Legenda:** **A:** níveis de NO; **B:** níveis de GSH; **C:** níveis de MPO. Onde: SHAM - grupo saudável; CL - controle lesionado (solução aquosa com Tween 20 a 1%); Lanso - Lansoprazol 30 mg/Kg; Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão. Análise de variância *one way* ANOVA, seguido do teste de Tukey, onde ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$ vs CL; # $P < 0,05$ ## $P < 0,01$ #### $p < 0,0001$ vs SHAM.

Esses resultados podem estar relacionados com a presença de flavonoides no EHSm, já que alguns flavonoides tem efeito gastroprotetor pelo aumento na expressão e liberação de óxido nítrico (ARAB et al., 2015).

Corroborando com os resultados de ação antioxidante, Texeira et al., (2017), relatou que o extrato etanólico de *S. maritima* é capaz de aumentar os níveis das enzimas antioxidantes SOD e CAT em modelo pré-clínico de periodontite, o que sugere que o efeito



anti-inflamatório de *S. maritima* nesse modelo pode estar relacionado às suas propriedades antioxidantes. Assim, nesse trabalho, também podemos observar que o efeito anti-inflamatório do EHSm está relacionado à sua atividade antioxidante e redução do estresse oxidativo, com um aumento no nível de NO e GSH.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, é possível concluir que o EHSm possui capacidade gastroprotetora. O extrato foi capaz de reduzir as lesões gástricas, aumentar as concentrações de NO e GSH, e diminuir a concentração de MPO nos tecidos, possivelmente devido à presença de flavonóides e triterpenos no extrato vegetal.

REFERÊNCIAS

- ABUD, M. A.; MOLINA, A.; WENEDEL, G. H.; JUAN HIKAWCZUK, V. E.; PELZER, L. E.; MARIA, A. O. Gastroprotective effects of *Plantago major* and metabolites in rats. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 31, p. 1203-6, 2012.
- ARAB, H.H.; SALAMA, S. A.; OMAR, H. A.; ARAFA, E. S.; MAGHRABI, I .A. Diosmin protects against ethanol-induced gastric injury in rats: Novel antiulcer actions. **Plos One**. v. 10, p. e0122417, 2015.
- ARRIAGA, A. M. C.; RODRIGUES, F. E. A.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; LIMA, J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R.; MAFEZOLI, J. Composition and larvicidal activity of essential oil from *Stemodia maritima* L. **Natural Product Communications**, v. 2, p. 1237-1239, 2007.
- ATEUFACK, G.; MOKAM, E. C. D.; MBIANTCHA, M.; FEUDJIO, R. B. D.; DAVID, N.; KAMANYI, A. Gastroprotective and ulcer healing effects of *Piptadeniastrum africanum* on experimentally induced gastric ulcers in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.15, p. 1-10, 2015.
- BALAN, T., SANI, M. H. M., AHMAD, S. H. M., SUPPAIAH, V., MOHTARRUDIN, N., & ZAKARIA, Z. A. Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of *Muntingia calabura*



leaves against gastric ulceration in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 1-15, 2015.

BOLLERI, F.; IZZO, A. A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytother research**, v. 14, p.581-591, 2000

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, p. 206–209, 1982.

CHINEDU, O.; IBRAHIM, K.G. Menthol Ameliorates Secretagogue-Induced Gastric Acid Secretion in the Rat. **International Journal of Current Research and Academic Review**, v. 5, n.6, p. 113-118, 2017.

CHOUDHARY, M.K.; BODAKHE, S.H.; GUPTA, S.K. Assessment of the antiulcer potential of *Moringa oleifera* root-bark extract in rats. **Journal of Acupuncture Meridian Studies**, v. 6, n. 4, p. 214-220, 2013.

COOK, M. D.; GUYATT, G.; Prophylaxis against upper gastrointestinal bleeding in hospitalized patients. **New England Journal of Medicine.**, v. 378, p.2506-2516, 2018.

FARRAG, A. R. H.; ABDALLAH, H. M. I.; KHATTAB, A. R.; ELSHAMY, A. I.; GENDY, A. E. N. G. E.; MOHAMED, T. A.; HEGAZY, M. E. F. Antiulcer activity of *Cyperus alternifolius* in relation to its UPLC-MS metabolite fingerprint: a mechanistic study. **Phytomedicine**, v. 62, p. 152970, 2019.

GREEN, L. C.; TANNEMBAUN, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.

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

KREUTER, M.; WUYTS, W.; RENZONI, E.; KOSCHEL, D.; MAHER, T. M.; KOLB, M.; WEYCKER, D.; SPAGNOLO, P.; KIRCHGAESSLER, K. U.; HERTH, F. J.; COSTABEL, U. Antacid therapy and disease outcomes in idiopathic pulmonary fibrosis: a pooled analysis. **Lancet Respiratory Medicine**, v. 4, p. 381-389, 2016.

LANAS, A.; CHAN, K.L. Peptic ulcer disease. **Lancet**, v. 390, p. 613-624, 2017.

LI, W.; HUANG, H.; NIU, X.; FAN, T.; UM, Q.; LI, H. Protective effect of tetrahydrocoptisine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 272, n. 1, p. 21–29, 2013.



LIU, L.; HOWE, P. ZHOU, Y.F.; HOCART, C.; ZHANG, R. Fatty acid profiles of leaves of nine edible wild plants: An Australian study. **Journal of Food Lipids**, v. 9, p. 65-71, 2002.

MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO, T. Effects of the new antiulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 495-505, 1991.

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, p. 523-34, 2002

RODRIGUES, F.E.A.; ARRIAGA, A.M.C.; LEMOS, T.L.G.; SANTIAGO, G.M.P.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R.; COSTA, J. G. M. Diterpene and other constituents from *Stemodia maritima*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1581-1586, 2010.

RUSSELL, F. A.; MULABAGAL, V.; THOMPSON, D. R.; SINHGH-WILMOT, M. A.; REYNOLDS, W. F.; NAIR, M. G.; LANGER, V.; REESE, P. B. Stemodin-derived analogues with lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation inhibitory activities. **Phytochemistry**, v. 72, p. 2361-2368, 2011.

SAFARI, M.; SHAMS-ARDAKANI, M.; ROROUMADI, A. Medicinal plants in the treatment of helicobacter pylori infections. **Pharmaceutical biology**, v. 28, p. 1-22, 2014.

SALGA M. S.; ALI, H. M.; ABDULLA M. A.; ABDELWAHAB, S. I. Gastroprotective activity and mechanism of novel dichlorido-zinc(II)-4-(2-(5-methoxybenzylideneamino)ethyl)piperazin-1-iumphenolate complex on ethanol-induced gastric ulceration. **Chemico-Biological Interactions**, v. 195, p. 144-153, 2012.

SANCHEZ-MENDONZA, M. E.; LOPEZ, L. Y.; CRUZ, A. L.; MATUS-MEZA, A. S.; SANCHEZ-MENDONZA, Y.; ARRIETA, J. Gastroprotection of Calein D against Ethanol-Induced Gastric Lesions in Mice: Role of Prostaglandins, Nitric Oxide and Sulfhydryls. **Molecules**, v. 24, p. 622, 2019.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SILVA, F. R. L.; RODRIGUES, F. E. A.; GOMES, A. R. S.; ARRIAGA, A. M. C.; MAFEZOLI, J.; LEMOSA, T. L. G.; ALMEIDA, M. C. S.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZFILHO, R.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical study, antioxidante and antibacterial activities of *Stemodia marítima*. **Química Nova**, v. 37, n. 9, p. 1474-1478, 2014.



SIMÕES, S.; LOPES R.; CAMPOS, M. C. D.; MARRUZ, M.J.; CRUZ, M. E. M.; CORVO, L. Animal models of acute gastric mucosal injury: Macroscopic and microscopic evaluation. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 2, p. 121–126, 2019.

TEXEIRA, A. H.; FREIRE, J. M.; SOUSA, L. H. T.; PARENTE, A. T.; SOUSA, N. A.; ARRIAGA, A. M. C.; SILVA, F. R. L.; MELO, I. M.; SILVA, I. I. C.; PEREIRA, K. M. A.; GOES, P.; COSTA, J. J. N.; CRISTINO FILHO, G.; PINTO, V. P. T.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M. Stemodia maritima L. Extract Decreases Inflammation, Oxidative Stress, and Alveolar Bone Loss in an Experimental Periodontitis Rat Model. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 988, 2017.

ZAKARIA, Z. A., BALAN, T., AZEMI, A. K., OMAR, M. H., MOHTARRUDIN, N., AHMAD, Z., SALLEH, M. Z. Mechanism (s) of action underlying the gastroprotective effect 133 of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 78, 2016.

ZHANG, C.; GAO, F.; GAN, S.; HE, Y.; CHEN, Z.; LIU, X.; FU, CHAOMEI.; QU, Y.; ZHANG, J. Chemical characterization and gastroprotective effect of an isolated polysaccharide fraction from *Bletilla striata* against ethanol-induced acute gastric ulcer. **Food and chemical toxicology**, v. 131, p. 110539, 2019.

ZUBAIR, M.; NYBOM, H.; LINDHOLM, C.; RUMPUNEN, K. Major polyphenols in aerial organs of greater plantain (*Plantago major* L.), and effects of drying temperature on polyphenol contents in the leaves. **Scientia Horticulturae**. v. 128, p. 523-532, 2011.

Received: 29 September 2020

Accepted: 14 October 2020

Published: 02 April 2021